

**FORMULASI MIKROEMULSI GLUKOSAMIN HIDROKLORIDA****FORMULATION OF MICROEMULSION OF GLUCOSAMINE  
HYDROCHLORIDE**

Rima Hayati<sup>1</sup>, Sasanti Tarini Darijanto<sup>2</sup>, Daryono Hadi Tjahjono<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi, Politeknik Kesehatan (Poltekkes) Kemenkes RI Aceh  
Jl. Soekarno-Hatta Kampus Terpadu Poltekkes Aceh, Aceh Besar 23352

<sup>2</sup>Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung  
Gedung Yusuf Panigoro Labtek VII Jl. Ganesa No.10 Bandung 40132  
Email: rima.fa@poltekkesaceh.ac.id (Rima Hayati)

**ABSTRAK**

Glukosamin hidroklorida (glukosamin HCl) merupakan senyawa yang sudah populer sebagai suplemen untuk mengurangi rasa nyeri dan kerusakan sendi pada penderita osteoarthritis. Namun terdapat beberapa faktor yang menjadi tantangan dalam pengembangan sediaan glukosamin, yaitu dosis yang besar untuk diabsorpsi secara perkutan serta masalah stabilitas glukosamin di dalam air yang mudah sekali membentuk *maillard product*. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan mikroemulsi glukosamin HCl untuk penggunaan transdermal sehingga permeabilitas terhadap stratum korneum meningkat dan stabilitas sediaan lebih baik. Dalam penelitian ini glukosamin HCl dikembangkan dalam bentuk mikroemulsi M/A dan diperoleh formula optimum dengan komposisi glukosamin HCl 15%, isopropil miristat 4,2%, Tween 80 22,70%, isopropil alkohol 5,70%, natrium metabisulfit 0,10%, aquadeion 52,30%. Uji karakterisasi menunjukkan mikroemulsi memenuhi persyaratan secara organoleptis, viskositas, serta ukuran globul. Mikroemulsi stabil pada uji sentrifugasi. Sementara uji kadar dengan menggunakan metode KCKT diperoleh hasil 14,9%.

**Kata kunci:** glukosamin hidroklorida, mikroemulsi, transdermal.

**ABSTRACT**

*Glucosamine HCl is a supplement used for treating osteoarthritis. The development of glucosamine is challenging because of the high dose required for subcutan also its absorption and stability. This research was aimed to develop microemulsion of glucosamine HCl transdermal use, in order to improve its permeability across stratum corneum and also its stability. Glucosamine HCl was formulated into O/W microemulsion, and the obtained optimal formula was 15% glucosamine HCl, 4.2%*

*isopropyl myristate, 0.10% sodium metabisulphite, and 52.30% deionized water. The glucosamine HCl microemulsion meets the requirements of organoleptic, viscosity, and globule size. This microemulsion is stable in centrifugation test. Analysis with HPLC showed that the content of glucosamine HCl in microemulsion was 14.9%.*

**Key words:** *glucosamine HCl, microemulsion, transdermal.*

## Pendahuluan

Glukosamin adalah senyawa amino monosakarida yang secara alami disintesis oleh tubuh. Senyawa ini merupakan penyusun glikosaminoglikan di dalam articular kartilago. Glikosaminoglikan adalah komponen dari proteoglikan yang akan membentuk lapisan elastis sebagai pelumasan dan pelindung articular kartilago sehingga memudahkan pergerakan sendi (Altman, 2009). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa glukosamin dapat membantu penyembuhan pada osteoarthritis. Berdasarkan uji secara *in vitro*, glukosamin dapat meningkatkan produksi proteoglikan. Di samping itu penelitian terhadap pasien osteoarthritis pada lutut dengan terapi menggunakan glukosamin selama 3 tahun berturut-turut menunjukkan terjadinya penurunan penyempitan ruang sendi yang mengindikasikan bahwa glukosamin dapat menekan degradasi articular kartilago (Reginster, 2001).

Saat ini telah banyak produk glukosamin yang beredar di pasaran di antaranya adalah sediaan glukosamin oral dalam bentuk tablet dan kapsul. Selain itu juga terdapat sediaan untuk penggunaan transdermal berupa krim,

gel dan *patch*. Umumnya sediaan ini mengandung glukosamin dengan kadar 10%. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk memformulasi glukosamin HCl sebagai sediaan transdermal namun kadar bahan aktif yang digunakan hanya 5% (Han dkk., 2010). Penggunaan glukosamin secara transdermal lebih disukai terutama karena dapat menghindari efek samping glukosamin oral, yaitu *nausea* serta gangguan pada lambung. Namun demikian, beberapa faktor masih merupakan tantangan yang dihadapi dalam pengembangan sistem penghantaran glukosamin secara transdermal, yaitu dosis sediaan yang besar untuk diabsorpsi secara percutan dan sifat hidrofilisitas dari glukosamin yang mengakibatkan permeasinya pada kulit menjadi terbatas. Di samping itu glukosamin sangat mudah sekali menghasilkan *maillard product* yang ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat dengan bau yang khas (Kanwischer dkk., 2005).

Pada penelitian ini dikembangkan sistem penghantaran glukosamin HCl dalam bentuk mikroemulsi, karena terbentuk secara spontan sehingga tidak membutuhkan

energi panas ataupun pengadukan yang cepat untuk menghindari terbentuknya *maillard product*. Di samping itu sediaan mikroemulsi memungkinkan glukosamin yang bersifat hidrofilik dapat terlarut secara optimum dalam fase air. Mikroemulsi glukosamin yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi sesuai dengan parameter mikroemulsi.

### Metode Penelitian

#### Bahan

Glukosamin HCl (PT. Otto Pharmaceutical Industries), *Virgin Coconut Oil/VCO* (SITH ITB), isopropil miristat (Merck), Tween 80, isopropil alkohol, aquadeion (Kimia ITB), trietilamin (Sigma-aldrich), asam asetat glasial, membran filter diameter 0,2 dan 0,45  $\mu\text{m}$ , asetoneitril pro HPLC, metanol pro HPLC, 1-naftil isotiosianat (Sigma-aldrich), kloroform p.a., D-(+)-glukosamin hidroklorida (Sigma-aldrich).

#### Alat

Timbangan analitik, *magnetic stirrer* (Agimatic ED-C), *particle size analyzer* (Beckman Coulter), sentrifuga, pH meter, viscometer (Brookfield Model DV-1+), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi/KCKT (Waters<sup>®</sup>), vortex, alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

#### Jalannya Penelitian

##### 1. Orientasi formula mikroemulsi M/A

Orientasi dilakukan dengan menyusun beberapa formula dengan menggunakan VCO atau isopropil miristat sebagai fase minyak. Tween 80 digunakan sebagai surfaktan dan isopropil alkohol sebagai kosurfaktan. Mikroemulsi terbentuk apabila menghasilkan campuran yang jernih dan tidak mengalami pemisahan fase setelah disimpan selama 24 jam pada suhu 25 °C. Dengan menggunakan formula mikroemulsi yang terbentuk, dilakukan optimasi parameter proses, yaitu kecepatan dan lama pengadukan.

##### 2. Optimasi jumlah surfaktan dan kosurfaktan

Tahap optimasi ini dilakukan bertujuan untuk memperoleh jumlah surfaktan dan kosurfaktan terendah yang masih dapat menghasilkan mikroemulsi yang jernih dan stabil setelah disimpan selama 24 jam pada suhu 25 °C.

##### 3. Formulasi mikroemulsi M/A glukosamin HCl

###### a. Uji organoleptik

Pengujian ini meliputi pengamatan terhadap warna dan kejernihan mikroemulsi.

- b. Uji pengukuran pH dan viskositas sediaan

Pengukuran menggunakan pH meter dan *viscometer Brookfield*.

- c. Penentuan ukuran globul

Uji ini dilakukan untuk mengetahui ukuran globul serta indeks polidispersita dari mikroemulsi. Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analyzer*.

- d. Uji sentrifugasi

Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh gravitasi terhadap kestabilan fisik mikroemulsi. Sebanyak 5 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung sentrifuga kemudian disentrifuga dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam. Setiap interval 1 jam diamati ada tidaknya pemisahan pada sediaan.

- e. Analisis kadar glukosamin HCl dalam mikroemulsi

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan metode (KCKT) (Tjahjono dkk., 2007).

#### 4. Analisis data

Data disajikan dalam bentuk rata-rata±simpangan baku. Pengambilan data dilakukan secara triplo ( $n = 3$ ).

## Hasil dan Pembahasan

### *Orientasi Formula Mikroemulsi M/A*

Orientasi awal adalah dengan merancang formula mikroemulsi A/M dengan tujuan agar glukosamin HCl terlarut dalam air dan terdispersi sebagai globul halus dalam fase minyak, sehingga diharapkan dapat mengurangi interaksi glukosamin dengan molekul air bebas yang dapat memicu *browning*. Pada tahap orientasi ini dilakukan formulasi mikroemulsi dengan menggunakan 2 macam minyak, yaitu isopropil miristat dan VCO. Fasa minyak yang sesuai dengan surfaktan dan kosurfaktan yang digunakan akan dipilih untuk dikembangkan menjadi mikroemulsi M/A. Isopropil miristat memiliki kemampuan sebagai peningkat penetrasi berdasarkan mekanisme mengganggu susunan lipid lamelar pada stratum korneum (Engelbrecht dkk., 2012). Di samping itu, isopropil miristat merupakan minyak yang memiliki viskositas yang cukup rendah (5-6 mPas) yang mendekati viskositas air sehingga proses pencampuran dengan air akan lebih mudah (Rowe dkk., 2009). Sedangkan VCO mengandung asam laurat yang cukup tinggi. Asam laurat merupakan asam lemak jenuh yang terdiri dari 12 atom karbon (Lehninger,

1995). Bobot jenis VCO adalah 0,918–0,923 g/cm<sup>3</sup>. Dengan struktur molekul yang memiliki rantai karbon sedang dan bobot jenis yang cukup besar maka VCO akan mudah memfasilitasi terbentuknya

sistem emulsi dengan ukuran globul yang kecil (Marina dkk., 2009). Berdasarkan optimasi basis mikroemulsi diperoleh data seperti pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Optimasi basis dengan isopropil miristat atau VCO sebagai fase minyak (Tween 80 : isopropil alkohol = 1 : 1)

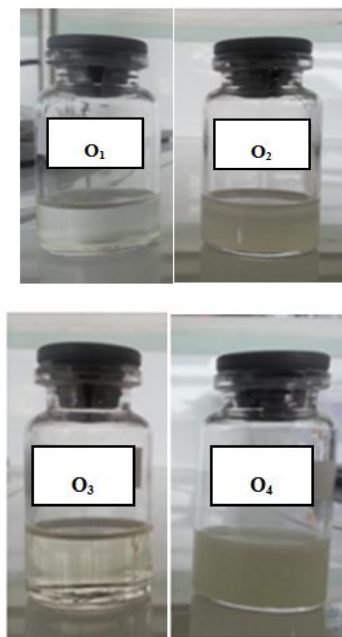
Bahan	Jumlah (% b/b)	
	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>
Isopropil miristat	10	-
VCO	-	10
Tween 80	20	20
Isopropil alkohol	20	20
Aquadeion	50	50
Evaluasi		
Kejernihan	<i>Translucent</i>	Keruh

Kedua formula belum menghasilkan mikroemulsi yang jernih. Oleh karena itu dilakukan optimasi jumlah surfaktan dan kosurfaktan. Rasio surfaktan : kosurfaktan dibuat menjadi

2:1. Formula yang dapat menghasilkan mikroemulsi adalah O<sub>3</sub> sehingga formula ini digunakan sebagai dasar pengembangan pada tahap selanjutnya.

**Tabel 2.** Optimasi basis dengan isopropil miristat atau VCO sebagai fase minyak (Tween 80 : isopropil alkohol = 2 : 1)

Bahan	Jumlah (% b/b)	
	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>
Isopropil miristat	5	-
VCO	-	5
Tween 80	30	30
Isopropil alkohol	15	15
Aquadeion	50	50
Evaluasi		
Kejernihan	Jernih	Keruh



**Gambar 1.** Tampilan fisik basis Mikroemulsi.

Dengan menggunakan formula O<sub>3</sub> selanjutnya dilakukan optimasi parameter proses, yaitu kecepatan serta lama pengadukan. Untuk menentukan kecepatan pengadukan,

dilakukan optimasi pada 100, 250, dan 400 rpm. Hasilnya menunjukkan kecepatan optimum pada 250 rpm. Kecepatan pengadukan 400 rpm menghasilkan mikroemulsi dengan gelembung udara yang banyak. Sementara kecepatan 100 rpm terlalu rendah untuk menghasilkan mikroemulsi yang homogen. Berdasarkan data Tabel 3 waktu pengadukan optimum adalah 15 menit (O<sub>3c</sub>) karena dapat menghasilkan ukuran globul dan indeks polidispersitas yang lebih kecil sehingga ukuran globul yang terbentuk lebih homogen. Pada formulasi mikroemulsi selanjutnya digunakan kecepatan pengadukan 250 rpm serta lama pengadukan fase non air 15 menit.

**Tabel 3.** Optimasi waktu pengadukan fase non air

Parameter proses	Optimasi		
	O <sub>3a</sub>	O <sub>3b</sub>	O <sub>3c</sub>
Lama pengadukan fase non air (menit)	5	10	15
<b>Evaluasi</b>			
Ukuran globul (nm)	21,1 ± 2,4	16,4 ± 4,4	15,4 ± 1,3
Indeks polidispersitas	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,1

#### *Optimasi Jumlah Surfaktan dan Kosurfaktan*

Tahap ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh mikroemulsi

dengan konsentrasi aquadeion yang lebih besar agar dapat melarutkan glukosamin HCl dengan maksimal.

Optimasi dilakukan melalui 2 tahap, yaitu: menurunkan total surfaktan dan kosurfaktan dalam formula serta optimasi rasio surfaktan dan kosurfaktan. Konsentrasi fase minyak sebagai fase terdispersi dijaga konstan. Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa jumlah surfaktan dan kosurfaktan terendah yang dapat menghasilkan mikroemulsi adalah formula O<sub>5</sub> dengan

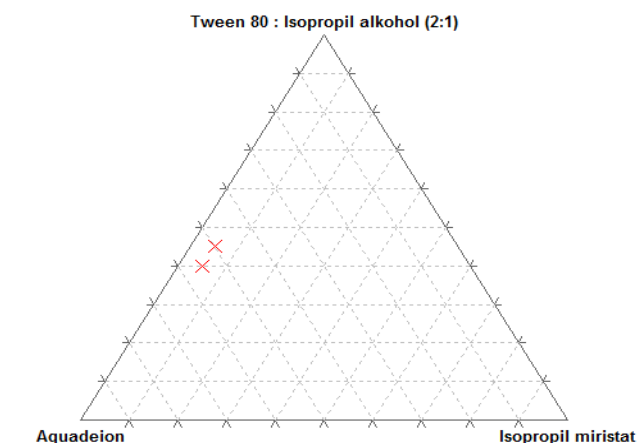
total surfaktan (Tween 80) dan kosurfaktan (isopropil alkohol) yang digunakan 40%. Selanjutnya untuk formula yang dapat menghasilkan mikroemulsi yang jernih, yaitu O<sub>3</sub> dan O<sub>5</sub>, ditampilkan dalam diagram tiga fasa menggunakan *software* Triplot *version* 4.1.2 seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 2.

**Tabel 4.** Optimasi rasio surfaktan dan kosurfaktan

Bahan	Jumlah (% b/b)			
	O <sub>3</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>	O <sub>7</sub>
Isopropil miristat	5,0	5,0	5,0	5,0
Tween 80	30,0	26,7	23,3	20,0
Isopropil alkohol	15,0	13,3	11,7	10,0
Aquadeion	50,0	55,0	60,0	65,0

Evaluasi				
Kejernihan	Jernih	Jernih	Keruh	Keruh
pH	6,88 ± 0,05	6,87 ± 0,02	6,84 ± 0,02	6,93 ± 0,03
Ukuran globul (nm)	15,23 ± 1,17	15,13 ± 1,60	189,67 ± 3,53	303,43 ± 13,54
Indeks polidispersitas	0,17 ± 0,10	0,33 ± 0,01	0,41 ± 0,05	0,10 ± 0,05



**Gambar 2.** Diagram tiga fasa untuk optimasi formula basis mikroemulsi.



Daerah mikroemulsi yang dihasilkan dalam diagram tersebut menunjukkan bahwa komposisi minyak, air serta surfaktan dan kosurfaktan menghasilkan mikroemulsi tipe M/A. Untuk meningkatkan konsentrasi aquadeion maka dilakukan optimasi dengan merancang beberapa formula dengan rasio surfaktan : kosurfaktan = 3 : 1; 4 : 1 dan 5 : 1.

Konsentrasi isopropil miristat, Tween 80 dijaga konstan sesuai formula

O<sub>5</sub>. Isopropil alkohol berperan membantu pembentukan film antar muka yang fleksibel sehingga meningkatkan fluiditas antar muka. Dalam hal ini isopropil alkohol akan teradsorpsi pada antar muka air dan minyak dan membantu membuat struktur film yang lebih rapat bersama Tween 80

**Tabel 5.** Optimasi rasio surfaktan dan kosurfaktan

Bahan	Jumlah (% b/b)		
	O <sub>8</sub> (3:1)	O <sub>9</sub> (4:1)	O <sub>10</sub> (5:1)
Isopropil miristat	5,0	5,0	5,0
Tween 80	26,7	26,7	26,7
Isopropil alkohol	8,9	6,7	5,3
Aquadeion	59,4	61,6	63,0
Evaluasi			
Kejernihan	Jernih	Jernih	Keruh
pH	6,89 ± 0,04	6,86 ± 0,02	6,75 ± 0,02
Ukuran globul (nm)	16,80 ± 0,36	22,67 ± 2,37	101,97 ± 10,87
Indeks polidispersitas	0,21 ± 0,12	0,36 ± 0,26	0,45 ± 0,04

Berdasarkan data pada Tabel 5 dapat dilihat formula O<sub>9</sub> dengan rasio Tween 80 dan isopropil alkohol 4 : 1 masih dapat menghasilkan mikroemulsi yang jernih dan stabil dengan konsentrasi aquadeion yang lebih besar. Formula O<sub>9</sub> ini selanjutnya digunakan

sebagai formula basis mikroemulsi glukosamin HCl.

#### *Formulasi Mikroemulsi Glukosamin HCl*

Setelah dilakukan optimasi terhadap jumlah surfaktan dan kosurfaktan selanjutnya dilakukan penambahan bahan aktif ke dalam basis mikroemulsi. Sediaan konvensional yang

telah beredar di pasaran pada umumnya mengandung glukosamin HCl dengan kadar 10%. Oleh karena itu pada tahap ini dibuat beberapa variasi kadar bahan aktif untuk memperoleh mikroemulsi glukosamin HCl dengan kadar tertinggi.

Hasil yang diperoleh menunjukkan konsentrasi maksimum glukosamin HCl yang dapat menghasilkan mikroemulsi yang jernih adalah pada formula F<sub>2</sub> dengan kadar glukosamin HCl 15%.

**Tabel 6.** Formulasi mikroemulsi glukosamin HCl

Bahan	Jumlah (% b/b)		
	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>
Glukosamin HCl	13,0	15,0	17,0
Isopropil miristat	4,4	4,2	4,1
Tween 80	23,2	22,7	22,2
Isopropil alkohol	5,8	5,7	5,6
Aquadeion	53,6	52,4	51,1
Evaluasi			
Kejernihan	Jernih	Jernih	Tidak Larut

Untuk mencegah terjadinya oksidasi glukosamin HCl pada formula (reaksi Maillard) digunakan antioksidan (*antibrowning agent*) yang sekaligus berfungsi sebagai preservatif yaitu natrium metabisulfit. Senyawa ini merupakan zat yang larut air sehingga perlu dilakukan optimasi untuk

memperoleh kadar optimum yang mampu mencegah terjadinya reaksi oksidasi dan masih dapat menjaga kejernihan sistem mikroemulsi. Data optimasi pada Tabel 7 diperoleh F<sub>5</sub> yang dapat memenuhi kriteria tersebut dengan konsentrasi natrium metabisulfit 0,1%.

**Tabel 7.** Optimasi antioksidan dalam mikroemulsi glukosamin HCl

Bahan	Jumlah (% b/b)		
	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>	F <sub>6</sub>
Glukosamin HCl	15,00	15,00	15,00
Isopropil miristat	4,20	4,20	4,20
Tween 80	22,70	22,70	22,70
Isopropil alkohol	5,70	5,70	5,70
Aquadeion	52,39	52,30	51,40
Natrium metabisulfit	0,01	0,10	1,00
Evaluasi			
Kejernihan	Jernih	Jernih	Keruh

### Karakterisasi Mikroemulsi Glukosamin HCl

Mikroemulsi glukosamin HCl 15% yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi dimana datanya dapat dilihat pada Tabel 8. Berdasarkan data karakterisasi dapat dilihat bahwa secara visual mikroemulsi glukosamin HCl berwarna sedikit agak kekuningan dibanding basisnya dan viskositas

mikroemulsi yang dihasilkan rendah. Hal ini disebabkan karena viskositas mikroemulsi secara keseluruhan mengikuti viskositas air sebagai fase luar serta pengaruh penggunaan isopropil miristat sebagai minyak dengan viskositas yang hampir mendekati air (5-6 mPas). Ukuran globul tidak terlalu jauh berubah dibandingkan dengan basis mikroemulsi.

**Tabel 8.** Karakterisasi mikroemulsi glukosamin HCl

Bahan	Konsentrasi (%)
Glukosamin HCl	15,00
Isopropil miristat	4,20
Tween 80	22,70
Isopropil alkohol	5,70
Aquadeion	52,30
Natrium metabisulfit	0,10
Parameter karakterisasi	
Organoleptik	Jernih, warna agak kekuningan
pH	3,56 ± 0,09
Viskositas (Cp)	5,16 ± 0,06
Ukuran globul	17,2 ± 1,37
Indeks polidispersitas	0,024 ± 0,06
Sentrifugasi	Tidak memisah
Kadar glukosamin HCl (%)	14,91 ± 0,03

Pada uji stabilitas fisik dengan sentrifugasi 3750 rpm selama 5 jam, mikroemulsi tidak memisah. Uji kadar mikroemulsi dengan menggunakan metode KCKT diperoleh kadar perolehan kembali sebesar 14,91%. Penelitian ini dapat digunakan untuk pengembangan selanjutnya yang dapat menghasilkan

sediaan transdermal glukosamin HCl dengan konsentrasi optimum.

### Kesimpulan

1. Glukosamin HCl dapat diformulasi menjadi sediaan mikroemulsi dengan menggunakan Tween 80 sebagai surfaktan, isopropil alkohol sebagai

kosurfaktan serta isopropil miristat sebagai fasa minyak.

2. Mikroemulsi dengan kadar optimum glukosamin HCl diperoleh pada konsentrasi 15%.
3. Berdasarkan uji karakterisasi mikroemulsi glukosamin HCl 15% diperoleh hasil yang memenuhi persyaratan secara organoleptik, viskositas, dan ukuran globul. Mikroemulsi juga stabil pada uji sentrifugasi dan uji dengan menggunakan metode KCKT diperoleh kadar glukosamin HCl dalam mikroemulsi sebesar 14,91%.

#### Ucapan Terima Kasih

Penulis secara tulus menyampaikan terima kasih kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) yang telah membiayai penelitian ini.

#### Daftar Pustaka

- Altman, R.D. 2009. Glucosamine therapy for knee osteoarthritis: pharmacokinetic considerations. *expert. Rev. Clin. Pharmacol.*, 2(4):359-371.
- Engelbrecht, T.N., Demé, B., Neubert, R.H. 2012. Study of the influence of the penetration enhancer isopropyl myristate on the nanostructure of stratum corneum lipid model membranes using neutron diffraction and

deuterium labelling. *Skin Pharmacol. Physiol.*, 25:200-207.

- Han, I.H., Choi, S., Nam, D.Y., Park, Y.M., Kang, M.J., Kang, K.H., Kim, Y.M., Bae, G., Young, I., Park, J.H., Ye, J.S., Choi, Y.B., Kim, D.K., Lee, J., Choi, Y.W. 2010. Identification and assessment of permeability enhancing vehicles for transdermal delivery of glucosamine hydrochloride. *Arch. Pharm. Res.*, 33(2):293-299.

- Kanwischer, M., Kim, S.Y., Kim, J.S., Bian, S., Kwon, K.A., Kim, D.D. 2005. Evaluation of the physicochemical stability and skin permeation of glucosamine sulfate. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 31:91-97.

- Lehninger. 1995. *Dasar – Dasar Biokimia*. Cetakan keempat. Jakarta: Erlangga.

- Marina, A.M., Che Man, Y.B., Hamid, N., Ismail, A. 2009. Chemical properties of virgin coconut oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86:301-307.

- Reginster, J.Y., Deroisy, R., Rovati, L.C., Lee, R.L., Lejeune, E., Bruyere, O., Giarovelli, G., Henrotin, Y., Dacre, J.E., Gossette, C. 2001. Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progression: a randomised, placebo-controlled clinical trial. *Lancet*, 357:251-256.

- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixth

Edition. London: Pharmaceutical Press.

Tjahjono, D.H., Surantaatmadja, S., dan Darijanto, S.T. 2007. Analysis of

glucosamine in cream dosage form and diffusion liquid by high performance liquid chromatography. *J. Ion Exch.*, 18(4):420-421.