
KARAKTERISASI NANO PARTIKEL GLUKOSAMIN DARI KITOSAN DENGAN MENGGUNAKAN ULTRASONIKATOR DAN METODE *BALL MILLING*

*(Characterization of Glucosamine Nano Particles from Chitosan Using
Ultrasonicators and Ball Milling Methods)*

**Bhatara Ayi Meata¹, Ginanjar Pratama¹, Rifki Prayoga Aditia¹, Afifah
Nurazizatul Hasanah¹, Dini Surilayani¹, Aris Munandar¹, Sakinah Haryati¹, Uju²,
Wini Trilaksani²**

¹Program Studi Ilmu Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa
Jl. Tirtayasa, Sindangsari, Kecamatan Pabuaran, Serang, Banten 42163

²Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut
Pertanian Bogor

Jl. Jalan Agatis, Kampus IPB Dramaga Bogor, Kecamatan Dramaga, Kabupaten Bogor,
Jawa Barat 16680

Corresponding author, e-mail: bhatara354@untirta.ac.id

Diterima : 4 November 2021 / Disetujui : 17 November 2021

ABSTRAK

Konsumsi oral glukosamin hidroklorida dapat memperburuk efek samping pada tubuh manusia, sehingga perkembangan nanopartikel dari glukosamin hidroklorida diperlukan sebagai sediaan topikal dalam mengatasi penyakit osteoarthritis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan karakteristik nanopartikel dari glukosamin cangkang udang yang dibuat secara ultrasonik dan *ball milling*. Untuk produksi glukosamin dari cangkang udang digunakan metode hidrolisis asam menggunakan larutan HCL 37%, kemudian dicuci dengan larutan IPA sampai terbentuk bubuk glukosamin, kemudian dilakukan uji rendemen dan FTIR. Pembuatan nanopartikel glukosamin dengan metode ultrasonik yaitu glukosamin dengan campuran HCl 37% yang disonikasi dengan alat ultrasonikator, dan metode lainnya menggunakan ball mill untuk menggiling glukosamin secara fisi untuk mendapatkan serbuk glukosamin nanopartikel. Serbuk yang diperoleh dari kedua metode tersebut kemudian dikarakterisasi menggunakan scanning electron microscope (SEM) untuk mengetahui kondisi morfologi padatan. Hasil uji glukosamin diperoleh rendemen 83,65%, dan pola absorpsi spektrum *Fourier transform infrared* (FTIR) menunjukkan 99,82% sehingga memenuhi baku mutu yang membuktikan hidrolisis glukosamin berhasil. Karakterisasi serbuk yang diperoleh dengan SEM bertujuan untuk mengetahui karakteristik ukuran nanopartikel glukosamin yang diperoleh. Bubuk partikel nano yang dihasilkan berwarna kuning-putih. Hasil foto SEM menunjukkan morfologi partikel dengan permukaan yang tidak rata. Hasil pengujian *Scanning Electron Microscope* (SEM) menunjukkan ukuran partikel glukosamin dengan metode ultrasonik dan *ball milling* masing-masing adalah 83,56 nm dan 61,16 nm.

Kata Kunci : *ball milling*, kitosan, nano partikel glukosamin, ultrasonikasi, SEM

ABSTRACT

Oral consumption of glucosamine hydrochloride can worsen side effects in the human body, so the development of nanoparticles from glucosamine hydrochloride is needed as a topical preparation in treating osteoarthritis. This study aims to determine the differences in the characteristics of nanoparticles from shrimp shell glucosamine made ultrasonic and ball milling. For the production of glucosamine from shrimp shells, the acid hydrolysis method was used using 37% HCL solution, then washed with IPA solution until glucosamine powder was formed, then the yield and FTIR tests were carried out. Preparation of glucosamine nanoparticles using the ultrasonic method, namely glucosamine with a 37% HCl mixture sonicated using an ultrasonicator, and another method using a ball mill to fission glucosamine to obtain powdered glucosamine nanoparticles. The powder obtained from the two methods was then characterized using a scanning electron microscope (SEM) to determine the morphological condition of the solid. The results of the glucosamine test obtained a yield of 83.65%, and the absorption pattern of the Fourier transform infrared (FTIR) spectrum showed 99.82% so that it met the quality standards proving that glucosamine hydrolysis was successful. The powder characterization obtained by SEM aims to determine the size characteristics of the glucosamine nanoparticles obtained. The resulting powder nanoparticles are yellow-white. The SEM photo results show the morphology of the particles with an uneven surface. The results of the Scanning Electron Microscope (SEM) test showed that the particle size of glucosamine by ultrasonic and ball milling methods were 83.56 nm and 61.16 nm, respectively.

Keywords: ball milling, chitosan, glucosamine nano particles, ultrasonication, SEM

PENDAHULUAN

Penggunaan kitosan telah banyak digunakan di berbagai bidang misalnya sebagai bahan pengawet pada produk perikanan (Tayel, 2016), agen antibakteri (Mahae et al., 2011), dan sebagai antiperadangan (Oliveira et al. 1995). Salah satu kegunaan kitosan dari kulit udang untuk menghasilkan produk yang bernilai ekonomis tinggi adalah produksi glukosamin.

Glukosamin merupakan salah satu turunan dari kitosan yang termasuk dalam gula amino dan terdapat dalam tubuh manusia. Senyawa ini sangat penting dibutuhkan sebagai prekursor dalam biosintesis protein glikosilat dan lipid di dalam tubuh. Hasil biosintesis ini memproduksi cairan sinovial yang dapat digunakan sebagai pelumas pada tulang rawan (Huskisson 2008).

Glukosamin merupakan turunan dari kitosan yang dikategorikan dalam gula amino dan berada di dalam tubuh manusia. Sebagai prekursor glikosilasi dan biosintesis protein lipid secara in vivo, senyawa ini sangat penting. Hasil biosintesis ini menghasilkan cairan sinovial yang dapat digunakan sebagai pelumas tulang rawan (Huskisson 2008).

Kemampuan untuk mensintesis glukosamin pada tubuh akan mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya umur. Perubahan ini dipengaruhi oleh penurunan kemampuan proteoglikan dalam memproduksi glukosamin sehingga akan menyebabkan terjadinya penyakit osteoarthritis (Santhosh dan Mathew 2008). Permintaan glukosamin terus meningkat diiringi dengan semakin besarnya jumlah penderita osteoarthritis.

Prevalensi osteoarthritis di Indonesia dilaporkan mencapai 5% pada usia kurang dari 40 tahun, 30% pada usia 40-60 tahun, dan 65% pada usia lebih dari 61 tahun (Pratiwi *et al.* 2015). Menurut GVR (2016) kebutuhan glukosamin di dunia pada tahun 2015 mencapai 290 873.3 ton sehingga kedepannya produksi glukosamin akan semakin meningkat bersamaan dengan jumlah penderita osteoarthritis di dunia yang semakin besar, sementara produksi glukosamin di Indonesia masih belum ada dan diimpor dari negara lain dengan harga yang tinggi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Penelitian ini menggunakan kitosan cangkang udang (*Penaeus monodon*) komersial dari Monodon Group, Bogor, Indonesia, sebagai bahan utama. Bahan lain yang digunakan adalah asam klorida (HCl) teknis 37%, isopropil alkohol (IPA) teknis, dan bahan kimia lainnya untuk analisis.

Metode

Tahapan penelitian ini yaitu 1) Pembuatan glukosamin dari kitosan cangkang udang; 2) Ultrasonikasi dan hidrolisis kitosan cangkang udang; 3) Karakterisasi kitosan cangkang udang.

Hidrolisis kitosan cangkang udang

Hidrolisis kitosan dilakukan menggunakan larutan HCl 37% (perbandingan kitosan dan larutan HCl 1:9 (b/v), suhu 60 °C selama 90 menit. Larutan glukosamin dipresipitasi dengan isopropil alkohol (IPA) hingga endapan terbentuk. Setelah itu larutan dipisahkan dari endapan dan dilakukan pencucian menggunakan larutan IPA. Proses pencucian ini dilakukan berulang kali sampai tercapai pH 3-5. Selanjutnya glukosamin dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C selama 24 jam, kemudian dihitung rendemennya dan di uji FTIR untuk melihat derajat deasetilasi kitosan.

Pembuatan nano partikel glukosamin (Modifikasi Ajavakom, Supsvetson, Somboot, & Sukwattanasinitt, 2012)

Proses ini menggunakan dua metode yaitu sonikasi menggunakan ultrasonikator dan metode ball milling. Glukosamin sebanyak 10 g dan larutan HCl 37% (perbandingan glukosamin dan larutan HCl 1:9 (b/v), suhu 60 °C (20 kHz) dimasukkan ke dalam ultrasonikator selama 30 menit sedangkan glukosamin dengan metode *ball milling* dimasukkan ke dalam alat *ball milling* dengan kecepatan 900 rpm selama 1 jam.

Karakterisasi Nano Glukosamin

Karakterisasi nanopartikel yang dihasilkan dari kedua metode dianalisis ukuran partikelnya menggunakan alat SEM (*Scanning Electron Microscopy*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nano partikel adalah kumpulan atom-atom berbentuk partikel padat yang berikatan satu sama lain dengan diameter struktur kurang dari 100 nm (Poole dan Owens 2003). Berdasarkan teori kinetik molekul menyatakan bahwa molekul dapat bertumbukan satu dengan lainnya dengan diberikan energi mekanik secara terus-menerus sehingga ukuran partikel molekul akan tereduksi hingga ukuran nano (Castro dan Mitchell 2002). Nano partikel glukosamin pada penelitian ini dibuat dengan menggunakan alat *ball*

milling dengan ukuran diameter bola rerata berukuran sekitar 10-100 nm dan kapasitas sesuai skala laboratorium yaitu 5 kg.

Nano glukosamin dapat dibedakan secara visual dengan menggunakan SEM. Prinsip kerja SEM adalah sifat gelombang dari elektron berupa difraksi pada sudut yang sangat kecil (Masotti *et al.* 2007). Glukosamin sebelum digiling dengan *ball milling* telah disonikasi pada tahap sebelumnya sehingga ukuran partikel yang terbentuk sudah dalam ukuran nano. Ukuran partikel glukosamin sebelum digiling yaitu 67.03-105 nm, sedangkan setelah digiling ukuran glukosamin menjadi 53.78-71.69 nm. Menurut Li *et al.* (2008) perlakuan ultrasonikasi pada senyawa dapat memecahkan partikel-partikelnya hingga ukuran yang sangat kecil atau berukuran nano. Perlakuan ultrasonikasi saat pembuatan glukosamin sudah dapat membentuk ukuran nano partikel pada glukosamin akhir. Namun pada hasil SEM keduanya menunjukkan penggumpalan sehingga bentuk nano glukosamin masih saling menempel. Hal ini dikarenakan tidak adanya tambahan bahan penyalut lain seperti Tween 80, ketoprofen, dan lainnya untuk menghindari terjadinya aglomerasi atau penggumpalan nano glukosamin. Aglomerasi juga dapat terjadi pada nano glukosamin akibat jangka waktu penyimpanan yang cukup lama dan penyimpanan yang kurang baik sebelum dilakukan analisis ukuran partikel.

Metode pembuatan glukosamin dengan ultrasonikasi juga telah mengecilkan ukuran partikel glukosamin sehingga pembentukan nano partikel glukosamin menggunakan ultrasonikasi dan diberikan bahan penyalut akan meningkatkan kualitas dari pembuatan nano partikel glukosamin. Nano partikel glukosamin ini dapat diaplikasikan dalam bentuk emulsi untuk membentuk nanoemulsi glukosamin sehingga dapat diterapkan pada berbagai bentuk sediaan topikal. Ukuran partikel suatu material dapat dibuat menjadi nanoemulsi untuk sediaan topikal yaitu pada rentang 20-600 nm sehingga memungkinkan penghantaran bahan aktif yang efektif untuk kulit (Gupta *et al.* 2010). Menurut Nadia *et al.* (2014) nano kitosan yang dibuat menggunakan metode gelasi ionik memiliki rerata ukuran partikel yang terbentuk yaitu 228,74 nm sedangkan pada penelitian Suptijah *et al.* (2011) nano kitosan yang dibuat menggunakan metode gelasi ionik dan ultrasonik memiliki rerata ukuran partikel yaitu 400 nm dan 1375 nm secara berturut-turut. Kitosan yang dibuat dalam bentuk nano partikel memiliki bentuk polimer sehingga glukosamin hidroklorida yang memiliki bentuk monomer-monomer akan berukuran lebih kecil dibandingkan dengan kitosan.

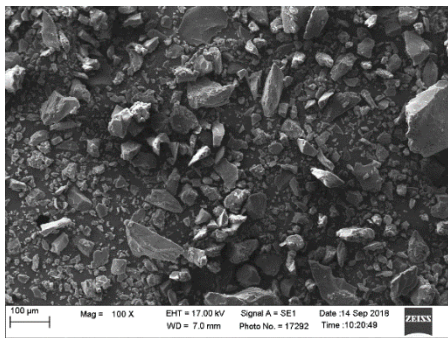


Gambar 1. Glukosamin Hidroklorida

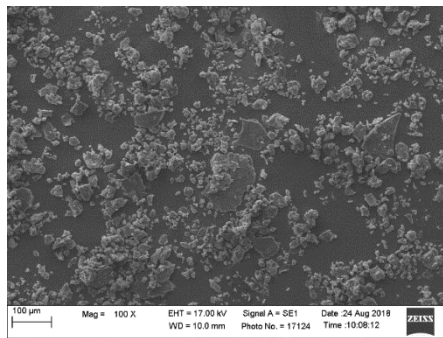
Perlakuan dengan *magnetic stirrer* dihasilkan ukuran partikel terkecil dan lebih stabil yaitu sebesar 400 nm (H1) dan 450 nm (H2). Perlakuan ultrasonik dan *homogenizer* dihasilkan ukuran partikel yang lebih besar dan tidak stabil, yaitu dengan perlakuan

ultrasonik didapatkan ukuran partikel sebesar 1222 nm (H1) dan 1600 nm (H2). Perlakuan *homogenizer* menghasilkan ukuran partikel sebesar 1375 nm (H1) dan 2000 nm (H2). Penelitian BPPT (2010) menunjukkan partikel terkecil dan stabil didapatkan dengan perlakuan *magnetic stirrer* sebesar 25,9 nm (H1) dan 28 nm (H2). Partikel yang lebih besar serta tidak stabil diperoleh dengan perlakuan ultrasonik dan *homogenizer* sebesar 1,2 nm (H1) dan 25 nm (H2) (Gambar 3) Hasil karakterisasi SEM kitosan nanopartikel yang dibuat dengan berbagai metode yaitu *magnetic stirrer*, ultrasonik, dan *homogenizer* menunjukkan partikel yang berupa bulatan menyerupai bola dan berkerut. Nano partikel yang dihasilkan melalui perlakuan *magnetic stirrer* rata-rata berukuran sekitar 400-450 nm. Nanopartikel adalah butiran atau partikel padat dengan kisaran ukuran 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen, 2006). Teori kinetik molekul gas menyatakan bahwa molekul gas sering bertumbukan satu dengan lainnya dan molekul-molekul yang bereaksi. Laju reaksi akan berbanding lurus dengan banyaknya tumbukan molekul per detik, atau berbanding lurus dengan frekuensi tumbukan molekul. Semakin cepat putaran, memperbesar intensitas molekul pelarut untuk bersentuhan dengan kitosan, sehingga semakin besarnya intensitas kecepatan putaran pada *magnetic stirrer* partikel yang dihasilkan semakin kecil (Chang, 2005). Penambahan jumlah tripolifosfat akan menurunkan jumlah nanopartikel kitosan (Shu dan Zhu, 2002). Penambahan surfaktan berfungsi untuk menstabilkan emulsi partikel dalam larutan dengan cara mencegah timbulnya penggumpalan (aglomerasi) antarpartikel (Keuteur, 1996). Partikel-partikel kitosan di dalam larutan terselimuti dan terstabilkan satu dengan yang lain dengan adanya surfaktan, sehingga proses pemecahan partikel akan semakin efektif. Partikel yang telah terpecah akan kembali terstabilkan dalam emulsi larutannya, sehingga mencegah terjadinya aglomerasi (Xu dan Du, 2003). Nano partikel glukosamin yang dihasilkan memberikan bentuk yang halus dan tidak menggumpal, namun perlu dilakukan pengecekan terhadap struktur nano emulsi dengan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*).

- Hasil SEM perbesaran 100x

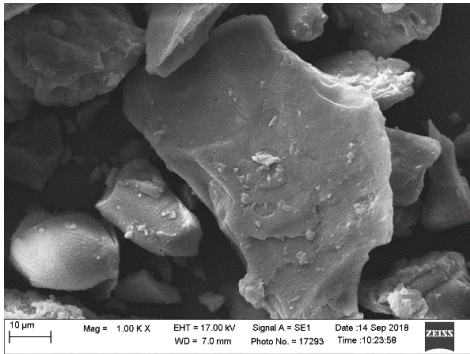


Glukosamin sebelum digiling

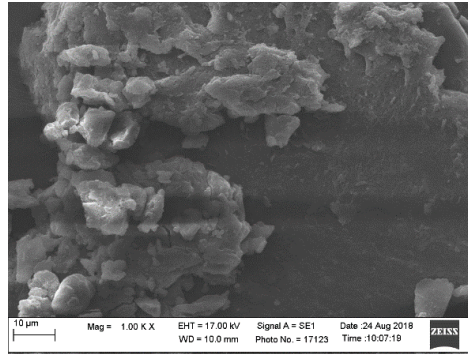


Glukosamin setelah digiling

- Hasil SEM perbesaran 1000x

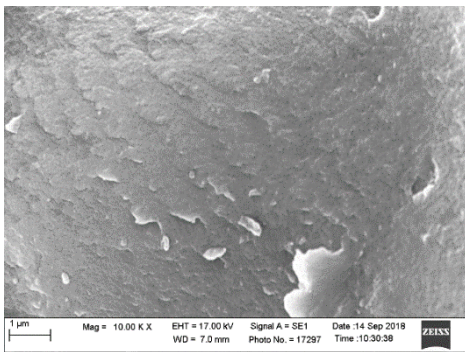


Glukosamin sebelum digiling

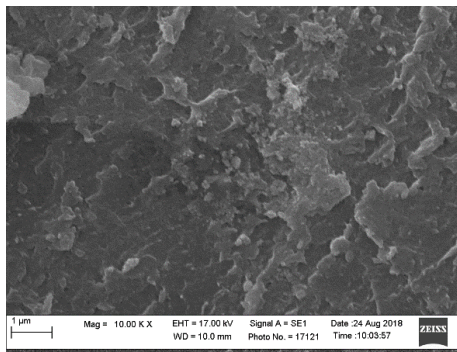


Glukosamin setelah digiling

- Hasil SEM perbesaran 10000x

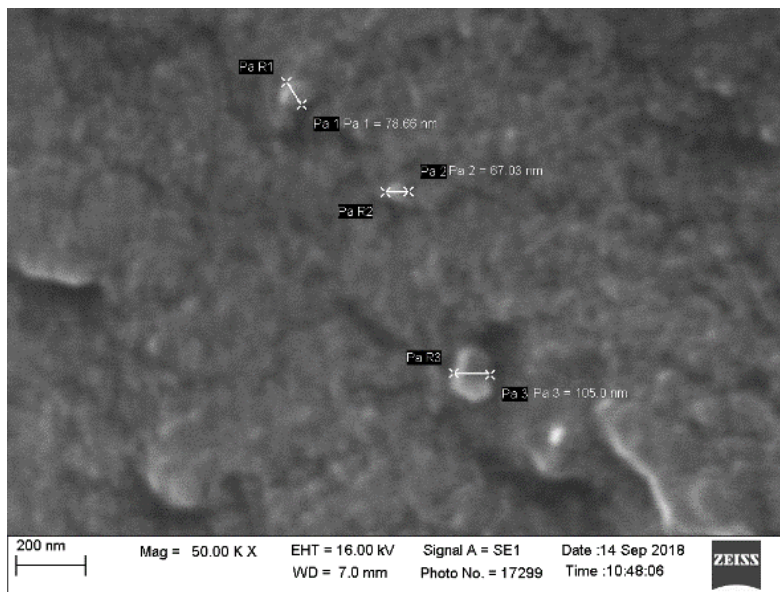


Glukosamin sebelum digiling

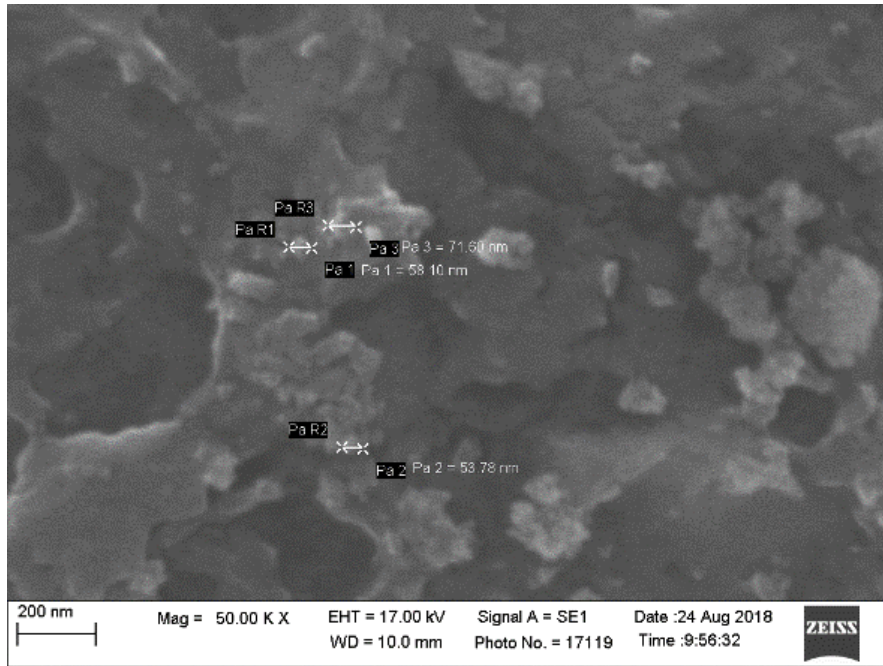


Glukosamin setelah digiling

- Hasil SEM perbesaran 50000x



Glukosamin sebelum digiling



Glukosamin setelah digiling

Nanopartikel glukosamin yang terbentuk memiliki ukuran sesuai dengan standar yang telah ditentukan oleh SNI yaitu 1-100 nm. Ukuran partikel yang sangat kecil tersebut dimanfaatkan untuk mendesain dan menyusun atau memanipulasi material sehingga dihasilkan material dengan sifat dan fungsi baru. Ukuran nanopartikel dapat mempengaruhi bio-distribusi dan efisiensi konsumsi fitofarmaka pada level sel dengan mempengaruhi daya rekat (adhesi) dan interaksi dalam sel. Nanopartikel dengan ukuran 250 nm hingga 3 μm secara invitro mampu bekerja optimal pada fagositosis, namun ukuran nanopartikel <200 nm lebih disukai karena sifat rute input yang akan lebih banyak (Biswas *et al.* 2014).

KESIMPULAN

Pembuatan nanopartikel glukosamin dengan metode ultrasonik yaitu glukosamin dengan campuran HCl 37% yang disonikasi dengan alat ultrasonikator, dan metode lainnya menggunakan ball mill untuk menggiling glukosamin secara fisis untuk mendapatkan serbuk glukosamin nanopartikel. Serbuk yang diperoleh dari kedua metode tersebut kemudian dikarakterisasi menggunakan scanning electron microscope (SEM) untuk mengetahui kondisi morfologi padatan. Hasil uji glukosamin diperoleh rendemen 83,65%, dan pola absorpsi spektrum *Fourier transform infrared* (FTIR) menunjukkan 99,82% sehingga memenuhi baku mutu yang membuktikan hidrolisis glukosamin berhasil.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajavakom A, Supsvetson S, Somboot A, Sukwattanasinitt M. 2012. Products from microwave and ultrasonic wave assisted acid hydrolysis of chitin. *Journal of Carbohydrates Polymers*. 90: 73-77.
- Biswas, A. K., M.R. Islam, Z.S. Choudhury, A. Mostafa, and M.F. Kadir (2014). Nanotechnology based approaches in cancer therapeutics. *Advances in Natural*

- Sciences: Nanoscience and Nanotechnology, 5(4). <https://doi.org/10.1088/2043-6262/5/4/043001>.
- [BPPT]. 2010. Pembuatan Partikel Nano Kitosan dengan Metode Gelasi Ionik Menggunakan Magnetic Stirrer. Tangerang: Balai Pengkaji dan Penerapan Teknologi.
- Castro CL, Mitchell BS. 2002. Synthesis, Functionalization and Surface Treatment of Nanoparticles. California (US): American Scientific Publishers.
- Chang R. 2005. Kimia Dasar: Konsep-Konsep Inti Jilid 2. Jakarta: Erlangga.
- Chang YF, Sitanggang AB, Wu HS. 2011. Optimizing biotechnological production of glucosamine as food ingredient from *Aspergillus* sp. BCRC 31742. *Journal Food and Technology*. 9: 75-82.
- Gupta PK, Gupta S, Pandit JK, Kumar A, Sawaroop P. 2010. Pharmaceutical nanotechnology novel nanoemulsion high energy emulsification preparation, evaluation and application. *Pharma Research*. 10(3): 117-138.
- [GVR] Grand View Research. 2015. Glucosamine Market Analysis by Application and Segment Forecasts to 2022. California (US): Grand View Research.
- Huskisson EC. 2008. Glucosamine and chondroitin for osteoarthritis. *Journal of International Medical Research*. 36: 1161-79.
- Keuteur J. 1996. Nanoparticles and microparticles for drug and vaccine delivery. *Europe Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 189: 19-34.
- Kurniawan R, Kushadiwijayanto AA, Risiko R. 2019. Pengaruh Kelengkapan Data Pasang Surut Laut Terhadap Kualitas Hasil T_Tide. *Jurnal Laut Khatulistiwa*, 2(3): 137-143.
- Li J, Cai J, Fan L. 2008. Effect of sonolysis on kinetics and physicochemical properties of treated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*. 109: 2417-2425.
- Mahae N, Chalal C, Muhamud P. 2011. Antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-sugar complex. *Journal International Food Research*. 18: 1543- 1551.
- Masotti A, Marino F, Ortaggi G, Palocci C. 2007. Fluorescence and scanning electron microscopy of chitosan/DNA nanoparticles for biological applications. *Journal Nanomedicine*. 1(4):507-522.
- Mohanraj V.J., and Chen Y. 2006. Nanoparticles : A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5 :1.
- Nadia LMH, 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.
- Oliveira SA, Felson DT, Reed JI, Cirillo PA, Walker AM. 1995. Incidence of symptomatic hand, hip and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organisation. *Journal Arthritis Rheumatology*. 38: 1134-1141.
- Poole CP, Owens FJ. 2003. Introduction to Nanotechnology. New Jersey (US): John Wiley and Sons.
- Pratiwi RS, Susanto TE, Wardani YAK, Sutrisno A. 2015. Enzim kitinase dan aplikasi di bidang industri: kajian pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri FTP UB*. 3: 878-887.
- Shantosh S, Mathew PT. 2008. Preparation of glucosamine and carboxymethylchitin from shrimp shell. *Journal of Applied Polymer Science* 107: 280-285.
- Shu, X.Z., Zhu, K.J. 2002. Controlled drug release properties of ionically crosslinked chitosan beads: the influence of anion structure. *International Journal of Pharmaceutics*. 233(1-2): 217-225.

- Suptijah P, Jacob MA, Rachmania D. 2011. Karakterisasi nano kitosan cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(2): 78-84.
- Tayel A. Microbial chitosan as a biopreservative for fish sausage. 2016. *International Journal of Biological Macromolecules*. 93: 41-46.
- Xu Y, Du Y. 2003. Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 250(4):215-226.