

**DAFTAR ISI**

|   |       |
|---|-------|
| Halaman Sampul Depan.....                             | i     |
| Halaman Sampul Dalam .....                            | ii    |
| Halaman Persetujuan.....                              | iii   |
| Halaman Penetapan Panitia Penguji .....               | iv    |
| <br>  |       |
| PERNYATAAN ORISINALITAS .....                         | iii   |
| UCAPAN TERIMA KASIH .....                             | vi    |
| RINGKASAN .....                                       | viii  |
| ABSTRACT.....   | xi    |
| DAFTAR ISI.....                                       | xii   |
| DAFTAR TABEL.....                                     | xviii |
| DAFTAR GAMBAR.....                                    | xx    |
| DAFTAR SINGKATAN .....                                | xxiii |
| <br>  |       |
| BAB 1 PENDAHULUAN .....                               | 1     |
| 1.1 Latar Belakang .....                              | 1     |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                             | 5     |
| 1.3 Tujuan Penelitian.....                            | 6     |
| 1.3.1 Tujuan Umum.....                                | 6     |
| 1.3.2 Tujuan Khusus .....                             | 6     |
| 1.4 Manfaat Penelitian.....                           | 6     |
| <br>  |       |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....                          | 8     |
| 2.1 Tinjauan tentang Glukosamin Hidroklorida.....     | 8     |
| 2.1.1 Sifat Fisika Kimia Glukosamin Hidroklorida..... | 8     |

|   |    |
|---|----|
| 2.1.2 Analisis Glukosamin.....  | 9  |
| 2.2 Tinjauan Tentang Kondroitin Sulfat.....                                   | 10 |
| 2.2.1 Sifat Fisika Kimia Kondroitin Sulfat .....                              | 10 |
| 2.2.2 Analisis Kondroitin Sulfat .....  | 12 |
| 2.2.3 Hidrolisis Kondroitin Sulfat .....                                      | 17 |
| 2.2.4 Analisis Glukosamin dan Kondroitin Sulfat secara Simultan .....         | 18 |
| 2.3 Tinjauan tentang Osteoarthritis .....                                     | 18 |
| 2.4 Tinjauan Umum Kromatografi Cair Kinerja Tinggi .....                      | 19 |
| 2.4.1 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....                            | 19 |
| 2.4.2 Keseimbangan pada KCKT .....  | 20 |
| 2.4.3 Tipe KCKT .....   | 22 |
| 2.4.4 Instrumen KCKT .....  | 25 |
| 2.4.5 Instrumentasi Detektor ELSD.....  | 29 |
| 2.4.6 Prinsip Kerja Detektor ELSD .....                                       | 31 |
| 2.4.7 Kelebihan dan Kekurangan Detektor ELSD.....                             | 34 |
| 2.4.8 Optimasi ELSD (Evaporative Light Scattering Detector) .....             | 36 |
| 2.5 Tinjauan tentang Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) .. | 38 |
| 2.5.1 Mekanisme Retensi.....  | 39 |
| 2.5.2 Fase Diam HILIC.....  | 42 |
| 2.5.3 Fase Diam tidak Bermuatan.....  | 43 |
| 2.5.4 Fase Muatan yang Diikat secara Dimasukkan dan Permanen .....            | 45 |
| 2.6 Parameter KCKT .....  | 49 |
| 2.6.1 Waktu Tambat ( $t_R$ ).....   | 49 |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.6.2 Faktor Kapasitas .....                                   | 49        |
| 2.6.3 Faktor Selektifitas ( $\alpha$ ) .....                   | 50        |
| 2.6.4 Resolusi ( $R_s$ ).....                                  | 50        |
| 2.6.5 Jumlah Lempeng Teori ( $N$ ).....                        | 51        |
| 2.6.6 Faktor Ikutan (Tailling Factor) .....                    | 51        |
| 2.7 Prevalidasi .....  | 52        |
| 2.7.1 Stabilitas Analit.....                                   | 53        |
| 2.7.2 Uji Kesesuaian Sistem (System Suitability Test).....     | 53        |
| <br>   |           |
| 2.8 Validasi Metode .....                                      | 53        |
| 2.8.1 Selektivitas atau Spesifisitas.....                      | 55        |
| 2.8.2 Linieritas .....   | 56        |
| 2.8.3 Batas deteksi (LOD) .....                                | 57        |
| 2.8.4 Batas Kuantitasi (LOQ) .....                             | 57        |
| 2.8.5 Presisi.....   | 58        |
| 2.8.6 Akurasi.....   | 59        |
| <br>   |           |
| <b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....</b> | <b>61</b> |
| 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian .....                       | 61        |
| 3.2 Bagan Kerangka Konseptual .....                            | 64        |
| 3.3 Hipotesis Penelitian.....                                  | 65        |
| <br>   |           |
| <b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>                           | <b>66</b> |
| 4.1 Rancangan Penelitian .....                                 | 66        |
| 4.2 Variable Penelitian .....                                  | 66        |
| 4.2.1 Variabel Bebas.....                                      | 66        |
| 4.2.2 Variabel Tergantung .....                                | 66        |
| 4.2.3 Variabel Kendali .....                                   | 66        |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.3 Bahan Penelitian .....  | 67        |
| 4.4 Sampel .....  | 67        |
| 4.5 Instrumen Penelitian .....  | 67        |
| 4.6 Lokasi Penelitian .....   | 68        |
| 4.7 Prosedur Pelaksanaan Penelitian .....   | 68        |
| 4.7.1 Pembuatan Dapar Amonium Format 30 mM pH 4,5.....  | 68        |
| 4.7.2 Pembuatan Larutan Baku Induk Glukosamin Hidroklorida dan<br>Kondroitin Sulfat .....         | 68        |
| 4.7.3 Pembuatan Larutan Baku Kerja Campuran Glukosamin Hidroklorida<br>dan Kondroitin Sulfat..... | 68        |
| 4.7.4 Preparasi Sampel Glukosamin Hidroklorida dan Kondroitin Sulfat<br>dalam Sediaan .....       | 69        |
| 4.7.5 Optimasi Kodisi KCKT .....  | 69        |
| 4.7.6 Prevalidasi.....  | 69        |
| 4.8 Validasi Metode Analisis .....  | 70        |
| 4.8.1 Selektivitas.....   | 70        |
| 4.8.2 Linieritas .....  | 70        |
| 4.8.3 Akurasi.....  | 71        |
| 4.8.4 Presisi.....  | 72        |
| 4.8.5 Robustness .....  | 72        |
| 4.9 Penetapan Kadar .....   | 72        |
| 4.10 Analisis Data .....  | 73        |
| 4.11 Bagan Kerangka Operasional .....   | 74        |
| <b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>   | <b>75</b> |
| 5.1 Optimasi Kondisi KCKT.....  | 75        |
| 5.1.1 Pengaruh Konsentrasi Asetonitril .....  | 75        |

|  |     |
|--|-----|
| 5.1.2 Pengaruh Jenis Dapar.....  | 76  |
| 5.1.3 Pengaruh Konsentrasi Dapar .....   | 78  |
| 5.1.4 Pengaruh pH dapar.....   | 80  |
| 5.1.5 Pengaruh suhu nebulizer dan evaporator pada detektor ELSD .....  | 81  |
| 5.2 Prevalidasi .....  | 83  |
| 5.2.1 Uji Stabilitas .....   | 83  |
| 5.2.2 Uji Kesesuaian sistem (UKS) .....  | 84  |
| 5.3 Validasi.....  | 85  |
| 5.3.1 Selektivitas.....  | 85  |
| 5.3.2 Linieritas .....   | 88  |
| 5.3.3 Limit Deteksi dan Limit Kuantitasi .....   | 89  |
| 5.3.4 Akurasi.....   | 89  |
| 5.3.5 Presisi.....   | 90  |
| 5.3.6 Aplikasi pada Sampel .....   | 91  |
| BAB 6 PEMBAHASAN.....  | 93  |
| BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....   | 107 |
| 7.1 Kesimpulan.....  | 107 |
| 7.2 Saran .....  | 108 |
| DAFTAR PUSTAKA .....   | 109 |
| LAMPIRAN 1 Data Uji Batas Deteksi Glukosamin Hidroklorida pada pendekatan<br><i>signal to noise</i> .....  | 115 |
| LAMPIRAN 2 Data Uji batas Deteksi Kondroitin Sulfat dan Batas Kuantitasi<br>Glukosamin Hidroklorida dengan Pendekatan <i>signal to noise</i> ..... | 116 |
| LAMPIRAN 3 Data Uji Batas Kuantitasi Kondroitin Sulfat dengan Pendekatan<br><i>signal to noise</i> .....   | 117 |

LAMPIRAN 4 *Certificate of analysis* Kondroitin Sulfat dan Glukosamin  
Hidroklorida..... 118

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 2.1 Beberapa Metode Analisis Glukosamin.....   | 14 |
| Tabel 2.2 Beberapa Metode Analisis Kondroitin Sulfat .....   | 15 |
| Tabel 2.3 Beberapa Metode Analisis Glukosamin dan Kondroitin Sulfat<br>secara Simultan.....  | 16 |
| Tabel 2.4 Detektor pada KCKT .....   | 29 |
| Tabel 2.5 Persyaratan Paramete Uji Kesesuaian Sistem.....  | 53 |
| Tabel 2.6 Parameter yang Diperkirakan untuk Validasi Metode Analisis.....  | 55 |
| Tabel 2.7 Persyaratan presisi.....   | 59 |
| Tabel 2.8 Persyaratan Persen Recovery .....  | 60 |
| Tabel 4.1 Analisis Data .....  | 73 |
| Tabel 5.1 Harga tR, area, Theoretical Plate (N), resolusi (Rs), selektivitas ( $\alpha$ ) dan<br>tailing factor pada berbagai jenis dapar..... | 77 |
| Tabel 5.2 Harga tR, Theoretical Plate (N), resolusi (Rs), selektivitas ( $\alpha$ ) dan<br>tailing factor pada berbagai kosentrasi dapar ..... | 79 |
| Tabel 5.3 Harga tR, area, Theoretical Plate (N), resolusi (Rs), selektivitas ( $\alpha$ ) dan<br>tailing factor pada berbagai pH dapar.....    | 81 |
| Tabel 5.4 Pengaruh Suhu Nebulizer dan evaporator pada Penetapan Kadar<br>Glukosamin Hidroklorida dan Kondroitin Sulfat .....                   | 82 |
| Tabel 5.5 Hasil Uji Stabilitas Larutan Standar Glukosamin dan Kondroitin<br>Sulfat.....  | 83 |
| Tabel 5.6 Hasil UKS Keterulangan Waktu Retensi dan Puncak Area untuk<br>Standar Glukosamin Hidroklorida dan Kondroitin Sulfat.....             | 85 |
| Tabel 5.7 Hasil Uji Akurasi pada Kadar 80%, 100% dan 120% Glukosamin<br>Hidroklorida dan Kondroitin Sulfat pada Kondidi Terpilih .....         | 90 |
| Tabel 5.8 Hasil Uji Repeatability Standar Glukosamin Hidroklorida dan<br>Kondroitin Sulfat dalam Matriks.....                                  | 91 |
| Tabel 5.9 Deskripsi sampel dalam sediaan.....  | 92 |

Tabel 5.10 Penetapan kadar glukosamin hidroklorida dan kondroitin sulfat pada sampel suplemen ..... 92



## DAFTAR GAMBAR

|  |    |
|--|----|
| Gambar 1.1 Struktur Molekul Glukosamin dan Kondroitin Sulfat.....  | 2  |
| Gambar 2.1 Anomer Glukosamin Tabel 2.2 Beberapa Metode Analisis<br>Kondroitin Sulfat.....  | 9  |
| Gambar 2.2 Struktur Kimia Kondroitin Sulfat dan Disakarida Hasil<br>Hidrolisis secara Enzimatis .....                            | 11 |
| Gambar 2.3 Skema Diagram Alat KCKT .....   | 25 |
| Gambar 2.4 Instrumentasi Detektor Evaporative Light Scattering .....   | 29 |
| Gambar 2.5 Prinsip Kerja Detektor Evaporative Light Scattering .....   | 33 |
| Gambar 2.6 Karakteristik HILIC Merupakan Kombinasi 3 Metode dari<br>Kromatografi Cair .....                                      | 39 |
| Gambar 2.7 Skema Retensi pada HILIC.....   | 40 |
| Gambar 2.8 Struktur Fase Diam Bare Silika.....   | 42 |
| Gambar 2.9 Struktur Fase Diam Amida.....   | 44 |
| Gambar 2.10 Struktur Fase Diam Silika Dimodifikasi Cyclodextrin .....  | 44 |
| Gambar 2.11 Struktur Fase Diam Dimodifikasi Diol .....   | 45 |
| Gambar 2.12 Struktur Fase Diam Tipe Amino .....  | 45 |
| Gambar 2.13 Struktur Fase Diam Poly(succinimide) .....   | 47 |
| Gambar 2.14 Struktur Fase Diam Mix-mode.....   | 47 |
| Gambar 2.15 Mekanisme Kerja Fase Diam Zwitterionik .....   | 48 |
| Gambar 2.16 Struktur Fase Diam Sulfoalkylbetain Zwitterionik .....   | 49 |
| Gambar 3.1 Alur Kerangka Konseptual Penelitian.....  | 64 |
| Gambar 4.1 Alur Kerangka Operasional.....  | 74 |
| Gambar 5.1 Pengaruh Komposisi Asetonitril untuk Penetapan Kadar<br>Glukosamin dan Komdroitin Sulfat dengan Kolom ZiC HILIC ..... | 75 |
| Gambar 5.2 Pengaruh Jenis Dapar terhadap Pemisahan Glukosamin dan<br>Kondroitin .....  | 77 |
| Gambar 5.3 Pengaruh Konsentrasi Dapar terhadap Pemisahan Glukosamin dan<br>Kondroitin Sulfat.....                                | 78 |
| Gambar 5.4 Pengaruh pH terhadap Penetapan Kadar Glukosamin dan Kondroitin  |    |

|  |    |
|--|----|
| Sulfat .....   | 80 |
| Gambar 5.5 Kromatogram Blanko, Standar Glukosamin Hidroklorida, Standar<br>Kondroitin Sulfat, Campuran, matriks dan sampel ..... | 86 |
| Gambar 5.6 Kromatogram Kondroitin Sulfat USP dan Kondroitin Sulfat Shark<br>cartilage .....                                      | 87 |
| Gambar 5.7 Grafik Linieritas Glukosamin Hidroklorida dan Kondroitin Sulfat .   | 88 |

## DAFTAR SINGKATAN

|        |   |
|--------|---|
| CS     | : <i>Chondroitin sulfate</i>                    |
| ELSD   | : <i>Evaporative light scattering detector</i>  |
| FLD    | : <i>Flourecence Detector</i>                   |
| GAG    | : Glikosaminoglikan                             |
| GlcA   | : Asam glukoronat                               |
| GaINac | : N-asetilgalaktosamin                          |
| GS     | : <i>Glucosamine</i>                            |
| HILIC  | : <i>Hydrophilic interaction chromatography</i> |
| KCKT   | : Kromatografi Cair Kinerja Tinggi              |
| LOD    | : <i>Limit of Detection</i>                     |
| LOQ    | : <i>Limit of Quantification</i>                |
| NP     | : <i>Normal phase</i>                           |
| RP     | : <i>Reversed Phase</i>                         |
| Rf     | : <i>Retardaction Factor</i>                    |
| RI     | : <i>Refractive Indeks</i>                      |
| Rs     | : <i>Resolution</i>                             |
| SD     | : <i>Standard Deviation</i>                     |
| RSD    | : <i>Relative Standard Deviation</i>            |
| T      | : <i>Tailing Factor</i>                         |
| UKS    | : Uji Kesesuaian Sistem                         |
| UV     | : Ultraviolet                                   |