

Utilization of Windu Shrimp Shell Waste from Malaka-NTT for Chitosan Synthesis: Characterization Study and Application Potential

(Pemanfaatan Limbah Kulit Udang Windu Asal Malaka-NTT untuk Sintesis Kitosan: Studi Karakterisasi dan Potensi Aplikatif)

Yohana Ivana Kedang^{1*}, Ika Oktavianawati², Marselina Theresia Djue Tea¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Pertanian, Sains dan Kesehatan, Universitas Timor, 85613, Indonesia

²Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Jember, Jember, 68121, Indonesia

ABSTRACT

Chitosan is a non-toxic and biodegradable polymer compound. Chitosan is widely applied in various industrial fields. This research uses shrimp shell waste from the Malaka-NTT as a chitin and chitosan production source. Chitosan synthesis consists of three steps, namely deproteinization, demineralization and deacetylation. Chitosan characterization includes determining the degree of deacetylation (DD), determining functional groups using Fourier Transform Infra-Red (FTIR), and measuring crystallinity using X-ray diffraction (XRD). The DD results obtained were 83.7%. The FTIR spectra results of the chitosan samples in this study showed a typical peak at absorption of 1648 cm^{-1} indicating the vibration of the C=O group in NHCOCH_3 (amide I) and absorption of 1589 cm^{-1} indicating the vibration of the N-H bending group (amide II). The results of the XRD diffractograms on the chitosan sample show an orthorhombic crystal structure with two typical peaks, namely at angles $2\theta = 10.12^\circ$ and $2\theta = 19.87^\circ$. The DD results obtained in this study indicate that the chitosan produced has a fairly high amine group content, so chitosan as a biomaterial has the potential to be applied in various pharmaceutical and biomedical fields because it has environmentally friendly, biocompatible, and biodegradable properties. Therefore, based on the results of the DD calculation and the characterization of the FTIR and XRD instruments in this study, it shows that the synthesis of chitosan from the utilization of tiger shrimp shell waste from Malaka Regency-NTT has been successfully carried out.

Kitosan adalah senyawa polimer yang tidak beracun dan dapat terbiodegradasi. Kitosan banyak diaplikasikan pada berbagai bidang industri. Penelitian ini telah dilakukan pemanfaatan limbah kulit udang windu yang berasal dari kabupaten Malaka-NTT sebagai sumber produksi kitin dan kitosan. Sintesis kitosan terdiri dari tiga tahap yakni deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Karakterisasi kitosan meliputi penentuan derajat deasetilasi (DD), penentuan gugus fungsi dengan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), serta pengamatan kristalinitas dengan *X-Ray Diffraction* (XRD). Hasil perhitungan DD yang diperoleh adalah 83,7%. Hasil spektra FTIR sampel kitosan pada penelitian ini menunjukkan puncak khas pada serapan 1648 cm^{-1} menunjukkan vibrasi gugus C=O dalam NHCOCH_3 (amida I) dan serapan 1589 cm^{-1} menunjukkan vibrasi gugus N-H bending (amida II). Hasil difaktogram XRD pada sampel kitosan menunjukkan struktur kristal ortorombik dengan dua puncak khas yakni pada sudut $2\theta = 10,12^\circ$ dan $2\theta = 19,87^\circ$. Hasil DD yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kitosan yang dihasilkan memiliki kandungan gugus amina yang cukup tinggi, sehingga kitosan sebagai biomaterial yang berpotensi diaplikasikan berbagai bidang farmasi dan biomedis karena memiliki sifat ramah lingkungan, biokompatibel dan biodegradabel. Oleh karena itu, berdasarkan hasil perhitungan DD dan karakterisasi instrumen FTIR dan XRD pada penelitian ini menunjukkan sintesis kitosan dari pemanfaatan limbah kulit udang win du asal kabupaten Malaka-NTT telah berhasil dilakukan.

Keywords: Shell waste, shrimp, chitin, chitosan, degree of deacetylation.

*Corresponding author:

Yohana Ivana Kedang

E-mail: yohanakedangunimor@gmail.com

PENDAHULUAN

Industri perikanan menghadapi masalah besar dengan limbah kulit udang yang tidak termanfaatkan dengan baik [1],[2]. Udang merupakan salah satu produk perikanan yang paling dominan dibudidayakan di dunia khususnya di negara-negara Asia, karena

karakteristik pertumbuhannya, nilai ekonominya, dan tinggi nilai gizi [3]. Produksi budidaya udang dunia sekitar 5 juta ton, penyumbang 52,9% dari total budidaya udang dunia [4]. Semakin tinggi jumlahnya produksi, kemungkinan terbentuknya limbah produksi juga semakin besar. Produk sampingan yang tersisa dari konsumsi makanan laut, khususnya cangkang

udang, juga ikut diperhitungkan berjumlah sekitar 40-50% dari total massa, dan limbah ini juga merupakan tantangan ekologis yang besar terdegradasi secara bertahap, menyebabkan penumpukan sampah di laut, dan pembusukan [5],[6]. Limbah ini tidak hanya menghasilkan biaya yang tinggi untuk pengolahan, tetapi juga dapat mencemari lingkungan [7],[8]. Oleh karena itu, diperlukan metode pengolahan limbah kulit udang yang berdaya guna dan ramah lingkungan sangat penting. Produksi kitosan dari limbah kulit udang dapat menjadi solusi yang tepat untuk mengurangi masalah limbah pembuangan[9]. Kitosan dapat diaplikasikan pada bidang industri, seperti kosmetik, farmasi, dan makanan [10],[11]. Hal ini disebabkan, karakteristik dari kitosan adalah senyawa polisakarida biodegradable yang terdiri dari residu d-glukosamin dan N-asetil-d-glukosamin yang terdistribusi secara acak yang dihubungkan melalui ikatan β -1,4-glikosidik [12],[13]. Pada skala komersial, kitosan diproduksi melalui deasetilasi kitin [14]. Selain itu, kitosan memiliki sifat seperti biokompatibilitas, dan kemampuan adsorpsi yang sangat baik [15].

Provinsi Nusa Tenggara Timur, khususnya di Kabupaten Malaka, budidaya udang merupakan kegiatan ekonomi yang dijalankan oleh masyarakat lokal. Udang Windu (*Penaeus monodon*), spesies yang banyak dibudidayakan di wilayah tersebut, dan menghasilkan banyak limbah cangkang. Sehingga, metode pengolahan limbah kulit udang menjadi kitosan merupakan salah satu solusi alternatif mengatasi hal tersebut, dan memberikan dampak yang besar untuk mengurangi pencemaran lingkungan serta menciptakan produk bernilai tinggi yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi industri. Beberapa metode yang digunakan untuk ekstraksi kitin dan sintesis kitosan yakni bantuan gelombang mikro, bantuan USG, ionik-cair, elektrokimia, medan listrik berdenyut, penggunaan pelarut eutektik alami, penggunaan enzim dan cara konvensional [16]. Metode-metode tersebut, hanya sedikit metode yang hemat biaya, ramah lingkungan, dan tidak terlalu beracun bagi lingkungan [16]. Metode ekstraksi kitin secara konvensional menurut Kozma dkk [17] memiliki biaya rata-rata yang relatif rendah dan menggunakan bahan organik seperti asam/basa. Selain itu, ekstraksi menggunakan asam/basa memiliki waktu reaksi yang singkat, tidak memerlukan reaktor khusus, dan efektif menghilangkan protein dan

mineral untuk menghasilkan kitin dengan kemurnian tinggi [17]. Pengolahan limbah kulit udang menjadi senyawa kitosan menggunakan metode ekstraksi kitin dan sintesis kitosan melibatkan 3 tahapan yakni deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi [18]. Pemilihan metode ini disebabkan kulit udang memiliki 3 kandungan utama yakni kitin 15-40%, 20-40% protein, dan 20-50% CaCO_3 [19]. Pigmen dan garam logam lainnya juga merupakan komponen kecil. Senyawa kitosan diperoleh dari hasil transformasi dari kitin yang memiliki gugus amida diubah menjadi gugus amina yang merupakan karakteristik dari kitosan [20]. Sehingga, untuk mendapatkan senyawa kitosan terlebih dahulu mengekstrak kitin dari limbah kulit udang. Hasil sintesis kitosan yang dilakukan oleh Priyangga dkk [21] menggunakan metode tersebut menunjukkan nilai DD yang diperoleh sebesar 82% [21].

Penelitian ini mensintesis kitosan dari limbah kulit udang Windu yang diambil dari limbah industri rumah tangga di kabupaten Malaka-NTT. Selain itu, sifat-sifat kitosan hasil sintesis di karakterisasi dengan penentuan derajat deasetilasi, FTIR, dan XRD.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi terdiri dari limbah kulit udang pasar lokal desa Umatoos, pelet NaOH (p.a., Merck), larutan HCl 37% (p.a., Merck), dan akuades.

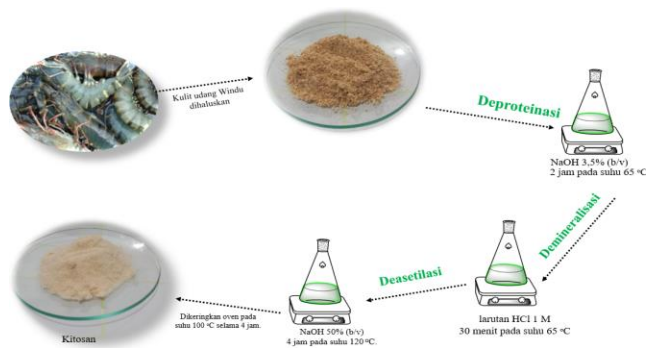
Kitosan dikarakterisasi dengan Fourier Transform Infra Red (FTIR, 8400S Shimadzu), Difraksi XRay (XRD, Philips X-Pert MPD), dan Scanning Electron Microscopy (SEM, Zeiss Evo MA), hot plate, oven, blender, dan pengayakan 100 mesh.

Preparasi Kulit Udang

Limbah kulit udang diperoleh dari pasar lokal di desa Umatoos, Kecamatan Malaka Barat, Kabupaten Malaka. Sampel diambil segar dan dibawa ke laboratorium dalam waktu 1,5 jam setelah pengadaaan. Sampel diambil dan dicuci bersih dengan air keran yang mengalir untuk menghilangkan tanah dan benda asing. Sampel yang sudah dibersihkan disimpan untuk dikeringkan pada suhu 80°C dalam oven udara panas selama 2-3 hari. Sampel kering digiling halus dalam mesin penggiling dan disimpan dalam wadah kedap udara.

Sintesis Kitosan

Sintesis kitosan dilakukan melalui tiga tahap yakni deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Proses dalam penelitian ini sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Priyanga dkk [21]. Tahap deproteinasi, bubuk kulit udang 20 g ditambahkan dalam sodium hidroksida (NaOH) 3,5 % (b/v) dengan perbandingan padat dan pelarut 1:20 selama 2 jam dengan pengadukan konstan pada 150 rpm pada suhu 50°C. Larutan NaOH ini berfungsi untuk memutuskan ikatan kovalen antara protein dan kitin lalu membentuk Na-proteinat yang dapat larut [22]. Setelah deproteinasi, sampel dicuci dengan akuades hingga sampel mencapai pH netral dan dikeringkan selama 6 jam. Tahap demineralisasi, sampel hasil deproteinasi ditambahkan dalam asam klorida (HCl) 1 M dengan perbandingan padat dan pelarut 1:15 selama 30 menit suhu 65 °C dengan pengadukan konstan pada 150 rpm pada suhu ruang. Pemilihan konsentrasi HCl 1M dan suhu 65°C bertujuan untuk memaksimalkan pelarutan kalsium karbonat tanpa merusak struktur kitin. HCl ditambahkan secara perlahan untuk menghindari buih akibat pembentukan gas yang terjadi karena kandungan kalsium karbonat cangkang yang bereaksi dengan asam dan membentuk karbon dioksida. Setelah demineralisasi, sampel dicuci dengan akuades hingga sampel mencapai pH netral.



Gambar 1. Skema proses sintesis kitosan

Pencucian akhir diberikan dengan air suling panas dan sampel disimpan untuk dikeringkan selama 6 jam. Produk dari tahap deproteinasi adalah kitin. Tahap deasetilasi, 10 g kitin ditambahkan ke NaOH 50% (b/v) selama 4 jam pada suhu 120°C. Pemilihan larutan NaOH 50% yang merupakan basa kuat dapat berperan dalam pemutusan ikatan antar karbon pada gugus asetil dengan nitrogen pada kitin menjadi gugus amina melalui reaksi hidrolisis [22]. Setelah deasetilasi, sampel dicuci dengan akuades hingga sampel

mencapai pH netral dan dikeringkan selama 6 jam. Produk akhir dari tahap deasetilasi adalah kitosan. Proses sintesis kitosan diilustrasikan pada Gambar 1.

Penentuan Derajat Deasetilasi

Penentuan derajat deasetilasi menggunakan metode titrasi. Penggunaan perhitungan DD dengan metode titrasi pada penelitian karena metode ini paling umum digunakan karena bahan kimia dan peralatan relatif sederhana dan ekonomis. Selain itu, lebih efisien dibandingkan metode lain dikarenakan titrasi dapat digunakan berulang kali dan memberikan hasil yang konsisten, dapat memberikan hasil yang cukup akurat, serta jumlah gugus amina bebas pada kitosan yang merupakan indikator langsung dari DD dapat dihitung dengan metode titrasi ini [23].

Kitosan sebanyak 0,125 g dilarutkan dalam 25 cm³ larutan encer 0,1 mol·dm⁻³ asam klorida dan diaduk selama 30 menit hingga larut seluruhnya. Solusinya dititrasi dengan 0,1 mol·dm⁻³ NaOH. Derajat deasetilasi dihitung sebagai berikut dengan menentukan terlebih dahulu mencari presentase NH₂ yang dapat dilihat pada persamaan (1):

$$NH_2\% = \frac{(C_1V_1 - C_2V_2)0,016}{G(100-W)} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan: C₁ adalah konsentrasi HCl dalam mol·dm⁻³, C₂ adalah konsentrasi NaOH (mol·dm⁻³), V₁ adalah volume larutan HCl (cm³), V₂ adalah volume larutan NaOH (cm³), 0,016 adalah molekul berat NH₂ (1 cm³ 0,1 mol·dm⁻³) HCl (g), G adalah berat sampel (g), W adalah persentase air dari sampel (%).

Penentuan presentase derajat deasetilasi dapat dilihat pada persamaan (2):

$$DD\% = NH_2/9,94\% \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan: DD% adalah presentase derajat deasetilasi, 9,94 % adalah nilai persentase NH₂ secara teoritis.

Karakterisasi kitin dan kitosan dengan FTIR dan XRD

Sampel kitin dan kitosan karakterisasi dilakukan menggunakan spektroskopi FTIR. Pelet dibuat dari sampel (~3 mg) dengan KBr (~800 mg). Transmisi diukur pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹.

Sampel kitin dan kitosan di karakterisasi XRD dan beroperasi pada 30 mA, 40 keV, and 1.54 Å, Cu Ka

wavelength. Kecepatan pemindaian yang digunakan untuk merekam spektrum adalah 0,028 20/s.

HASIL DAN PEMBAHASAN

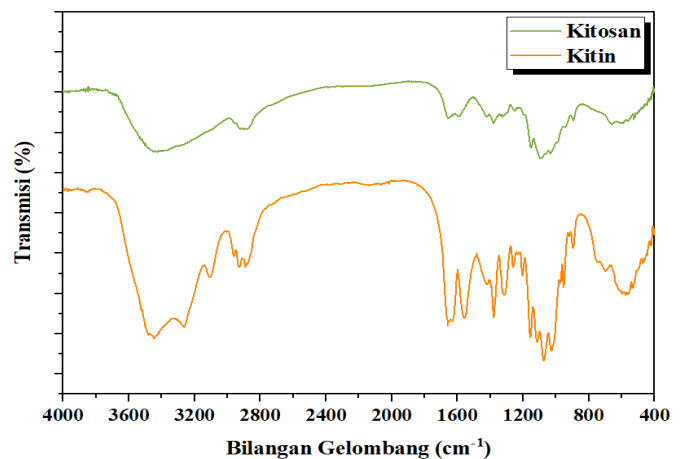
Penentuan DD

Penentuan derajat deasetilasi sampel kitosan menggunakan metode titrasi. penelitian ini, metode titrasi asam basa berhasil digunakan untuk penentuan derajat deasetilasi berbagai kadar kitosan. Metode ini sangat efektif namun preparasi sampel membutuhkan waktu lebih lama untuk melakukan titrasi ini [23]. Kitosan awalnya dilarutkan dalam HCl untuk mengubah gugus $-NH_2$ menjadi bentuk $-NH_3^+$ (gugus amino terprotonasi), yang memfasilitasi pengembangan karakter asam ke dalam larutan kitosan dan kemudian dititrasi dengan NaOH standar [23]. metil jingga sebagai indikator pH, yang membantukita memahami titik netralisasi reaksi [24]. Reaksi yang terjadi saat melakukan titrasi ditunjukkan hasil DD yang diperoleh pada sampel ini 83,7%. Berdasarkan hasil di atas dapat diperkirakan bahwa kelebihan jumlah HCl dalam larutan uji kitosan akan dinetralkan terlebih dahulu oleh ion OH^- sebelum memulai reaksi tahap kedua pada saat titrasi. Pada langkah kedua, gugus amino terprotonasi diubah menjadi gugus amino yang sesuai dan perubahan warna diamati dari merah muda menjadi kuning oranye, yang menunjukkan titik akhir. Terakhir, volume pasti NaOH yang diperlukan untuk menetralkan masing-masing larutan kitosan dicatat untuk menentukan nilai DD. Demikian pula, Hossan dkk [25] melakukan penentuan nilai DD kitosan dengan metode titrasi asam basa. Hasil penelitian ini memenuhi standar nilai kitosan komersil yakni $> 75\%$ [26]. Adapun penelitian lain yang dilaporkan oleh Dutta dkk [23] Ditemukan bahwa nilai DD sampel kitosan dengan metode titrasi yang dilakukan 3x pengulangan perlakuan diperoleh 86.18%.

Karakterisasi FTIR

Spektrum FTIR sampel kitosan menunjukkan puncak pada serapan 3469 cm^{-1} yang mengindikasikan vibrasi ulur gugus -hidroksil, gugus $-NH_2$ amina dan ikatan hidrogen yang sebanding dengan puncak spektrum kitosan komersil yaitu pada pita serapan 3420 cm^{-1} [27]. Keberhasilan transformasi kitin menjadi kitosan melalui proses deasetilasi ditandai dengan perubahan serapan pada bilangan 3469 cm^{-1}

yang menunjukkan adanya ikatan hidrogen dari gugus $-OH$ menjadi lebar kemudian bergeser kearah kanan bilangan gelombang yang lebih kecil yakni $3259,49\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan N-H (Amida II) semakin rendah dan hilang. Hal ini kemungkinan disebabkan terjadi tumpang tindih serapan gugus $-OH$ dengan rentangan N-H (Amida II). Berdasarkan Gambar 2 terlihat serapan pada bilangan gelombang 1652 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi *stretching* gugus $C=O$ ($-NHC(=O)CH_3$) yang memiliki intensitas serapan semakin lemah. Hal ini mengindikasikan adanya pelepasan gugus asetil dari senyawa kitin dengan munculnya serapan baru pada bilangan gelombang 1648 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi bending N-H dari gugus NH_2 yang membuktikan telah terjadi deasetilasi senyawa kitin menjadi kitosan.



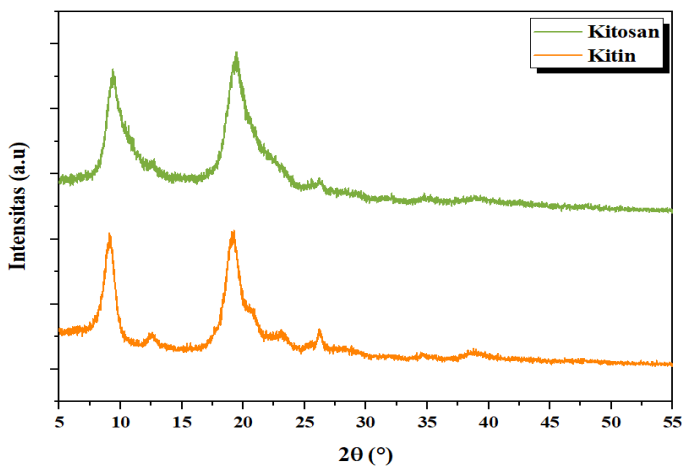
Gambar 2. Hasil spektra FTIR dari Kitin dan Kitosan

Puncak pita serapan 1648 cm^{-1} pada sampel kitosan menunjukkan vibrasi gugus karbonil (amida I) dan kitosan komersil mempunyai puncak pada pita serapan 1654 cm^{-1} . Puncak sampel kitosan pada pita serapan 1589 cm^{-1} dan serapan 1580 cm^{-1} pada kitosan komersil menunjukkan adanya pita tengah II (N-H bending). Gugus $-CH_2$ dalam CH_2OH , puncak diamati pada sampel kitosan dengan serapan 2920 dan 1421 cm^{-1} yang tumpang tindih, spektrum ini mirip dengan kitosan komersil pada serapan 2921 dan 1422 cm^{-1} . Gugus $-CH_3$ dari $NHC(=O)CH_3$ (ikatan amida) ditunjukkan kitosan komersil pada serapan 1380 cm^{-1} dan sampel kitosan pada 1381 cm^{-1} . Peregangan oksigen ikatan glikosidik ditemukan pada kitosan komersil pada serapan 1155 cm^{-1} , sedangkan pada sampel kitosan ditemukan pada serapan 1151 cm^{-1} . Cincin piranosa ditemukan pada kitosan komersil dengan serapan 895 cm^{-1} dan pada sampel kitosan

pada 896 cm^{-1} . proses deasetilasi terjadi variasi intensitas gugus karbonil pada 1655 cm^{-1} dan puncak pita Amida pada 3449 cm^{-1} . Ikatan glikosidik ditunjukkan kitosan komersil pada 1155 cm^{-1} . Adanya gugus CH_3 , CH_2 dan CH serta gugus-OH primer dan sekunder yang terikat pada cincin piranosa, diwakili oleh spektrum antara 1422 dan 603 cm^{-1} . Kedang dkk. [27] juga melaporkan hasil serupa; spektrum pita untuk gugus hidroksil dan $-\text{NH}_2$ pada 3470 cm^{-1} dan pita Amida antara 1647 dan 1583 cm^{-1} sangat mirip dengan spektrum pita yang diperoleh dalam penelitian ini.

Karakterisasi XRD

Hasil karakterisasi XRD sampel kitosan yang dihasilkan ini mengkonfirmasi hasil dari karakterisasi kitosan pada spektra IR. Kedua hasil karakterisasi XRD sampel kitosan pada Gambar 3 menunjukkan bahwa transformasi kitin menjadi kitosan berhasil dilakukan dengan munculnya puncak khas yang dimiliki kitosan. Dua puncak khas pada $2\theta = 10,12^\circ$ dan $2\theta = 19,87^\circ$ mengindikasikan struktur kitosan telah terbentuk dengan baik. namun adanya puncak pada hasil difaktogram XRD pada sudut $2\theta = 26,30^\circ$ dan $2\theta = 12,92^\circ$ ini merupakan puncak khas dari kitin.



Gambar 3. Hasil difaktogram XRD dari Kitin dan Kitosan

Penelitian ini juga menunjukkan hal yang sama bahwa puncak difraksi dari kitin dan kitosan cenderung membentuk sisi kristal ortorombik. Puncak - puncak yang ditunjukkan pada difaktogram kitosan terdeteksi puncak yang lebih rendah dan lebih lebar menunjukkan tingkat kristalinitas yang rendah. Rendahnya tingkat kristalinitas dan sisi kristal ortorombik memberikan dampak positif terhadap

kitosan yang lebih mudah larut dalam suatu pelarut. Hal ini disebabkan berkurangnya kekakuan kisi kristal pada kitosan sehingga kisi kristal tidak beraturan dan renggang (banyak ruang). Hal tersebut, seperti yang dilaporkan oleh Eddy dkk [28] melaporkan bahwa kitin dan kitosan memiliki puncak difraksi yang tidak jauh berbeda satu sama lain.

Kitosan yang disintesis dengan metode konvensional dapat menghasilkan nilai DD yang tinggi, diketahui nilai DD yang lebih tinggi menunjukkan kualitas kitosan yang lebih baik. Kitosan hasil sintesis dari Limbah kulit udang asal pacitan yang diteliti oleh Priyanga dkk dengan metode sintesis yang sama mendapatkan nilai DD lebih rendah 82% dibandingkan nilai DD senyawa kitosan hasil sintesis limbah kulit udang windu asal malaka sebesar 83,7%.

KESIMPULAN

Potensi pemanfaatan limbah kulit udang windu asal malaka sebagai sumber kitosan berhasil dilakukan pada penelitian. Hasil analisis sampel menggunakan XRD dan FTIR mengkonfirmasi keberhasilan terbentuknya senyawa kitosan yang disintesis dari proses deasetilasi kitin. Serta didukung dengan data hasil perhitungan DD sebesar 83,7%. Kitosan hasil penelitian ini memiliki banyak manfaat, terutama dalam industri lokal seperti bahan pengawet alami, pestisida nabati, dan finishing tekstil. Selain itu, kitosan juga dapat dijadikan material biopolimer yang berkelanjutan dan ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] T. K. Varun *et al.*, "Extraction of chitosan and its oligomers from shrimp shell waste, their characterization and antimicrobial effect," *Vet. world*, vol. 10, no. 2, pp. 170-175, Feb. 2017.
- [2] S. Kumari, P. Rath, A. S. H. Kumar, and T. N. Tiwari, "Extraction and characterization of chitin and chitosan from fishery waste by chemical method," *Environ. Technol. Innov.*, vol. 3, pp. 77-85, 2015.
- [3] N. D. Takarina, A. A. Nasrul, and A. Nurmarina, "Degree of deacetylation of chitosan extracted from white snapper (*Lates sp.*) scales waste," *Int. J. Pharma Med. Biol. Sci.*, vol. 6, no. 1, pp. 16-19, 2017.
- [4] M. Chen, X.-Q. Chen, L.-X. Tian, Y.-J. Liu, and J. Niu, "Improvement of growth, intestinal short-chain fatty acids, non-specific immunity and ammonia resistance in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed

- dietary water-soluble chitosan and mixed probiotics,” *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 236, p. 108791, Oct. 2020.
- [5] B.-I. Andreica, X. Cheng, and L. Marin, “Quaternary ammonium salts of chitosan. A critical overview on the synthesis and properties generated by quaternization,” *Eur. Polym. J.*, vol. 139, p. 110016, 2020.
- [6] A. M. Sixto-Berrocal, M. Vázquez-Aldana, S. P. Miranda-Castro, M. A. Martínez-Trujillo, and M. R. Cruz-Díaz, “Chitin/chitosan extraction from shrimp shell waste by a completely biotechnological process,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 230, p. 123204, 2023.
- [7] A. Iqbal, “Production and characterization of Chitosan from shrimp waste,” *J. Bangladesh Agric. Univ.*, vol. 12, Feb. 2015.
- [8] R. Hussain, M. Iman, and T. Maji, “Determination of degree of deacetylation of chitosan and their effect on the release behavior of essential oil from chitosan and chitosan-gelatin complex microcapsules,” *Int. J. Adv. Eng. Appl.*, vol. 1, pp. 4-12, Jan. 2013.
- [9] C. Casadidio, D. V. Peregrina, M. R. Gigliobianco, S. Deng, R. Censi, and P. Di Martino, “Chitin and chitosans: Characteristics, eco-friendly processes, and applications in cosmetic science,” *Mar. Drugs*, vol. 17, no. 6, p. 369, 2019.
- [10] A.-C. Cheng, Y.-L. Shiu, S.-T. Chiu, R. Ballantyne, and C.-H. Liu, “Effects of chitin from *Daphnia similis* and its derivative, chitosan on the immune response and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*,” *Fish Shellfish Immunol.*, vol. 119, pp. 329-338, Dec. 2021.
- [11] F. A. Vicente, R. Hren, U. Novak, L. Čuček, B. Likozar, and A. Vujanović, “Energy demand distribution and environmental impact assessment of chitosan production from shrimp shells,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 192, p. 114204, 2024.
- [12] B. A. Omar, R. Elmasry, A. Eita, M. M. Soliman, A. M. El-Tahan, and M. Sitohy, “Upgrading the preparation of high-quality chitosan from *Procambarus clarkii* wastes over the traditional isolation of shrimp chitosan,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 29, no. 2, pp. 911-919, Feb. 2022.
- [13] S.-F. Chou, J.-Y. Lai, C.-H. Cho, and C.-H. Lee, “Relationships between surface roughness/stiffness of chitosan coatings and fabrication of corneal keratocyte spheroids: Effect of degree of deacetylation,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 142, pp. 105-113, 2016.
- [14] R. M. Abdel-Rahman *et al.*, “Chitin and chitosan from Brazilian Atlantic Coast: Isolation, characterization and antibacterial activity,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 80, pp. 107-120, 2015.
- [15] M. Purwanto *et al.*, “Biopolymer-based electrolyte membranes from chitosan incorporated with montmorillonite-crosslinked GPTMS for direct methanol fuel cells,” *RSC Adv.*, vol. 6, no. 3, pp. 2314-2322, 2016.
- [16] K. Mohan *et al.*, “Green and eco-friendly approaches for the extraction of chitin and chitosan: A review,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 287, p. 119349, 2022.
- [17] M. Kozma, B. Acharya, and R. Bissessur, “Chitin, Chitosan, and Nanochitin: Extraction, Synthesis, and Applications,” *Polymers*, vol. 14, no. 19, 2022.
- [18] T. S. Trung, N. Van Tan, N. Van Hoa, N. C. Minh, P. T. Loc, and W. F. Stevens, “Improved method for production of chitin and chitosan from shrimp shells,” *Carbohydr. Res.*, vol. 489, p. 107913, 2020.
- [19] M. Pakizeh, A. Moradi, and T. Ghassemi, “Chemical extraction and modification of chitin and chitosan from shrimp shells,” *Eur. Polym. J.*, vol. 159, p. 110709, 2021.
- [20] J. Pohling, D. Dave, Y. Liu, W. Murphy, and S. Trenholm, “Two-step demineralization of shrimp (*Pandalus borealis*) shells using citric acid: An environmentally friendly, safe and cost-effective alternative to the traditional approach,” *Green Chem.*, vol. 24, no. 3, pp. 1141-1151, 2022.
- [21] A. Priyanga *et al.*, “The Potential Development of Shrimp Shell Waste Into Chitosan Originating from Pacitan Coast, Indonesia,” in *BIO Web of Conferences*, 2023, vol. 70, p. 2002.
- [22] H. A. Said Al Hoqani, N. AL-Shaqsi, M. A. Hossain, and M. A. Al Sibani, “Isolation and optimization of the method for industrial production of chitin and chitosan from Omani shrimp shell,” *Carbohydr. Res.*, vol. 492, p. 108001, 2020.
- [23] J. Dutta and Priyanka, “A facile approach for the determination of degree of deacetylation of chitosan using acid-base titration,” *Heliyon*, vol. 8, no. 7, p. e09924, 2022.
- [24] N. Varan, “The use of titration technique and FTIR bands to determine the deacetylation degree of chitosan samples,” *J. Text. Sci. Eng.*, vol. 6, no. 288, p. 2, 2017.
- [25] S. Hossain and M. K. Uddin, “Isolation and extraction of chitosan from shrimp shells,” *Int. J. Adv. Res.*, vol. 8, pp. 657-664, 2020.
- [26] M. K. Rasweefali, S. Sabu, K. V Sunooj, A. Sasidharan, and K. A. M. Xavier, “Consequences of chemical deacetylation on physicochemical, structural and functional characteristics of chitosan extracted from deep-sea mud shrimp,” *Carbohydr. Polym. Technol. Appl.*, vol. 2, p. 100032, 2021.
- [27] Y. I. Kedang, A. Priyanga, L. Atmaja, and M. Santoso, “Characteristics and performance studies of a

composite polymer electrolyte membrane based on chitosan/glycerol-sulfosuccinic acid modified montmorillonite clay,” *RSC Adv*, vol. 12, no. 47, pp. 30742–30753, Oct. 2022.

- [28] M. Eddy, B. Tibi, and K. El-Hami, “A comparison of chitosan properties after extraction from shrimp shells by diluted and concentrated acids,” *Helijon*, vol. 6, no. 2, p. e03486, Feb. 2020.