



PENGARUH KONSENTRASI ASAM KLORIDA TERHADAP EKSTRAKSI GLUKOSAMINA DARI KITOSAN *Penaeus monodon* SEBAGAI SISTEM SEDIAAN LIPOSOM

Suciarti Makatita^{1*}, Wini Trilaksani¹, Wahyu Ramadhan^{1,2}

¹Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB University
Jalan Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

²Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan (PKSPL), Kampus IPB Baranangsiang
Jalan Raya Pajajaran No. 1, Bogor, Jawa Barat, 16127

Diterima: 11 Februari 2025/Disetujui: 27 Maret 2025

*Korespondensi: suciartimakatita@apps.ipb.ac.id

How to cite (APA Style 7th): Makatita, S., Trilaksani, W., & Ramadhan, W. (2025). Pengaruh konsentrasi asam klorida terhadap ekstraksi glukosamina dari kitosan *Penaeus monodon* sebagai sistem sediaan liposom. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(3), 322-335. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v28i3.62605>

Abstrak

Glukosamina merupakan senyawa penting untuk menjaga kesehatan sendi. Saat ini, hampir seluruh kebutuhan glukosamina di Indonesia masih bergantung pada impor. Pengembangan produksi glukosamina dengan variasi konsentrasi HCl menjadi langkah strategis untuk memenuhi kebutuhan nasional. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi HCl terbaik dalam proses hidrolisis kitosan menggunakan metode ekstraksi ultrasonikasi untuk menghasilkan glukosamina hidroklorida (GlcN-HCl) berdasarkan rendemen, karakteristik fisikokimia, derajat kristalisasi, gugus fungsi, dan ukuran partikel. Ekstraksi dilakukan dengan variasi konsentrasi HCl sebesar 4, 6, dan 8%. Proses hidrolisis dilakukan dengan perlakuan ultrasonikasi selama 40 menit. Parameter yang dianalisis meliputi karakteristik fisikokimia, analisis *X-Ray Diffraction* (XRD), gugus fungsi melalui *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), dan ukuran partikel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode ekstraksi ultrasonik dengan variasi konsentrasi HCl menghasilkan GlcN-HCl dengan karakteristik fisikokimia yang baik. Rendemen yang diperoleh berkisar antara 78,95–86,20%. GlcN-HCl yang dihasilkan memiliki pH 3,59–3,64 serta struktur kristal spesifik pada sudut 2θ ($9,87^\circ$ dan $28,95^\circ$) berdasarkan analisis XRD. Spektrum FTIR menunjukkan serapan khas pada bilangan gelombang 1.613 cm^{-1} , yang mengindikasikan keberadaan gugus amina. Ukuran partikel GlcN-HCl berkisar antara 26–239 nm. Perlakuan ekstraksi glukosamina dengan HCl 4% menghasilkan rendemen tertinggi sehingga terpilih untuk formulasi sediaan liposom. Evaluasi stabilitas liposom yang mengandung GlcN-HCl selama 4 hari penyimpanan menunjukkan bahwa waktu penyimpanan berpengaruh terhadap kestabilan fisik liposom, yang ditandai dengan peningkatan kekeruhan.

Kata kunci: asam, ekstrak, hidroklorida, partikel, stabilitas

The Effect of Hydrochloric Acid Concentration on Glucosamine Extraction from Chitosan *Penaeus monodon* as Liposomal-Based Delivery System

Abstract

Glucosamine is an important compound for maintaining joint health. Currently, almost all glucosamine needs in Indonesia still depend on imports. Therefore, developing glucosamine production with variations in HCl concentration is a strategic step to meet national needs. This study aims to determine the best HCl concentration in the chitosan hydrolysis process using the ultrasonic extraction method to produce glucosamine hydrochloride (GlcN-HCl) based on yield, physicochemical characteristics, degree of crystallization, functional groups, and particle size. Extraction was carried out with variations in HCl

concentration of 4%, 6%, and 8%. The hydrolysis process was carried out with ultrasonic treatment for 40 minutes. The parameters analyzed include physicochemical characteristics, X-Ray Diffraction (XRD) analysis, functional groups through Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), and particle size. The results showed that the ultrasonic extraction method with variations in HCl concentration produced GlcN-HCl with good physicochemical characteristics. The yield obtained ranged from 78.95–86.20%. The resulting GlcN-HCl has a pH of 3.59–3.64 and a specific crystal structure at an angle of 2θ (9.87° and 28.95°) based on XRD analysis. The FTIR spectrum showed a characteristic absorption at wave number 1613 cm^{-1} , indicating the presence of amine groups. The particle size of GlcN-HCl ranged from 26–239 nm. The extraction treatment of glucosamine with 4% HCl produced the highest yield so it was selected for the formulation of liposome preparations. Evaluation of the stability of liposomes containing GlcN-HCl during 4 days of storage showed that storage time affected the physical stability of liposomes, which was indicated by an increase in turbidity.

Keywords: acid, extract, hydrochloride, particles, stability

PENDAHULUAN

Indonesia saat ini menghadapi fenomena penuaan penduduk. Proporsi penduduk usia lanjut mencapai 11,75% dari total populasi, dan diprediksi meningkat menjadi 23,1% pada tahun 2050 (Badan Pusat Statistik Indonesia [BPS], 2023). Pertambahan usia meningkatkan prevalensi penyakit osteoarthritis (OA) yang memengaruhi kualitas hidup lansia (Hawker & King 2022). Penyakit osteoarthritis ditandai dengan kerusakan pada tulang rawan dan struktur sendi lainnya (Soeroso *et al.*, 2014) yang memengaruhi 24,7% populasi Indonesia atau sekitar 55 juta jiwa. Penderita OA sebesar 80% mengalami keterbatasan gerak, dan 25% tidak mampu menjalani aktivitas sehari-hari (World Health Organization [WHO], 2021).

Glukosamina merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan sendi (Rasheed *et al.*, 2022) serta berperan sebagai prekursor biosintesis protein dan lipid dalam tubuh (Sujatmiko *et al.*, 2023). Kebutuhan glukosamina di Indonesia masih bergantung pada impor sekitar 95% (Volza Grow Global [VGG], 2023). Hidrolisis kitosan dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatis untuk menghasilkan glukosamina. Hidrolisis kimiawi menghasilkan glukosamina hidroklorida atau glukosamina HCl menggunakan asam. Cahyono *et al.* (2014) menggunakan larutan HCl 5% selama 60 menit dengan pemanasan dan tekanan sekitar 0,5 atm dan hasilnya rendemen glukosamina HCl sebesar 65,33%. Hidrolisis enzimatis dengan enzim kitinase menghasilkan rendemen sebesar 54% (Kudan *et al.*, 2010).

Metode alternatif salah satunya penerapan ekstraksi ultrasonikasi telah menunjukkan potensi besar dalam meningkatkan efisiensi proses hidrolisis, termasuk hidrolisis kitosan menjadi glukosamina (Meata *et al.*, 2021).

Metode ekstraksi ultrasonikasi umumnya memicu fenomena kavitasi, yang menghasilkan gaya mekanis untuk menghancurkan dinding sel (Chemat *et al.*, 2017). Proses ekstraksi yang menggunakan ultrasonik dapat meningkatkan perpindahan massa, mempercepat proses difusi, dan melindungi bagian aktif dari kerusakan yang biasanya disebabkan oleh suhu tinggi (Wen *et al.*, 2018). Kitosan dapat dihidrolisis menggunakan asam asetat 1% (v/v) dengan ekstraksi ultrasonikasi pada suhu 60°C selama 120 menit, menghasilkan glukosamina dengan rendemen 50,26% (Savitri *et al.*, 2014). Hidrolisis kitosan menggunakan HCl 37% pada suhu 80°C selama 40 menit menghasilkan rendemen glukosamina tertinggi sebesar $70,13 \pm 0,67\%$ (Meata *et al.*, 2019). Namun, penggunaan HCl dengan konsentrasi tinggi kurang disarankan karena bersifat korosif, berbahaya bagi lingkungan, dan memerlukan penanganan yang lebih kompleks dalam skala industri (Fan *et al.*, 2021). Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan metode hidrolisis yang lebih ramah lingkungan dan efisien, yaitu penggunaan bahan kimia HCl dengan tingkat toksisitas dan konsentrasi rendah, guna menghasilkan glukosamina hidroklorida (GlcN-HCl) berkualitas tinggi yang sesuai untuk aplikasi farmasi.



Glukosamina hidroklorida (GlcN-HCl) berpotensi lebih luas dalam aplikasi farmasi, termasuk sebagai bahan aktif dalam sistem penghantaran obat berbasis liposom. Liposom adalah vesikel berbentuk bola dengan bilayer fosfolipid yang efektif untuk mengenkapsulasi zat hidrofobik dan hidrofilik (McClements, 2018). Liposom telah dieksplorasi secara signifikan untuk aplikasi pengiriman obat karena berbagai keuntungannya, yaitu dapat meningkatkan penyerapan obat oleh sel, dan menstabilkan fisikokimia (Chang *et al.*, 2021), komposisi yang fleksibel, toksisitas rendah, dan biokompatibilitas yang baik (Ismail & Csóka, 2017). Liposom yang berisi griseofulvin, obat hidrofobik, mencapai efisiensi enkapsulasi tertinggi sebesar 97,9% (Ong *et al.*, 2016). Studi lain melaporkan penggunaan liposom untuk mengenkapsulasi hidrolisat protein bioaktif dari salmon dengan efisiensi enkapsulasi sebesar 71,3% (Li *et al.*, 2015). Studi lainnya juga menggunakan liposom untuk pengiriman oral menyebutkan efisiensi dalam kisaran 45,0-94,7% (Ohnishi *et al.*, 2015). Latrobdiba *et al.* (2023) telah melakukan optimalisasi liposom untuk pengiriman oral nutrasetikal dalam makanan.

Hidrolisis kitosan menjadi glukosamina hidroklorida (GlcN-HCl) melalui metode ekstraksi ultrasonikasi dengan HCl berkonsentrasi rendah merupakan pendekatan yang belum pernah dilaporkan sebelumnya. Selain itu, potensi glukosamina sebagai bahan untuk sediaan liposom juga masih belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi HCl terbaik dalam proses hidrolisis kitosan menggunakan metode ekstraksi ultrasonikasi untuk menghasilkan glukosamina hidroklorida (GlcN-HCl) berdasarkan karakteristik fisikokimia, derajat kristalisasi, gugus fungsi, dan ukuran partikel.

BAHAN DAN METODE

Ekstraksi Glukosamina

Pembuatan glukosamina mengacu pada penelitian Meata *et al.* (2021) dengan modifikasi pada konsentrasi pelarut HCl. Bahan baku glukosamina berasal kitosan karapas udang (*Penaeus monodon*) komersial yang diperoleh dari CV Bio Chitosan

Indonesia di Kabupaten Cirebon. Penelitian ini diawali dengan karakterisasi sifat fisik dan kimia kitosan dari karapas udang *P. monodon* komersial yang mencakup warna, bau, kadar air, kadar abu, total protein, viskositas, dan derajat deasetilasi. Ekstraksi glukosamina diawali dengan pelarutan kitosan dalam HCl konsentrasi 4, 6, dan 8% dengan rasio kitosan terhadap larutan HCl sebesar 1:15 (b/v). Larutan diekstraksi dengan metode ultrasonikasi (DSA100, 200W, Shenzhen, Cina) pada frekuensi 20 kHz dan daya 200 watt selama 30 menit pada suhu 60 °C, diaduk menggunakan pengaduk selama 90 menit untuk setiap perlakuan, dicuci menggunakan isopropil alkohol (IPA) (teknis) hingga mencapai pH 3 guna menghilangkan kotoran. Glukosamina yang dihasilkan dikeringkan dalam oven berkapasitas 65 L (B-ONE IO-65, Tiongkok) pada suhu 50°C selama 24 jam. Produk akhir berupa glukosamina hidroklorida (GlcN-HCl) dianalisis untuk parameter ketampakan, warna, rendemen, pH, *X-Ray Diffraction* (XRD), gugus fungsi *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), dan ukuran partikel.

Pembuatan Sediaan Liposom Glukosamina Hidroklorida (GlcN-HCl)

Pembuatan sediaan liposom mengacu pada Rasheed *et al.* (2022) dengan modifikasi pada penggunaan variasi rasio lesitin kedelai (Lipoid, Jerman) dan kolesterol. Liposom disiapkan menggunakan metode hidrasi film tipis. Proses pembuatan liposom glukosamina dimulai dengan mencampurkan lesitin kedelai (Lipoid, Jerman) dan kolesterol dengan rasio molaritas 50:50, dilarutkan dalam 10 mL kloroform (Merck, Jerman) di dalam labu leher bulat, diuapkan menggunakan evaporator putar (IKA, Jerman) pada suhu 45–60 °C dengan kecepatan 150 rpm selama 2 jam hingga terbentuk lapisan tipis lipid pada dinding labu. Lapisan lipid dibiarkan semalaman pada suhu 20°C. Film lipid yang terbentuk selanjutnya dihidrasi menggunakan larutan penyangga fosfat (PBS) (Merck, Jerman) yang mengandung 5% glukosamina hidroklorida (GlcN-HCl) dengan konsentrasi HCl 4%, dan proses hidrasi dilakukan dengan

rotasi pada suhu 60°C selama 1 jam. Hasil hidrasi berupa larutan liposom kemudian disonikasi dalam bak sonikasi untuk memastikan homogenitas. Produk akhir liposom glukosamina hidroklorida (GlcN-HCl) dianalisis ketampakan stabilitas fisik.

Analisis Kadar Air

Analisis kadar air mengacu pada BSN (1992). Cawan porselen dikeringkan dalam oven pada suhu 102-105 °C selama 15 menit hingga diperoleh berat konstan. Cawan diletakkan ke dalam desikator (kurang lebih 30 menit) dan dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang. Sampel 5 g ditimbang di dalam cawan, dimasukkan ke dalam oven bersuhu 102-105 °C selama 6 jam, dimasukkan ke dalam desikator dan dibiarkan sampai dingin (26-27 °C) dan ditimbang. Perhitungan kadar air sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B-C}{B-A}$$

Keterangan:

- A = berat cawan kosong (g)
- B = berat cawan dengan sampel (g)
- C = berat cawan dengan sampel setelah dikeringkan (g)

Analisis Kadar Abu

Analisis kadar abu mengacu pada BSN (1992). Cawan porselen dibersihkan dan dikeringkan di dalam oven bersuhu 105 °C selama 30 menit, didinginkan dalam desikator, dan ditimbang. Sampel 5 g dimasukkan ke dalam cawan porselen, dibakar di atas kompor listrik sampai tidak berasap, dan dimasukkan ke dalam tanur pada suhu 600 °C selama 6 jam. Proses pengabuan dilakukan sampai abu berwarna putih, cawan abu porselen didinginkan dalam desikator selama 30 menit, dan ditimbang. Perhitungan kadar abu sebagai berikut:

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{B-C}{B-A}$$

Keterangan:

- A = berat cawan kosong (g)
- B = berat cawan dengan sampel (g)
- C = berat cawan dengan sampel setelah dikeringkan (g)

Analisis Kadar Protein

Analisis kadar protein mengacu pada BSN (1992). Proses penentuan kadar protein dilakukan dengan cara sampel 0,51 g dimasukkan ke dalam kjedahl 100 mL, ditambahkan 25 mL H₂SO₄ pekat dan campuran selen (2,5 g serbuk SeO₂, 100 g K₂SO₄ dan 30 g CuSO₄·5H₂O). Sampel dipanaskan di atas pemanas listrik selama 2 jam, diencerkan, dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL sampai tanda garis. Sampel 5 mL dimasukkan ke dalam alat penyuling dan ditambahkan 5 mL NaOH 30% dan beberapa indikator PP. Sampel disuling selama 10 menit, sebagai penampung digunakan 10 mL larutan H₃BO₃ 2% yang telah dicampur indikator. Ujung pendingin dibilas dengan air suling dan dititar dengan larutan HCl 0,01 N kemudian dilakukan penetapan blanko. Hasil perhitungan merupakan nilai kandungan protein dalam bahan. Kadar protein dihitung dengan persamaan di bawah ini:

$$\text{Nitrogen (\%)} = \frac{(\text{mL HCl} - \text{mL blanko}) \times \text{N HCl} \times 14,007 \text{ mg}}{\text{mL sampel}}$$

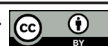
$$\text{Kadar protein kasar (\%)} = \%N \times 6,25 \times 100$$

Analisis Viskositas

Analisis viskositas mengacu pada AOAC (2005). Kitosan diukur menggunakan *ubbelohde dilution viscometer* VT 04. Sampel kitosan cair dimasukkan ke dalam *cup* viskometer. Spindel nomer 2 dimasukkan ke dalam *cup* yang berisi sediaan kitosan cair. Alat *viscometer* VT 04 dihidupkan hingga spindel berputar untuk mengukur viskositas pada sediaan kitosan cair selama 1 menit. Layar digital akan menunjukkan suatu angka (hasil pengukuran laju air sediaan). Angka tersebut merupakan nilai viskositas dari sediaan.

Rendemen

Perhitungan rendemen glukosamina mengacu pada Cunniff Association of Official Analytical Chemists (2005), yaitu rendemen glukosamina diperoleh dari perbandingan berat bobot akhir glukosamina yang dihasilkan dengan berat bobot awal. Rendemen diperoleh dengan rumus:



$$\text{Rendemen glukosamin (\%)} = \frac{A}{B} \times 100$$

Keterangan:

A = berat glukosamina (g)

B = berat kitosan (g)

Analisis Derajat Keasaman (pH)

Analisis derajat keasaman (pH) mengacu pada BSN (2004). Pengukuran pH adalah pengukuran banyaknya ion H^+ pada suatu larutan. Pengujian derajat keasaman dilakukan menggunakan pH meter. Sampel 1 g ditimbang, dituangkan ke gelas piala 40 mL yang telah berisi air dan diukur tingkat keasamannya pada suhu $25^{\circ}C$ menggunakan pH meter.

Analisis Spektrum Gugus Fungsi (FTIR)

Analisis FTIR mengacu pada Baxter *et al.* (1992). Serbuk glukosamina ditempatkan dalam alat pengepresan dan dilakukan pengepresan pada tekanan beban 800 kg. Kepingan hasil pengepresan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer FTIR. Kisaran *scanning* yang digunakan antara $4.000-400\text{ cm}^{-1}$. Glukosamina hasil uji dianggap baik (murni) jika kisaran absorbansi spektrumnya tidak jauh berbeda dengan kisaran absorbansi glukosamina pada penelitian sebelumnya.

Analisis Karakterisasi X-Ray Diffraction (XRD)

Analisis XRD mengacu pada Lestari (2009). Analisis XRD dilakukan untuk mengidentifikasi derajat kristalisasi glukosamina. Hasil analisis dibandingkan dengan data yang terdapat dalam literatur. Karakterisasi XRD dilakukan menggunakan perangkat Shimidzu XRD 7000 dengan sumber target $CuK\alpha$ ($\lambda = 1,54056\text{ \AA}$). Sampel berbentuk serbuk diletakkan dalam holder berukuran $2 \times 2\text{ cm}^2$ pada difraktometer untuk pengujian.

Analisis Ukuran partikel

Analisis ukuran partikel mengacu pada Tan & Nakajima (2004). Ukuran partikel rata-rata dan distribusi rata-rata

ditentukan dengan *Dynamic Light Scatter* (DLS) menggunakan alat *Zetasizer Nano-S90* (Malvern Instrument, Worcestershire, Inggris). Hasil akan menunjukkan nilai rata-rata $\pm$ standar deviasi dari nilai yang diberikan. Perhitungan ukuran partikel diukur melalui penyinaran cahaya monokromatik pada larutan yang mengandung partikel bulat dengan gerak Brown tertentu. Penyinaran cahaya monokromatik pada partikel akan mengubah efek Doppler pada larutan yang kemudian akan mengubah gerak Brown pada larutan, dan mengubah panjang gelombang yang terpantulkan (Xue *et al.*, 2022). Pada konsentrasi yang dan suhu larutan yang sama, gerak Brown larutan akan semakin kecil seiring dengan semakin besarnya ukuran partikel (Nguyen *et al.*, 2022).

Analisis Ketampakan Fisik

Pengamatan ketampakan fisik dilakukan pada suspensi liposom yang mengandung glukosamina hidroklorida (GlcN-HCl) mengacu pada Anwekar *et al.* (2011). Parameter yang diamati meliputi warna, bentuk, dan bau untuk menilai karakteristik fisik awal serta kemungkinan perubahan selama penyimpanan. Warna suspensi dapat mengindikasikan stabilitas formulasi, sedangkan perubahan bentuk dan bau dapat menunjukkan adanya degradasi atau interaksi antara komponen dalam sistem liposom.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu variasi konsentrasi HCl sebesar 4, 6, dan 8%. Data kuantitatif yang diperoleh dari analisis rendemen, pH, dan ukuran partikel dianalisis menggunakan analisis ragam *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Karakteristik warna, bau, kadar air, kadar abu, protein, viskositas, derajat deasetilasi, kristalinitas (XRD), gugus fungsi (FTIR), serta ketampakan fisik liposom dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk grafik, diagram, dan tabel. Seluruh data dianalisis sebanyak tiga kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Kitosan Karapas Udang

Kitosan yang digunakan dalam penelitian ini memiliki karakteristik yang sebagian besar sesuai dengan standar kitosan (*Table 1*). Hasil penelitian menunjukkan kadar protein kitosan yang digunakan lebih tinggi dibandingkan standar GRAS (2012). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh proses deproteinasi pada karapas udang yang kurang optimal. Pengukuran kadar protein dilakukan menggunakan metode Lowry, yang melibatkan reaksi antara protein dalam sampel dengan campuran reagen, termasuk ion tembaga dan reagen Folin-Ciocalteu. Makin tinggi kualitas kitosan, makin tinggi pula tingkat kemurniannya (Hadi *et al.*, 2023). Derajat deasetilasi (DD) merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan kualitas kitosan (Ramadhan *et al.*, 2025). Kitosan udang komersial memiliki nilai derajat deasetilasi sebesar 89,5%. Nilai ini sesuai dengan standar yang telah ditetapkan oleh GRAS (2012), yaitu sebesar 75–95%. Derajat deasetilasi kitosan berkisar antara

80–90% (Suptijah *et al.*, 2011), 74,82% (Mohanasrinivasan *et al.*, 2013) dan 75,85% (Walke *et al.*, 2015).

Karakteristik Glukosamina Hidroklorida

Glukosamina merupakan monomer dari kitosan yang memiliki karakteristik khusus. Secara fisik, glukosamina berbentuk serbuk dengan warna putih serta memiliki gugus hidroksil (O-H) dan amonium klorida (NH_3Cl) pada unit karbon terkecilnya. Gugus-gugus ini membuat glukosamina bersifat larut dalam air. Ketampakan dan warna merupakan ciri fisik yang dapat langsung diamati untuk mengenali karakteristik suatu produk. Dalam penelitian ini, glukosamina yang dihasilkan berbentuk serbuk dengan warna putih kecokelatan (*Figure 1*). Perubahan warna karena adanya reaksi Maillard sehingga perubahan warna menjadi coklat (Istifada *et al.*, 2023).

Rendemen

Rendemen adalah salah satu parameter penting untuk menilai ekonomis dan

Table 1 Characteristics of shrimp *P. monodon* carapace chitosan
Tabel 1 Karakteristik kitosan karapas udang *P. monodon*

Parameters	Result	BSN (2013)	EFSA (2010)	GRAS (2012)
Color	Pale yellow	Light brown to white	-	White to off white powder
Odor	Odorless	-	-	Neutral
Moisture (%)	8.5	≤ 12	≤ 10	≤ 10
Ash (%)	0.5	≤ 5	≤ 3	≤ 1
Protein (%)	0.5	≤ 5	≤ 6	0.02
Viscosity (cPs)	50.0	-	-	25-5,000
Degree of deacetylation (%)	89.5	≥ 75	≥ 90	75-95

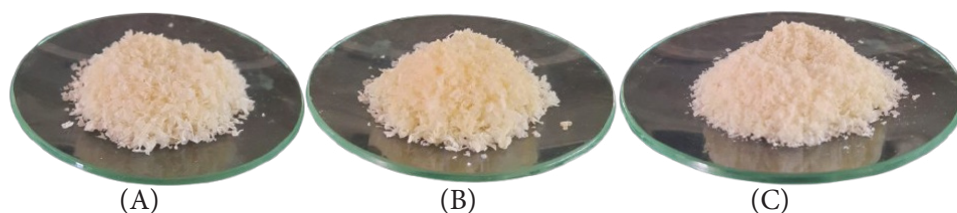


Figure 1 Glucosamine hydrochloride (A) 8%, (B) 6%, (C) 4%
Gambar 1 Glukosamin hidroklorida (A) 8%, (B) 6%, (C) 4%



efektivitas suatu proses produksi (Saragih *et al.*, 2019). Makin tinggi rendemen yang dihasilkan, makin efektif pula proses produksi tersebut. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi pelarut HCl tidak memberikan pengaruh signifikan ($p>0,05$) terhadap rendemen glukosamina. Hasil rendemen dapat dilihat pada *Table 2*.

Rendemen glukosamina hidroklorida yang diperoleh dalam penelitian ini berkisar antara 78,95-86,20%. Variasi konsentrasi HCl tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan meskipun terjadi peningkatan konsentrasi HCl dalam interval 2%, efektivitasnya dalam melepas gugus asetil dan memutus ikatan glikosida pada kitosan tetap sama, sehingga tidak menyebabkan perbedaan signifikan dalam rendemen glukosamina hidroklorida yang dihasilkan.

Rendemen hasil penelitian lebih tinggi dibandingkan rendemen hidrolisis kitosan dengan HCl 8% pada suhu 100°C selama 4 jam sebesar 65,80% (Suptijah *et al.*, 2011). Hidrolisis kitosan dengan HCl 5% pada suhu 100 °C selama 60 menit menghasilkan rendemen sebesar 65,33% (Cahyono *et al.*, 2014). Kedua penelitian tersebut tidak menggunakan metode ekstraksi ultrasonikasi. Meata *et al.* (2019) melaporkan bahwa penggunaan metode ekstraksi ultrasonikasi pada hidrolisis kitosan dengan HCl 37% suhu 80°C selama 40 menit menghasilkan rendemen glukosamina tertinggi sebesar 70,13±0,67%. Metode ekstraksi ultrasonikasi mampu meningkatkan laju hidrolisis asam, yang pada gilirannya mempercepat pembentukan monomer glukosamina. Selain itu, konsentrasi asam dan suhu yang tinggi juga berperan dalam mempercepat laju reaksi, sehingga

menghasilkan jumlah glukosamina yang lebih besar dalam waktu produksi yang lebih singkat. Produksi glukosamina hidroklorida melalui ekstraksi ultrasonikasi dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu luas permukaan, konsentrasi asam, suhu, gelombang suara, dan waktu reaksi. Kombinasi optimal dari faktor-faktor tersebut dapat meningkatkan efisiensi proses produksi dan hasil yang diperoleh (Sekarsari *et al.*, 2019).

pH

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa variasi konsentrasi HCl tidak memberikan perbedaan signifikan ($p>0,05$) terhadap pH glukosamina-HCl yang dihasilkan. Kisaran pH glukosamina yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah 3,59-3,64 yang mengindikasikan sifat asam pada produk. Nilai pH ini sesuai dengan standar glukosamina-HCl berdasarkan standar USP (2006), yaitu 3,5-5,0. pH glukosamina yang asam (3,0-5,0) disebabkan oleh ekstraksi ion H^+ yang berlebih selama proses hidrolisis kimia menggunakan HCl pekat. Peningkatan konsentrasi ion H^+ ini sejalan dengan Al-Arfaj & El-Tohamy (2012) yang melaporkan bahwa pH sekitar 3 dapat terjadi akibat peningkatan analit keasaman yang disebabkan oleh ekstraksi ion H^+ melalui membran.

Kristalinitas

Hasil analisis XRD pada glukosamina hidroklorida dengan berbagai konsentrasi HCl menunjukkan adanya puncak utama yang dapat teridentifikasi pada 2θ , yaitu 10°; 15°; 20° dan 25°. Pola ini mengindikasikan keberadaan struktur kristal tertentu dalam sampel. Hasil analisis XRD ini dapat dilihat pada *Figure 2*.

Table 2 Characteristics of hydrochloride glucosamine
Tabel 2 Karakteristik glukosamina hidroklorida

Sample treatments (%)	Appearance	Color	Yield (%)	pH	Particle size (nm)
Chitosan	-	-	-	-	866.5
4	Powder	Yellowish white	86.20±8.83 ^a	3.64±0.38 ^a	239.6±39.4 ^a
6	Powder	Yellowish white	78.95±5.15 ^a	3.62±0.30 ^a	155.5±12.6 ^a
8	Powder	Yellowish white	79.5±6.66 ^a	3.59±0.36 ^a	26.0±92.8 ^a

Numbers followed by different superscript letters indicate significant differences ($p<0.05$)

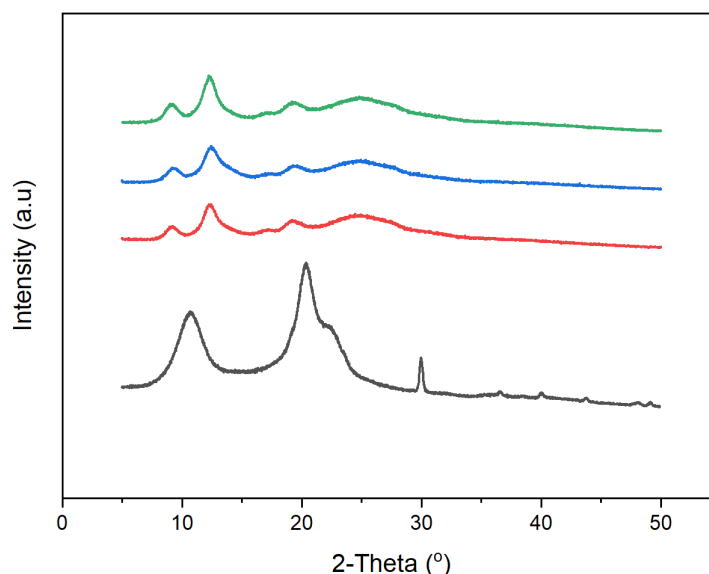


Figure 2 X-Ray Diffraction (XRD) of hydrochloride glucosamine (—) HCl 4%; (—) HCl 6%; (—) HCl 8%; (—) chitosan

Gambar 2 X-Ray Diffraction (XRD) glukosamin hidroklorida (—) HCl 4%; (—) HCl 6%; (—) HCl 8%; (—) kitosan

Perbandingan pola difraksi antara glukosamina hidroklorida dan kitosan karapas udang sebagai bahan baku menunjukkan perubahan signifikan pada struktur kristal setelah proses produksi. Perbedaan intensitas dan posisi puncak pada berbagai konsentrasi HCl mengindikasikan bahwa konsentrasi asam memengaruhi pembentukan dan ukuran kristal glukosamina hidroklorida (Hardoko *et al.*, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa kondisi reaksi, khususnya konsentrasi HCl, memiliki peran penting dalam menentukan sifat fisikokimia produk akhir. Hasil analisis menunjukkan pola difraksi dari glukosamina hidroklorida pada masing-masing konsentrasi HCl. Data ini dapat dijadikan acuan untuk mengoptimalkan proses produksi glukosamina hidroklorida dengan karakteristik kristal yang diinginkan.

Gugus Fungsi

Spektrum FTIR glukosamina hidroklorida digunakan untuk menginduksi keberhasilan proses hidrolisis kitosan dengan perbandingannya terhadap spektrum kitosan. Glukosamina hidroklorida memiliki pita serapan khas pada gugus fungsi OH⁻ dan NH amina. Gugus OH⁻ dari spektrum FTIR pada konsentrasi HCl 4, 6, dan 8% menunjukkan rentang bilangan gelombang 3.315-3.320

cm⁻¹, sedangkan kitosan sebagai pembanding berada pada bilangan gelombang 3.280 cm⁻¹. Hasil ini sejalan dengan penelitian Meata *et al.* (2019) gugus OH memiliki bilangan gelombang 3.430,81-3.434,43 cm⁻¹. Pita serapan NH amina pada penelitian ini berada pada jarak bilangan gelombang 1.620-1.633 cm⁻¹, sedangkan penelitian Meata *et al.* (2019) pada bilangan gelombang 1.626,67-1.631,05 cm⁻¹ dan Islam *et al.*, (2011) pada bilangan gelombang 1.616,12 cm⁻¹. Pergeseran dan perubahan intensitas puncak pada spektrum glukosamina hidroklorida dengan variasi konsentrasi HCl menunjukkan adanya perubahan lingkungan kimia pada molekul. Hal ini dapat disebabkan oleh pembentukan ikatan hidrogen yang berbeda atau perubahan konformasi molekul, serta variasi dalam serapan gelombang setiap gugus fungsi. Serapan gelombang yang bervariasi ini sesuai karakteristik dengan gugus fungsi pada bilangan gelombang inframerah menurut (Brugnerotto *et al.*, 2001). Hasil analisis FTIR ini dapat dilihat pada *Figure 3*.

Ukuran Partikel

Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan asam klorida (HCl) dengan berbagai konsentrasi efektif dalam mengecilkan ukuran partikel glukosamina. Perlakuan dengan

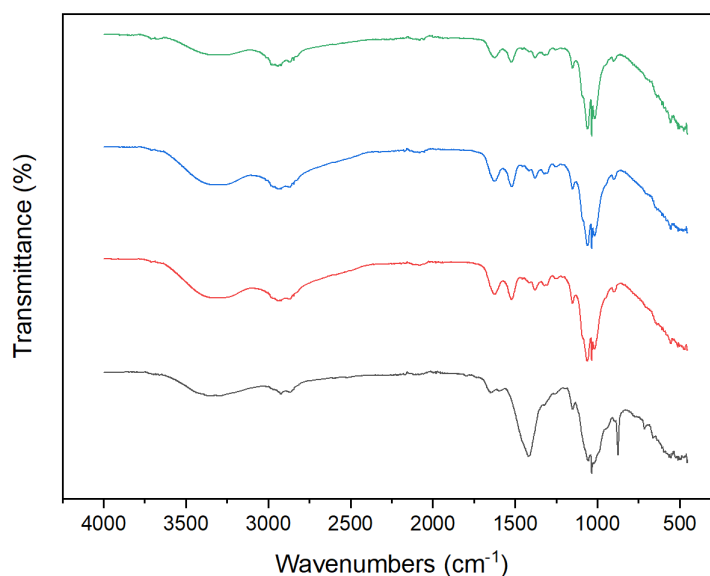


Figure 3 Functional group spectrum of hydrochloride glucosamine (—) HCl 4%; (—) HCl 6%; (—) HCl 8%; (—) chitosan

Gambar 3 Spektrum gugus fungsi glukosamin hidroklorida (—) HCl 4%; (—) HCl 6%; (—) HCl 8%; (—) kitosan

HCl 8% menghasilkan ukuran partikel terkecil sebesar (26,0 nm), jauh lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan HCl 4% (239,6 nm) dan HCl 6% (155,5 nm). Ukuran partikel kitosan yang digunakan sebesar 866,5 nm. Hal ini mengindikasikan bahwa metode ultrasonikasi yang dikombinasikan dengan perlakuan asam dapat menghasilkan nanopartikel glukosamina dengan ukuran yang lebih seragam dan terkontrol. Nadia *et al.* (2014) menyatakan bahwa nano kitosan yang diproduksi menggunakan metode gelas ionik memiliki rata-rata ukuran partikel sebesar 228,74 nm. Suptijah *et al.* (2011) melaporkan bahwa metode gelas ionik menghasilkan nano kitosan dengan ukuran partikel rata-rata 400 nm, sedangkan metode ultrasonik menghasilkan ukuran 1.375 nm.

Kitosan dalam bentuk nanopartikel memiliki struktur polimer, sedangkan glukosamina hidroklorida yang berbentuk monomer memiliki ukuran lebih kecil dibandingkan nanopartikel kitosan. Nanopartikel glukosamina perlakuan HCl 8% memiliki ukuran yang memenuhi standar SNI, yaitu berkisar antara 1–100 nm. Ukuran partikel yang sangat kecil ini memungkinkan material untuk dimodifikasi atau direkayasa guna menciptakan sifat dan fungsi baru

yang lebih unggul. Ukuran nanopartikel berperan penting dalam memengaruhi bio-distribusi dan efisiensi konsumsi fitofarmaka pada tingkat sel, terutama melalui daya rekat (adhesi) dan interaksi dengan sel. Nanopartikel glukosamin perlakuan HCl 4% dan 6% memiliki ukuran partikel yang lebih besar dari 8%. Nanopartikel dengan ukuran 250 nm hingga 3 μ m telah terbukti mampu bekerja secara optimal dalam proses fagositosis secara *in vitro* (Salvati *et al.*, 2011). Ukuran ini menunjukkan potensi yang besar dalam aplikasi biomedis untuk meningkatkan efektivitas bahan aktif (Biswas *et al.*, 2014).

Evaluasi Potensi Glukosamina sebagai Sediaan Liposom

Glukosamina yang diperoleh melalui proses hidrolisis kitosan dengan berbagai konsentrasi HCl dievaluasi berdasarkan rendemen yang dihasilkan. Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan dengan HCl 4% menghasilkan rendemen tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Oleh karena itu, glukosamina dari perlakuan ini dipilih untuk formulasi sediaan liposom. Pemilihan rendemen tertinggi didasarkan pada pertimbangan efisiensi ekonomi, karena makin tinggi rendemen yang diperoleh, makin

optimal penggunaan bahan baku dan biaya produksi, sehingga proses ekstraksi menjadi lebih efektif dan ekonomis (Trilaksani *et al.*, 2006). Konsentrasi pelarut yang lebih rendah umumnya lebih disukai dalam proses ekstraksi untuk mengoptimalkan efisiensi, mengurangi biaya, dan meminimalkan dampak lingkungan (Chemat *et al.*, 2012). Hasil evaluasi potensi glukosamina sebagai sediaan liposom, yang mencakup ketampakan dan stabilitasnya, dapat dilihat pada *Figure 4*.

Figure 4 menunjukkan ketampakan visual liposom glukosamina yang diamati setelah disimpan pada suhu dingin 4°C selama tiga interval waktu, yaitu pada 2 jam, 2 hari, dan 4 hari. Setelah 2 jam penyimpanan, larutan tampak sedikit keruh (*slightly cloudy*), yang mengindikasikan kondisi awal yang relatif stabil. Namun, pada hari kedua, kekeruhan larutan meningkat secara signifikan hingga tampak sangat keruh (*very turbid*) dan mulai terbentuk sedikit endapan halus. Kondisi ini tetap berlanjut hingga hari keempat, di mana larutan masih menunjukkan kekeruhan tinggi disertai endapan ringan. Peningkatan kekeruhan ini mengindikasikan terjadinya agregasi partikel liposom. Danaei *et al.* (2018) menyatakan peningkatan kekeruhan pada larutan liposom menunjukkan bahwa partikel mulai bergabung membentuk agregat yang lebih besar, yang dapat memengaruhi stabilitas fisik liposom serta efisiensi

penghantaran bahan aktif. Fenomena ini kemungkinan disebabkan oleh interaksi antar lipid *bilayer* pada suhu rendah, yang menyebabkan penurunan fluiditas membran dan peningkatan kemungkinan terjadinya tumbukan antar partikel (Ghiasi *et al.*, 2021).

Rihhadatulaisy *et al.* (2020) melaporkan aspek yang memengaruhi stabilitas sistem liposom, yaitu komponen liposom dan struktur fisik liposom. Komponen liposom dapat terdegradasi melalui hidrolisis dan oksidasi. Perubahan kimia pada molekul pembentuk lapisan dapat memengaruhi stabilitas fisik, misalnya, jika fosfolipid kehilangan salah satu rantai asilnya (berubah menjadi lisoformnya) sehingga struktur liposom akan terpengaruh. Struktur fisik liposom dapat terpengaruh oleh perubahan dalam lapisan lipid, agregasi, atau fusi. Perubahan dalam struktur liposom selama penyimpanan menjadi aspek penting dalam menentukan efektivitas sistem penghantaran bahan aktif (Cano-Salazar *et al.*, 2011). Stabilitas liposom merupakan faktor kompleks yang dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk komposisi lipid, metode preparasi, dan kondisi penyimpanan (Merugu *et al.*, 2013). Oleh karena itu, evaluasi yang komprehensif terhadap stabilitas liposom memerlukan analisis yang lebih mendalam, seperti pengukuran ukuran partikel, distribusi ukuran, zeta potensial, dan morfologi menggunakan teknik mikroskopi.

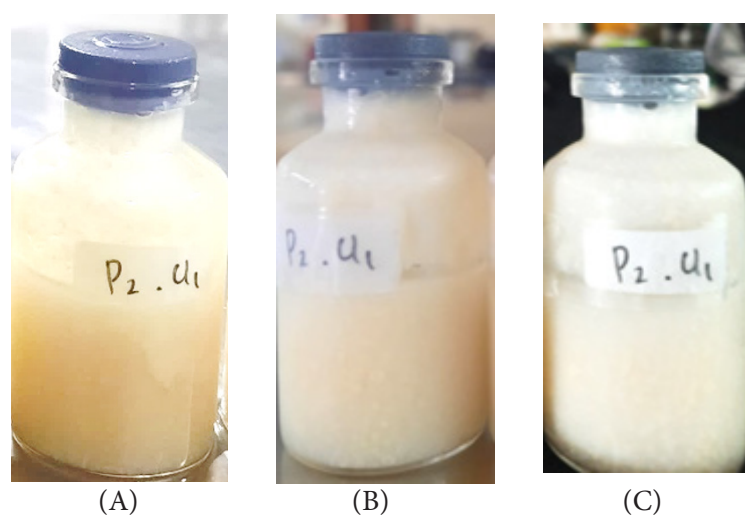


Figure 4 Physical stability of glucosamine liposomes; 2 hours (A), 2 days (B), 4 days (C) at 4°C
Gambar 4 Ketampakan stabilitas fisik liposom glukosamin; 2 jam (A), 2 hari (B), 4 hari (C) pada suhu 4°C



KESIMPULAN

Perlakuan ekstraksi glukosamina dengan HCl 4% menghasilkan rendemen tertinggi sehingga terpilih untuk formulasi sediaan liposom. Stabilitas ketampakan fisik liposom GlcN-HCl dipengaruhi oleh suhu dan waktu penyimpanan, yang ditandai dengan peningkatan kekeruhan selama masa penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Arfaj, N. A., & El-Tohamy, M. F. (2012). Carbon paste and modified carbon nanotubes naste sensors for determination of reducing-osteoarthritis drug glucosamine sulphate in bulk powder and in its pharmaceutical formulations. *International Journal Electrochemical Science*, 7, 11023-11034.
- Anwekar, H., Patel, S., & Singhai, A. K. (2011). Liposome as drug carriers. *Internasional Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 2(7), 945-951.
- Association of Official Analytical Chemists. (2005). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.
- Biswas, A. K., Islam, M. R., Choudhury, Z. S., Mostafa, A., & Kadir, M. F. (2014). Nanotechnology based approaches in cancer therapeutics. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 5(4), 1-11. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/5/4/043001>
- Brugnerotto, J., Lizardib, J., Goycoolea, F. M., & Arguëlles-Monalc, W. D. Á. J. M. R. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Journal of Polymer Science*, 71(42), 3569-3580. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00713-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00713-8)
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (1992). SNI 2891.1:1992, Cara Uji Makanan dan Minuman.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2004). SNI 06-6989.11-2004. Cara Uji Derajat Keasaman pH dengan menggunakan Alat pH Meter.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2013). SNI 7949:2013. Kitosan: syarat mutu dan pengolahan.
- Cahyono, E., Suptijah, P., & Wientarsih, I. (2014). Development of a pressurized hydrolysis method for producing glucosamine. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 2, 390-396.
- Cano-Salazar, L. F., Juárez-Ordáz, A. J., Gregorio-Jáuregui, K. M., Martínez-Hernández, J. L., Rodríguez-Martínez, J., & Ilyina, A. (2011). Thermodynamics of chitinase partitioning in soy lecithin liposomes and their storage stability. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 165(7-8), 1611-1627. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9381-1>
- Chang, M. C., Chiang, P. F., Kuo, Y. J., Peng, C. L., Chen, K. Y., & Chiang, Y. C. (2021). Hyaluronan-loaded liposomal dexamethasone- diclofenac nanoparticles for local osteoarthritis treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 1-19. <https://doi.org/10.3390/ijms22020665>
- Chemat, F., Rombaut, N. S. A., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A., & Albert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *Ultrasonics Sonochemistry*. 34(1), 540-560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7), 8615-8627. <https://doi.org/10.3390/ijms13078615>
- Danaei, M., Kalantari, M., Raji, M., Samareh, F. H., Saber, R., Asnani, G. P., Mortazavi, S. M., Mozafari, M. R., Rasti, B., & Taheriazam, A. (2018). Probing nanoliposomes using single particle analytical techniques: effect of excipients, solvents, phase transition and zeta potential. *Heliyon*. 4(12), 2405-8440. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e01088>
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2010). Scientific opinion on the safety of 'chitin-glucan' as a novel food ingredient. *EFSA Journal*, 8(7), 1687. <https://doi.org/10.2903/j>

- efsa.2010.1687
- Fan, R., Zhang, W., Wang, Y., Chen, D., & Zhang, Y. (2021). Metal material resistant to hydrochloric acid corrosion. *Journal of Physics: Conference Series*, 1732(1), 1-8. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1732/1/012134>
- Ghiasi, F., Eskandari, M. H., Golmakani, M. T., Rubio, R. G., & Ortega, F. (2021). Build-Up of a 3D organogel network within the bilayer shell of nanoliposomes. a novel delivery system for vitamin d3: preparation, characterization, and physicochemical stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(8), 2585–2594. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06680>
- GRAS Associate L. (2012). GRAS Notice (GRN) No. 443. GRAS Assessment ChitoClear® Shrimp-Derived Chitosan Food Usage Conditions for General Recognition of Safety for Primex, ehf Siglufjörður. ICELAND.
- Hadi, P., Bahri, S., & Rasulu, H. (2023). Karakterisasi kitosan cangkang landak laut jenis *Tripneustes gratilla* dengan deasetilasi konsentrasi naoh yang berbeda. *Jurnal Pertanian Khairun*, 2, 170–174. <https://doi.org/10.33387/jpk.v2i2.7425>
- Hardoko., Soegiharto, W., & Eveline. (2018). Pembuatan glukosamina dari kulit udang windu (*Penaeus monodon*) melalui hidrolisis dengan HCl teknis dan pemanasan. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan*, (5), Universitas Hasanuddin.
- Hawker, G. A., & King, L. K. (2022). The burden of osteoarthritis in older adults. *Clinics in Geriatric Medicine*, 38(2), 181–192. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2021.11.005>
- Islam, M., Masum, S., Rahman, M., & Shaikh, A. (2011). Preparation of glucosamine hydrochloride from indigenous shrimp processing waste. *Bangladesh journal of scientific and industrial research*, 46(3), 375–378. <https://doi.org/10.3329/bjsir.v46i3.9046>
- Ismail, R., & Csóka, I. (2017). Novel strategies in the oral delivery of antidiabetic peptide drugs – Insulin, GLP 1 and its analogs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 115, 257–267. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.03.015>
- Istifada, D. S., Swastawati, F., & Wijayanti, I. (2023). The addition of anchovy (*Stolephorus insularis*) powder to chemical and texture characteristics of pizza base. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 26(2), 229–240. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v26i2.44748>
- Kudan, S., Eksittikul, T., Pichyangkura, R., & Park, R. D. (2010). Preparation of N-acetyl-d-glucosamine and N,N'-diacetylchitobiose by enzymatic hydrolysis of chitin with crude chitinases. *Jorunal of Biotechnology*, 150, 89. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.08.229>
- Latrodbiba, Z. M., Fulyani, F., & Anjani, G. (2023). Liposome optimisation for oral delivery of nutraceuticals in food: a review. *Food Research International*, 7(3), 233–246. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(3\).022](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(3).022)
- Lestari, A. (2009). Apatit-Kitosan Dengan Metode In-Situ Dan Ex-Situ. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Li, Z., Paulson, A. T., & Gill, T. A. (2015). Encapsulation of bioactive salmon protein hydrolysates with chitosan-coated liposomes. *Journal of Functional Foods*, 19, 733–743. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.058>
- McClements, D. J. (2018). Encapsulation, protection, and delivery of bioactive proteins and peptides using nanoparticle and microparticle systems: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 253, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.02.002>
- Meata, B. A., Uju., & Trilaksani, W. (2019). Karakteristik glukosamin hidroklorida hasil hidrolisis kitosan menggunakan asam dan ultrasonikasi. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 14(2), 151–162. <http://dx.doi.org/10.15578/jpbkp.v14i2.548>
- Meata, B. A., Ginanjar, P., Aditia, R. P., Hasanah, A. N., Surilayani, D., Munandar, A., Haryati, S., Uju., & Trilaksani, W. (2021).



- Karakterisasi nano partikel glukosamina dari kitosan dengan menggunakan ultrasonikator dan metode *ball milling*. *Jurnal Perikan. dan Kelautan*, 11(2), 182–190. <https://doi.org/10.33512/jpk.v11i2.12886>
- Merugu, R., Reddy, M, V, B., & Lala, R, G. (2013). Evaluation of in vitro stability studies on nutraceuticals in oral solid dosage forms with special reference to glucosamine. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(8), 265–268. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.04854>
- Mohanasrinivasan, V., Mishra, M., Paliwal, J, S., Singh, E., & Selvarajan, V, S, C. (2013). Study on heavy metal removal efficiency and antibacterial activity of chitosan prepared from shrimp shell waste. *Journal of Biotechnology*, 4(2), 167–175. <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0140-6>
- Nadia, L, M, H., Suptijah, P., & Ibrahim, B. (2014). Produksi dan karakterisasi nano kitosan dari cangkang udang windu dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(2), 119–126. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v17i2.8700>
- Nguyen, C. N., Luo, L., Neelakantan, L., Zhao, Q., & Tavana, H. (2022). Role of particle size, concentration, and flow rate on nanoparticle aggregation in a microchannel. *Scientific Reports*, 12(1), 16825. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21144-y>
- Ohnishi, N., Tanaka, S., Tahara, K., & Takeuchi, H. (2015). Characterization of insulin-loaded liposome using column-switching HPLC. *International Journal of Pharmaceutics*, 479(2), 302–305. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.056>
- Ong, S. G. M., Ming, L. C., Lee, K. S., & Yuen, K, H. (2016). Influence of the encapsulation efficiency and size of liposome on the oral bioavailability of griseofulvin loaded liposomes. *Pharmaceutics*, 8(25), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics8030025>
- Ramadhan, W., Tiftazani, M, H., Suseno, S, H., Irawan, A, S., Astriyani, A., Mahardika, V., Armi, F, S., Silaban, R., Ghaisani, A, D., Firdaus, Z, *et al.* (2025). Effectiveness of low-deacetylation-degree chitosan as an edible coating for apples, tofu, and tilapia fillets. *Bio Web of Conferences*, 147, 1–12. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202414701030>
- Rasheed, M, S., Ansari, S, F., & Shahzadi, I. (2022). Formulation, characterization of glucosamine loaded transfersomes and in vivo evaluation using papain induced arthritis model. *International Journal of Scientific Reports*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23103-1>
- Rihhadatulaisy, S., Sriwidodo, S., & Putriana, N, A. (2020). Stabilisasi liposom dalam sistem penghantaran obat. *Majalah Farmasetika*, 5(5), 257. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v5i5.27456>
- Salvati, A., Åberg, C., Dos-Santos, T., Varela, J., Pinto, P., Lynch, I., & Dawson, K, A. (2011). Experimental and theoretical comparison of intracellular import of polymeric nanoparticles and small molecules: Toward models of uptake kinetics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 7(6), 818–826. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.03.005>
- Saragih., Setyowati B, W, M., Nanik., & Nurjanah, P, U. (2019). Optimasi lahan pada sistem tumpang sari jagung manis. *Jurnal Agroqua*, 17(2), 115–125. <https://doi.org/10.32663/ja.v>
- Savitri, E., Juliastuti, S, R., Handaratri, A., Sumarno., & Achmad, R. (2014). Degradation of chitosan by sonication in very-low-concentration acetic acid. *Journal Polymer Degradation and Stability*, 43, 1109–13. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2014.09.010>
- Sekarsari, S., Widarta, I, W, R., & Jambe, A, A, G, N, A. (2019). Pengaruh Suhu dan waktu ekstraksi dengan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(3), 267. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i03.p05>
- Soeroso, J., Juwono, I., Isbagio, H., Kalim, H., Broto, R., Rawan, & Pramudyo, R.

- (2014). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam (Edisi ke-6). Internal Publishing.
- Suptijah, P., Jacob, M, A., & Rachmania, D. (2011). Karakterisasi nano kitosan cangkang udang vanamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(2), 78–84. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v14i2.5315>
- Tan, C, P., & Nakajima, M. (2004). Effect of polyglycerol esters of fatty acids on physicochemical properties and stability of beta-carotene nanodispersion prepared by emulsification/evaporation method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 121–126. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1947>
- Trilaksani, W., Salamah, E., & Nabil, M. (2006). Pemanfaatan limbah tulang tuna (*Thunnus* sp.) sebagai sumber kalsium dengan metode hidrolisis protein. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 9(2), 34–45. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v9i2.983>
- United States Pharmacopeia [USP]. (2006). United States Pharmacopeia (29th ed.) and National Formulary (23rd ed.). Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention.
- Volza Grow Global. (2023). Indonesia's glucosamine import analysis: Major suppliers and trends. <https://www.volza.com>
- Walke, S., Srivastava, G., Nikalje, M., & Doshi, J, K, R. (2015). Fabrication of chitosan microspheres using vanillin/TPP dual crosslinkers for protein antigens encapsulation. *Journal Carbohydrate Polymers*, 128, 188–98. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.020>
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C, S, Z, M., Duan, Y., & Ma, H, L, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops –A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48(10), 538–549. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.07.018>
- World Health Organization. (2021). Global report on ageing and health. Geneva: WHO Press.
- Xue, M., Wang, J., & Huang, M. (2022). Inulin-modified liposomes as a novel delivery system for cinnamaldehyde. *Foods*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/foods11101467>