

EFEK ANTIINFLAMASI DARI EKSTRAK GLUKOSAMIN CEKER AYAM PADA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI KARAGENAN

The Use Chicken Foot Extraction as the Source of Glucosamine as Anti-Acute Inflammation Agent by In Vivo

Okkie Dhyantari¹, Cyntia Trivena Milala¹, Tri Dewanti Widyaningsih¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65154

*Penulis Korespondensi, Email : okkiedhyan@yahoo.com

ABSTRAK

Inflamasi merupakan suatu respon terhadap cedera jaringan dan infeksi didalam sel tubuh. Pada kondisi tertentu inflamasi yang terjadi menyebabkan bahaya bagi penderita salah satu respon bahaya yang ditunjukkan adanya respon inflamasi yaitu reaksi anafilatik, sehingga dibutuhkan agen inflamasi dari luar tubuh seperti obat anti inflamasi yaitu glukosamin yang diperoleh dari sirip ikan hiu. Pada sirip ikan hiu memiliki tulang rawan yang menjadi sumber glukosamin. Ikan hiu merupakan hewan yang dilindungi sehingga dibutuhkan alternatif lain yaitu ceker ayam yang memiliki tulang rawan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode pengesktrakan ceker ayam dan efektifitasnya sebagai antiinflamasi secara *in vivo*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial pada pengestrak glukosamin dan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada pengujian antiinflamasi secara *in vivo*. Hasil pengesktrakan diambil perlakuan terbaik menggunakan metode zeleny dan diperoleh hasil terbaik perlakuan ekstrak maserasi selama 24 jam dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:4. Hasil pengujian *in vivo* menunjukkan efektifitas dosis 25mg/KgBB, 50mg/KgBB dan 100mg/KgBB pada jam ke 5 secara berurutan yaitu 51.37%, 48.25% dan 81.34%.

Kata Kunci: Antiinflamasi, Ceker ayam, Inflamasi

ABSTRACT

*Inflammation is a response to tissue injury and infection beneath the body cell. In certain condition, the inflammation can cause danger to the patient. One of dangerous response is anafilatic reaction. Therefore, inflammation agent from outside the body is urgently needed, such as, glucosamine compound which is obtained from the shark fin. Shark is a protected animal so that it takes another alternative that has cartilage is the chicken foot. The objective of this research is to find out the extraction method of glucosamine of the chicken foot, the effect of glucosamine extract in reducing inflammation activity and the optimal content of glucosamine extract compared to indomethasin medicine control. The research applies Random Group Design and the further experiment by *in vivo* uses Random Complete Design. The result of the research shows that the best extraction from Zeleny method on 24 hours treatment with solvent ratio of 1:4. The result from *in vivo* showed effective dosage 25mg/KgBB, 50mg/KgBB dan 100mg/KgBB at hours 5th is 51.37%, 48.25% dan 81.34%.*

Keywords: Antiinflammation, Chicken foot, Inflammation

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan suatu respon terhadap cedera jaringan dan infeksi didalam sel tubuh. Proses inflamasi menyebabkan reaksi vascular dimana cairan elemen-elemen darah,

sel darah putih (leukosit), dan mediator kimia berada pada tempat jaringan yang cedera atau yang mengalami infeksi. Proses tersebut merupakan suatu perlindungan dari tubuh untuk menetralkan dan memusnahkan agen-agen yang berbahaya yang menyebabkan jaringan yang cedera atau infeksi agar kembali normal dan bekerja pada fungsinya [1]. Pada kondisi tertentu inflamasi yang terjadi menyebabkan bahaya bagi penderita salah satu respon bahaya yang ditunjukkan adanya respon inflamasi yaitu reaksi anafilatik, sehingga dibutuhkan agen inflamasi dari luar tubuh seperti obat anti inflamasi *non steroid* yang mudah ditemukan oleh masyarakat. Penggunaan obat AINS dalam jumlah tinggi dapat menyebabkan *tinnitus*, penurunan pendengaran dan vertigo [2].

Pengembangan obat anti inflamasi dari bahan alami telah banyak dilakukan salah satunya dari tulang rawan ikan hiu. Tulang rawan ikan hiu mengandung glukosamin yang berpotensi sebagai agen anti inflamasi [3]. Berdasarkan laporan WWF (*World Wildlife Fund*) hiu merupakan hewan yang dilindungi dan terancam punah [4]. Glukosamin merupakan senyawa yang dapat ditemukan pada tulang rawan hewan seperti pada ayam yang terletak pada ceker ayamnya. Jumlah hasil samping ceker yang banyak oleh masyarakat hanya dimanfaatkan sebagai olahan pangan. Sedangkan ceker memiliki kandungan kolagen, tulang rawan dan tinggi protein yang dapat dimanfaatkan sebagai agen anti inflamasi. Tulang rawan pada hewan merupakan protein kompleks yang mengandung glukosamin, kolagen, dan kondroitin sulfat A, B, dan C yang dapat dijadikan suplemen bagi anti inflamasi [3].

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Ceker ayam yang diperoleh dari Pasar Besar Kota Malang pada bulan Januari – Mei 2014. Reagen yang digunakan pada penelitian ini adalah akuades pH 7, bubuk ammonium karbonat di peroleh dari toko kimia Makmur Sejati dan Panadia. Karagenan diperoleh dari laboratorium Biokimia dan Nutrisi Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jenis wistar jantan dengan berat 125 - 150 gram usia 3 bulan.

Alat

Alat yang digunakan pada ekstraksi ceker ayam adalah timbangan analitik, pengering kabinet, kompor, panci presto, blender kering, shaker, ayakan, *glassware*, kainsaringhalus, dan *freeze dryer*. Alat untuk pemeliharaan tikus adalah Bak plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm, kandang tikus dari kawat berukuran 36,5 cm x 28 cm x 15,5 cm, botol air, timbangan tikus, sertasonde. Alat yang digunakan untuk pengujian aktivitas anti inflamasi hewan coba adalah penggaris dan *plethysmometer*. Peralatan yang digunakan untuk analisis adalah oven listrik (merk WTC Binder), tanur listrik (merk Thermolyne), labu Kjeldahl (merk Buchi), Soxhlet (merk Gerhardt), alat destilasi (merk Buchi).

Desain Penelitian

Penelitian pengestrakan glukosamin dari ceker ayam menggunakan metode penelitian Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor. Lama ekstraksi yang digunakan adalah 3 level (6, 12 dan 24 jam) dan perbandingan bahan dengan pelarut digunakan 2 level (1:4 dan 1:6), sehingga diperoleh 6 kali percobaan dan diulang 4 kali dan total diperoleh 24 kali percobaan, kemudian diuji lanjut BNT dan penentuan terbaik menggunakan metode Zeleny. Hasil terbaik akan diuji aktivitas antiinflamasinya secara *in vivotikus* di induksi karagenan 0,2% sebanyak 0,2 mL setiap tikus menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang dibagi menjadi 5 kelompok (P) dapat masing-masing kelompok menggunakan 3 hewan percobaan. Hasil diuji lanjut menggunakan DMRT. Pengelompokan tikus yaitu : P1 : Kontrol Positif, P2 : Kontrol Positif dengan pemberian indometasin 10mg/Kg BB, P3 : Kelompok Uji dengan dosis ekstrak 25mg/Kg BB, P4 : Kelompok Uji dengan dosis ekstrak 50mg/Kg BB, P5 : Kelompok Uji dengan dosis ekstrak 100mg/Kg BB.

Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan 3 tahapan, yaitu penelitian pendahuluan, penelitian lanjutan dan pengujian *in vivo*. Penelitian pendahuluan meliputi pemilihan bahan baku, penentuan lama waktu pengeringan bubuk ceker dan penentuan perbandingan bubuk ceker dan pelarut yang sesuai. Penelitian lanjutan yaitu meliputi pengeskrakan glukosamin dari bubuk ceker ayam, analisis kandungan bubuk dan ekstrak glukosamin, dan pengeringan hasil ekstrak menggunakan *freeze dryer*.

Metode

Ceker ayam dibersihkan dari kuku, kulit terluarnya dan kotoran-kotaran yang menempelkemudian di masak dengan metode *pressure cooker*. Hasil pemasakan dilanjutkan dengan penggilingan pada ceker yang masih semi basah dengan menggunakan blender kering. Hasil penggilingan dikeringkan menggunakan suhu 65°C selama 12 jam bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terkandung pada ceker. Hasil pengeringan dilanjutkan dengan Penggilingan kering menggunakan blender kering agar diperoleh bubuk ceker yang seragam dan bertekstur halus. Untuk menyamakan ukuran bubuk maka akan dilakukan proses pengayakan.

Pengeskrakan glukosamin dari bubuk ceker ayam dilarutkan dengan pelarut ammonium carbonat 2M (NH₄CO₃) (1:4 ; 1:6) dengan menggunakan metode maserasi. Pengadukan dengan menggunakan *shaker* yang dibagi menjadi tiga kelompok sesuai dengan lama maserasi yaitu 6 , 12, dan 24 jam. Hasil maserasi sampel dipisahkan antara filtrat dan endapannya dengan menggunakan kain saring. Hasil penyaringan akan di sentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit, dan diambil supernatannya. Filtrat dan endapan yang diperoleh dari hasil ekstraksi dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer* [5].

Pengujian *in vivo* meliputi proses adaptasi selama 1 minggu. Pemberian pakan pada tikus dilakukan secara *ad libitum*. Pada minggu selanjutnya tikus diinduksi larutan karagenan 2% dengan dosis 0,2 mL pada telapak kaki tikus agar menyebabkan edema maksimal yang diukur dengan alat *plethysmometer*. Setelah terbentuknya edema maka akan diberikan indometasin dan ekstrak glukosamin sesuai perlakuan. Pembengkakan yang terbentuk diukur menggunakan *plethysmometer* setiap jamnya untuk mengetahui penurunan radang [5].

Prosedur Analisis

Pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi analisis kadar protein dengan metode Kjeldahl [6], kadar abu [6], kadar glukosamin [5] dan aktifitasnya secara *in vivo* [5].

HASIL DAN PEMBAHASAN

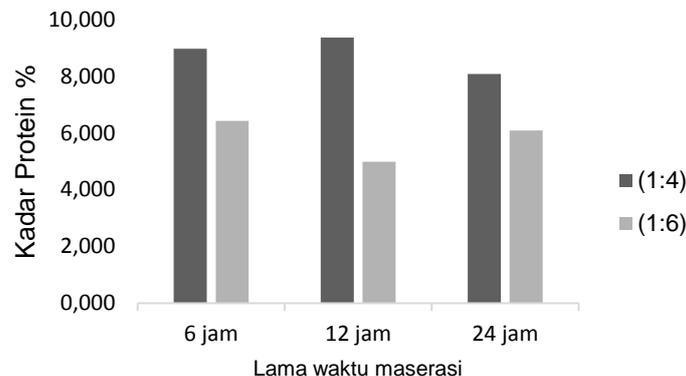
1. Kandungan Bubuk Ceker Ayam

Tabel 1. Kandungan Bubuk Ceker Ayam

Komposisi	Bubuk Ceker Ayam
Protein	47.87%
Lemak	13.57%
Kadar Air	4.49%
Kadar Abu	22.02%
Glukosamin	14.08%

Tabel 1 menunjukkan kadar protein sebesar 42.87% menunjukkan bahwa kandungan protein masih tinggi tidak banyak yang rusak oleh proses pembuatan bubuk ceker. Protein merupakan senyawa bioaktif dalam bahan pangan yang mudah rusak oleh proses pemanasan dengan menggunakan suhu tinggi. Identifikasi kadar protein pada bubuk ceker ayam merupakan identifikasi awal untuk mengetahui kadar glukosamin didalam bubuk ceker ayam. Glukosamin adalah senyawa gula amino yang dapat diperoleh dari jaringan tulang rawan hewan, glukosamin merupakan senyawa aminomonosakarida yang terkonsentrasi pada kartilago yang akan bergabung menjadi ikatan yang panjang dan disebut dengan *glycosamiglican*. Ikatan tersebut akan membentuk ikatan yang lebih besar dan disebut *proteoglycans*[7]. *Proteoglycans* adalah senyawa yang menempel pada protein dan mampu menjadi modulator pertumbuhan dan differensiasi sel [8]. Analisis kadar lemak diperoleh sebesar 13.57%, jumlah yang cukup besar ini dipengaruhi oleh pemisahan daging dan tulang pada saat proses pembuatan bubuk ceker ayam [9]. Besarnya kadar lemak pada bubuk ceker ini membuat bubuk ceker menjadi lebih cepat tengik karena oksidasi lemak. Analisis glukosamin pada bubuk ceker ayam diperoleh 14.08%. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa pada ceker ayam mengandung glukosamin yang cukup besar dan dapat berpotensi sebagai agen antiinflamasi.

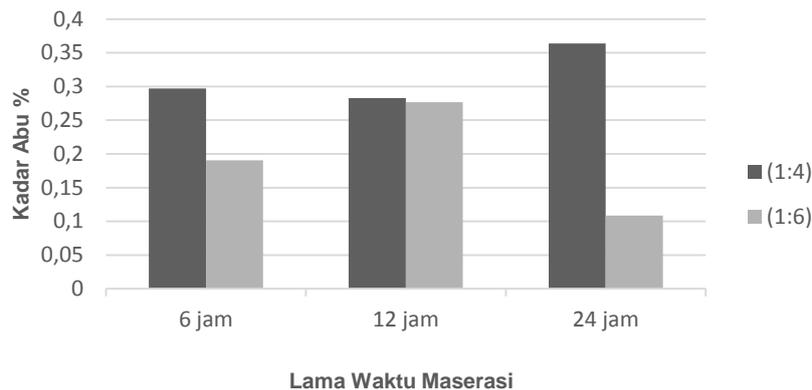
2. Hasil Ekstraksi Glukosamin dari Ceker Ayam Kadar Protein



Gambar 1 Grafik Kadar Protein Ekstrak Glukosamin Kasar dari Bubuk Ceker Ayam Akibat Lama Maserasi dan Perbandingan Bubuk Ceker Ayam dan Pelarut

Pada Gambar 1 tersebut ditunjukkan bahwa penambahan pelarut $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ semakin banyak tidak menunjukkan semakin efektif melarutkan protein yang terkandung didalam bubuk ceker ayam. Hal ini disebabkan dalam proses ekstraksi dibutuhkan jumlah pelarut yang optimal dalam berpenetrasi kedalam bubuk ceker sehingga protein akan mampu berikatan dengan pelarut $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ dimana pelarut ini dinilai efektif dalam melarutkan protein karena tingkat polaritas protein didalam air[5]. Protein yang tidak terekstrak kemungkinan masih tertinggal didalam endapan bubuk ceker. Selain itu pada penambahan pelarut yang lebih banyak membuat kondisi protein yang terkandung dalam bubuk ceker ayam lebih sulit untuk berdifusi. Hal ini terjadi karena adanya proses *salting out* pada saat proses ekstraksi. Penggunaan konsentrasi pelarut yang tinggi membuat protein mengendap dari larutan atau berikatan dengan kolom hidrofobik. Terjadi persaingan antara protein dan ion garam untuk berikatan dengan air, dan ion garam yang memiliki densitas muatan yang lebih besar akan lebih banyak mengikat air, sehingga protein akan lebih banyak terdapat pada endapan [10].

Kadar Abu



Gambar 2 Grafik Kadar Abu Ekstrak Glukosamin Kasar dari Bubuk Ceker Ayam Akibat Lama Maserasi dan Perbandingan Bubuk Ceker Ayam dan Pelarut

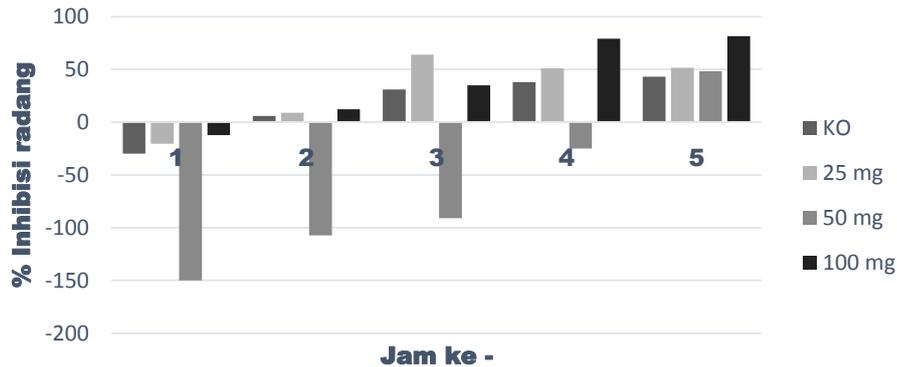
Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa semakin sedikit jumlah pelarut yang ditambahkan maka kadar abu akan semakin tinggi. Jumlah kadar abu yang ikut didalam ekstrak kasar ayam masih tergolong rendah, sehingga tidak perlu dilakukan proses dimineralisasi yaitu proses penghilangan kadar abu pada bahan. Pada umumnya glukosamin akan lebih efektif didalam tubuh jika bebas dari komponen anorganik [11].

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Tabel 2 Rerata Perubahan Edema Setiap Jamnya

Jam ke-	Kontrol Positif (%)	Perlakuan			
		Indometasin 10mg/KgBB (%)	Ekstrak Ceker Ayam Kasar		
			25mg/KgBB (%)	50mg/KgBB (%)	100mg/KgBB (%)
1	37.00±8.80	48.03±13.09	44.59±6.47	92.45±2.07	41.57±7.73
2	43.76±10.87	41.21±6.29	39.87±3.90	9.64±4.57	38.36±7.58
3	42.61±10.29	29.40±2.57	15.33±4.63	81.41±4.05	27.81±8.49
4	36.27±13.10	22.54±8.41	17.80±6.04	45.30±9.63	7.58±3.94
5	27.30±7.59	15.56±8.21	13.37±11.98	14.13±10.27	5.09±3.31

Pada Tabel 2 diketahui terjadi kenaikan presentase edema pada setiap waktu pengamatan pada kontrol positif dapat dilihat analisis rerata edema mengalami penurunan pada jam ke 4. Efek penurunan pada kontrol positif hanya terjadi pada jam ke 4, pada jam ke 1 dan ke 2 menunjukkan edema terus meningkat. Hal ini disebabkan karena tidak adanya agen antiinflamasi yang membantu menurunkan presentase edema yang terbentuk sehingga edema terus meningkat [12]. Presentase edema pada kontrol positif mengalami penurunan pada jam ke 4 karena karagenan dalam penelitian sebelumnya mengatakan maksimum edema terbentuk sampai jam ke 4 setelahnya edema yang terbentuk dari karagenan akan mengalami penurunan [13]. Karagenan mampu membuat inflamasi karena karagenan merupakan polisakarida sulfat dengan molekul besar yang mampu menimbulkan jejas jaringan atau inflamasi apabila diinduksikan pada tikus. Jejas jaringan tersebut mampu menimbulkan gangguan pada membran sel yang memicu asam arakidonat mengeluarkan mediator-mediator inflamasi seperti prostagladin dan leukotrien. Leukotrien dikeluarkan dari jalur lipoxygenase dan prostagladin dikeluarkan dari jalur *cyclooxygenase* (COX). Selain itu trauma jaringan juga memicu mediator-mediator pro-inflamasi seperti IL-1, TNF α dan NO. Mediator-mediator tersebut mampu menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler yang selanjutnya membuat keluarnya cairan pembuluh darah ke jaringan interstitial, dan akhirnya menyebabkan peningkatan cairan ekstravaskuler yang disebut dengan edema [14].



Gambar 3 Inhibisi Edema Setiap Jamnya Oleh Indometasin dan Ekstrak Glukosamin Dengan 3 Dosis

Berdasarkan Tabel 2 perlakuan kontrol obat dapat dilihat terus mengalami penurunan terhadap edema yang terbentuk, penurunan mulai terlihat pada jam ke 1 menuju jam ke 2. Penurunan edema secara signifikan terlihat pada jam ke 2 sampai jam ke 4. Hal ini sesuai dengan inhibisi radang yang terlihat pada Gambar 3 menunjukkan pada jam ke 1 tidak ada efek penurunan radang jika dibandingkan dengan kontrol negatif, penurunan radang secara signifikan setelah jam ke 2 sampai ke 5. Pada jam ke 4 menuju ke 5 inhibisi radang tidak terlalu jauh berbeda, dimungkinkan efektifitas penurunan radang oleh indometasin telah menurun. Penurunan efektifitas indometasin dipengaruhi oleh kadar indometasin didalam plasma darah [12]. Indometasin sebagai agen antiinflamasi berfungsi untuk meredakan nyeri dan pembengkakan yang terjadi akibat efek dari inflamasi. Indometasin akan menghambat enzim COX1 yang akan menghasilkan prostaglandin. Penghambatan indometasin terhadap kedua enzim tersebut tidak selektif, tetapi indometasin efektif dalam menghambat enzim tersebut¹⁵. Indometasin dinilai efektif sebagai agen antiinflamasi tetapi tidak menurunkan demam yang terjadi akibat inflamasi. Efek toksik yang diberikan oleh indometasin lebih rendah dari obat antiinflamasi jenis asam asetic, sehingga penggunaannya dalam terapi osteoarthritis cukup aman. Prostaglandin yang dihasilkan akan memicu pembengkakan pembuluh darah dan meningkatkan pengeluaran histamine dan bradikinin yang memicu rasa nyeri pada area pembengkakan [16].

Berdasarkan Tabel 2 secara umum perlakuan ekstrak 25mg/KgBB, 50mg/KgBB dan 100mg/KgBB menunjukkan adanya penurunan edema dari jam ke 1 sampai jam ke 5. Pada perlakuan 25mg/KgBB penurunan pada jam ke 1 menuju jam ke 2 penurunan tidak terlalu signifikan. Hal ini sejalan dengan hasil inhibisi radang yang ditunjukkan pada Gambar 3 dari perlakuan 25mg/KgBB yaitu pada jam ke 1 dosis 25mg/KgBB tidak menurunkan radang yang terbentuk karena 1 jam pertama senyawa ekstrak kasar ceker ayam (glukosamin) masih dicerna dan akan terserap didalam plasma darah. Pada jam ke 2 inhibisi radang mulai meningkat, tetapi pada jam ke 3 sampai jam ke 5 inhibisi radang mulai menurun. Hal ini disebabkan konsentrasi dari ekstrak lebih kecil sehingga kemampuan ekstrak menurunkan edema yang terbentuk hanya 1 jam setelah ekstrak terserap dan terikut didalam plasma.

Perlakuan ekstrak 50mg/KgBB pada penurunan edema dari jam ke 1 sampai jam ke 3 tidak ada penurunan yang berarti. Hasil tersebut sejalan dengan hasil inhibisi radang pada Gambar 3 dimana inhibisi radang mulai terlihat dari jam ke 4 menuju jam ke 5. Hal ini dimungkinkan *duration of action* penyerapan dari dosis ekstrak 50mg/KgBB lebih lambat dibanding dosis 25mg/KgBB. Selain itu edema yang terbentuk dari perlakuan 50mg/KgBB lebih besar dibanding kelompok lainnya. Besarnya edema ini dipengaruhi oleh hewan coba, dimana hewan coba memberontak saat diinduksi karagenan, sehingga jarum suntik disuntikan 2 kali dan membuat edema tikus lebih besar. Perlakuan dosis 100mg/KgBB menunjukkan penurunan yang baik dari setiap jamnya. Pada jam ke 2 penurunan radang sudah terlihat dan terus menurun sampai jam ke 5. Hal tersebut sejalan pada Gambar

3inhibisi radang yang terjadi terus meningkat sampai jam ke 5. Kemampuan dosis 100mg/KgBB dikarenakan jumlah konsentrasi ekstrak lebih tinggi, sehingga kemampuannya menurunkan edema lebih efektif dibanding dosis ekstrak 25mg/KgBB dan 50mg/KgBB.

Pada ekstrak kasar ceker ayam diduga memiliki senyawa aktif glukosamin yang efektif dalam menurunkan inflamasi. Glukosamin merupakan senyawa yang gula amino yang merupakan prekursor dalam sintesis perbaikan tulang rawan dan persendian¹⁷. Glukosamin akan menstimulasi langsung kondrosit, memasukan sulfur ke dalam tulang rawan sendi dan perlindungan proses degenerasi tubuh. Glukosamin akan meningkatkan protein inti aggrekan dan mRNA, menurunkan matrix metalloproteinase 3 dan mencegah stimulasi prostaglandin.

SIMPULAN

Faktor lama maserasi pada pengesktrakan tidak menunjukkan beda nyata ($\alpha=0,05$) dan perbandingan bubuk dan pelarut menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha=0,05$) tetapi kedua faktor tersebut tidak menunjukkan interaksi. Hasil perlakuan terbaik menggunakan metode zeleny diperoleh perlakuan lama maserasi 24 jam dengan perbandingan bubuk dan pelarut 1:4. Pengujian *in vivo* menggunakan rancangan acak lengkap menunjukkan bahwa penggunaan dosis bertingkat menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha=0,05$). Hasil pengujian *in vivo* menunjukkan efektifitas ekstrak glukosamin dari ceker ayam lebih tinggi dibandingkan kontrol obat indometasin.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Mitchell, R.N. 2006. Buku Saku Dasar Patologis Penyakit Robbins & Contran, Ed 7. Hatono A, penerjemah; Handayani S et al, editor. New York; Elsevier Inc. Terjemahan dari: Pocket Companion To Robbins & Cotran Pathologic Basic of Disease 7th edition.
- 2) Katzung, B.G., Payan, D.G. (2002). Obat antiinflamasi nonsteroid; analgesik nonopioid; obat yang digunakan pada gout. Dalam B. G. Katzung, *Farmakologi dasar dan klinik* (6th ed.) (pp.558-582). Jakarta: EGC
- 3) Lane, I. W., Contreras E. 1992. *Journal Naturopathic Medicine* 3 : 86-88. Dalam Fontenele, J.B., Glauca B.A, Alencar W.d dan Viana G.S.d.B. 1997. The Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of Shark Cartilage Are Due to a Peptide Molecule and Are Nitric Oxide (NO) System Dependent. *J.Biol.Pharm.Bull* 20 (11) : 1151 – 1154.
- 4) WWF. 2013. Perayaan Coral Triangel Day di Jakarta Semarak, Publik Dukung Petisi #SOSharks.<http://www.wwf.or.id/berita_fakta/berita_fakta/?28442/Perayaan-Coral-Triangle-Day-di-Jakarta-Semarak-Publik-Dukung-Petisi-SOSharks>. Tanggal akses : 5/10/2013
- 5) Musfiroh, I., Indriyati, W., Surahman, E., Suniwi, S.A., Muchtaridi, Mutakin, Levita, J. 2009. Analisis dan Aktivitas Anti Inflamasi Tulang Rawan Ikan Hiu. *Jurnal Farmaka* 7 (2) : 1-12
- 6) AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 16th Ed., Arlington, VA
- 7) Anonim. 2006. Is Glucosamine Effective. Health Related. Diakses pada 23 Maret 2006. <http://www.flexicose.com>. Dalam Syafril, R. 2006. Evaluasi Keberadaan Glukosamin Pada Tempe Kedelai Murni. Hasil Skripsi. Institut Pertanian Bogor
- 8) Iozzo dan Antonio. 2001. Heparan Sulfate Proteoglycans: Heavy Hitters in The Angiogenesis Arena. *Journal Clinical Investigation* 55; 108-349. Dalam Riana, R. 2014. Peran Heparin Angiogenesis Epiteliasasi dan Penyembuhan Luka Bakar. <http://ejournal.umm.ac.id/index.php/sainmed/article/view/1031/1102>. Tanggal akses 17/07/2014
- 9) Hardianto, V. 2002. Pembuatan Tepung Tulang Rawan Ayam Pedaging Menggunakan Pengereng Drum (Drum Dryer) Dengan Penambahan Bahan Pemutih (Bleaching Agent). Hasil Skripsi. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Dalam Taufani, T. 2012. Pengaruh Proporsi Tepung Tapioka dan Tepung Ceker Ayam serta Penambahan

- Natrium Bikarbonat Terhadap Sifat Fisik, Kimia dan Organoleptik Kerupuk. Hasil Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- 10) Winarno, FG. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Press, Jakarta. Dalam Syafril, R. 2006. Evaluasi Keberadaan Glukosamin Pada Tempe Kedelai Murni. Hasil Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
 - 11) Erika, I. Rojas D, Waldo M. Arguelles M, Inocencio HC, Javier H, Jaime LM, Francisco MG. 2005. Determination of Chitin and Protein Contents During The Isolation of Chitin From Shrimp Waste. *Journal Macromolecular Bioscience* 6: 340-347. Dalam Afridiana, N. 2011. Recovery Glukosamin Hidroklorida Dari Cangkang Udang Melalui Hidrolisis Kimiawi Sebagai Bahan Sediaan Suplemen Osteoarthritis. Hasil Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor
 - 12) Fridiani, D. 2012. Uji Antiinflamasi Ekstrak Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus L*) Pada Kaki Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Karagenan. Hasil Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jember
 - 13) Morris, C. J. 2003. Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse. Dalam Winyard, P. G. Dan Willoughby, D.A. *Inflammation Protocols. Journal Methods in Molecular Biology*. 225; 115-121.
 - 14) Contran, RS., Mitchell RN. 2007. Inflamasi Akut dan Kronik. Dalam : Kumar V., Contran R.S, Robbin S.I. (Eds) Buku Ajar Patologi Robbins , Ed 7, vol 1 Jakarta : EGC. Dalam P, Ayu S. D. 2012. Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*) Pada Telapak Kaki Tikus Strain Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinjeksi Karagenan. Hasil Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang
 - 15) Radde, C dan Macleod, S.M. 1998. Pediatric Pharmacology and Therapeutics. 2^{sd} edition. Hipocrates. Dalam Fajriani. 2008. Pemberian Obat-Obatan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) Pada Anak. *Indonesian Journal of Dentistry* 15 (3); 200-204.
 - 16) Eales, L.J. 2003. Immunology for Life Scientist Chichester. Jhon Wiley & Sons Ltd. P.94-96. Dalam P, Ayu S. D. 2012. Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*) Pada Telapak Kaki Tikus Strain Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinjeksi Karagenan. Hasil Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang
 - 17) D'Ambrosio, E. Casa, B. Bompani, R. dan Scali, B. 1981. Glucosamine Sulfat: A Controlled Clinical Investigation In Arthrois. *Journal Pharmacotherapeutica* Vol 2 504-508. Dalam Purnomo, E.H. Sitanggang, A.B. dan Indrasti, D. 2012. Studi Kinetika Produksi Glukosamin Dalam Water-Miscible Solvent dan Proses Separasinya. Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB 2012. <http://seafast.ipb.ac.id/publication/prosiding.hasil.penelitian.2012.b.1.hlm.247-262.pd>. Tanggal akses : 7/07/2014