

ANALISIS SILDENAFIL SITRAT PADA JAMU TRADISIONAL KUAT LELAKI MERK A DAN B DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Angga Tiya Warma Sarigih, Anjar Mahardian Kusuma, Pri Iswati Utami

*Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jl. Raya Dukuwaluh,
PO Box 202, Purwokerto 53182*

ABSTRAK

Dalam perkembangannya banyak ditemukan obat tradisional yang dicampur dengan bahan kimia obat. Salah satunya adalah sildenafil sitrat. Penelitian ini bertujuan untuk analisis sildenafil sitrat pada jamu tradisional kuat lelaki merk A dan B dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi, menggunakan metode fase terbalik dengan detektor Uv 290 nm, kolom Shimpack ODS CLC C₁₈, fase gerak asetonitril dan dapar fosfat 0,05 M pH 4,5 dengan perbandingan (60:40). Laju alir 1,2 mL/menit dan volume yang diinjeksikan 20 µl. Pada sistem kromatografi tersebut, waktu retensi sildenafil sitrat adalah 2,5 menit. Perolehan kembali sildenafil sitrat dari sampel jamu kuat lelaki adalah 110,67%. Metode ini dapat digunakan untuk menganalisis sildenafil sitrat dengan batas deteksi 0,010 µg/mL dan batas kuantitasi 0,341 µg/mL. Berdasarkan hasil penelitian jamu kuat lelaki merk A mengandung sildenafil sitrat sebesar 0,313 mg/g, sedangkan jamu kuat lelaki merk B tidak terdeteksi adanya Sildenafil sitrat.

Kata kunci : Sildenafil sitrat, Jamu Kuat Lelaki, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

ABSTRACT

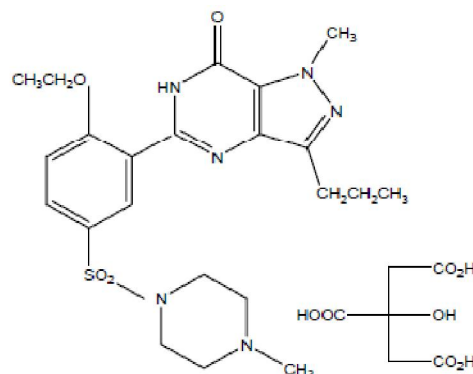
Recently, addition of chemical into traditional medicine has been a subject of study. One of them is sildenafil citrate. The aim of this study is to analyze Sildenafil Citrate in Jamu kuat lelaki Brand A and B with High Performance Liquid Chromatography Method, used reversed phase method with UV detector 290 nm, column Shimpack CLC ODS C18, used stationary phase, acetonitrile and phosphate buffer 0,05 M pH 4.5 with a ratio (60:40). Flow rate 1.2 mL / min and the injection volume 20 µl in the chromatography system, sildenafil citrate retention time is 2.5 minutes. The recovery of sildenafil citrat on jamu kuat lelaki is 110.67%. The method can be used to analyze Sildenafil Citrate with a detection limit of 0,010 µg/mL and a quantitation limit of 0,341 µg/mL. Based on the results, brand A of jamu kuat lelaki research contains sildenafil citrate of 0.313 mg / g, while brand B does not contain Sildenafil citrate.

Keywords: Sildenafil citrate, Jamu Kuat Lelaki, High Performance Liquid Chromatography.

Pendahuluan

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (UU RI, 2009). Obat tradisional meliputi jamu, obat herbal terstandar dan fitofarmaka (BPOM RI, 2004).

Syarat obat tradisional adalah mengandung bahan alam murni tanpa campuran bahan kimia. Salah satu bahan kimia obat yang dapat disalahgunakan dalam sediaan obat tradisional yang diindikasikan meningkatkan kebugaran pria adalah sildenafil sitrat (BPOM RI, 2005). Sildenafil sitrat adalah golongan obat keras yang hanya dapat diperoleh dan hanya dapat digunakan berdasarkan resep dokter. Sildenafil sitrat merupakan obat yang digunakan untuk penanganan disfungsi ereksi pada pria . (Tjay, T.H; 2002).



Gambar 1. Sildenafil Sitrat (O'Neil, 2001)

Sebagai upaya pencegahan dan pengawasan terhadap penyalahgunaan bahan kimia obat sildenafil sitrat, maka diperlukan metode analisis yang mampu mendeteksi sildenafil sitrat dalam jamu tradisional kuat lelaki. Dalam hal ini akan dilakukan penelitian untuk menganalisis secara kualitatif dan kuantitatif sildenafil sitrat pada beberapa contoh sediaan jamu tradisional yang diduga mengandung senyawa tersebut.

Salah satu cara yang digunakan untuk analisis bahan kimia sildenafil sitrat adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Pada penelitian ini metode kromatografi cair kinerja tinggi digunakan untuk menganalisis ba 1 kimia sildnafil sitrat dengan meng metode yang ada. Berdasarkan penelitian Mayangsari (2007), hasil

validasi metode kromatografi cair kinerja tinggi cukup baik untuk analisis bahan kimia sildenafil sitrat dalam sediaan jamu tradisional.

Metode Penelitian

Bahan: Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Jamu merk A dan Jamu merk B yang diperoleh dari beberapa toko obat tradisional di Cilacap dan Purwokerto aquabidest, Asetonitril (JT Barker), Dapar fosfat 0,05 M pH 4,5 (Emerck), baku pembanding Sildenafil Sitrat (Pfizer)

Alat: Alat-alat yang digunakan adalah KCKT (° Shimadzu SPO-GAV), ultrasound (° Branson), pompa vakum, vakum filter 0,45 nm *micro syringe* 100 µL, kolom shimpack CLC-C₁₈, detektor UV 290 nm, neraca analitis (° Shimadzu AY 220). pH meter, timbangan analitik, labu ukur, gelas piala, Erlenmeyer, rak tabung, tabung reaksi (Pyrex), gelas ukur, gelas arlogi, mikropipet, batang pengaduk, corong, pipet tetes.

Cara Kerja

1. Pembuatan fase gerak

Campuran Asetonitril dan Dapar Fosfat 0,05 M pH 4,5 dengan perbandingan (60:40). Larutan fase gerak tersebut kemudian divortek,

disaring melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm atau lebih halus.

2. Pembuatan Baku Sildenafil Sitrat

Sildenafil sitrat ditimbang seksama sebanyak 100 mg lalu dimasukan dalam labu takar 100 mL, kemudian dilarutkan dengan aquabidest dan encerkan secara kuantitatif sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan dengan kadar 1000 µg/mL lalu disonikator selama 10 menit. Dari larutan tersebut dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukan dalam labu takar 10 mL kemudian diencerkan secara kuantitatif dengan aquadest sampai garis tanda, sehingga diperoleh larutan dengan kadar 100 µg/mL kemudian disonikator selama 10 menit lalu disaring melalui penyaring 0,45 µm.

2. Penetapan Kualitatif Sildenafil sitrat

Baku Sildenafil Sitrat dan sampel jamu, dengan konsentrasi 2 µg/mL masing-masing disuntikan ke alat KCKT dengan volume penyuntikan 100 µL. Puncak yang ditunjukan diperhatikan dan dicatat waktu retensinya.

3 Penetapan Kualitatif Sildenafil Sitrat

Dari larutan baku konsentrasi 100 µg/mL dipipet sebanyak 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 mL. Masing-masing dimasukan

dalam labu ukur 10 mL lalu diadkan dengan fase gerak (Asetonitril:Dapar Fosfat 60:40) sampai garis tanda, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,5 ; 1 ; 2 dan 4 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian masing-masing konsentrasi diinjeksikan ke alat KCKT dengan volume 20 μL pada panjang gelombang 290 nm dengan laju alir fase gerak 1,2 mL/menit, lalu dicatat luas puncaknya yang ditunjukkan pada kromatogram dan dibuat kurva baku serta persamaan regresi liniernya.

Ditimbang seksama sejumlah 5 g sampel jamu, dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL, di larutkan dengan fase gerak (Asetonitril:Dapar Fosfat 60:40) sampai garis tanda. Dari larutan tersebut dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL diencerkan dengan fase gerak sampai garis tanda. Diambil 2 mL dari larutan tersebut masukkan dalam labu takar 10 mL diencerkan sampai garis tanda dengan fase gerak. Disaring melalui penyaring dengan Millex Gs (porositas 0,22 μm). Larutan tersebut diinjeksikan ke alat KCKT pada panjang gelombang 290 nm dengan laju alir 1,2 mL/menit dengan volume injeksi 100 μL . Pengukuran dilakukan dengan tiga kali pengulangan

4. Validasi metode analisis

Validasi Metode: Validasi metode pada penelitian ini meliputi Keseksamaan (presisi), Linieritas (linearity), Batas deteksi dan batas kuantisasi (LOD dan LOQ), Kecermatan (akurasi), Selektivitas (selectivity).

Ketelitian (*precision*)

Dilakukan pengukuran larutan baku sildenafil sitrat dengan konsentrasi masing-masing 2 $\mu\text{g/mL}$, disuntikan dengan volume penyuntikan 20 μL ke alat KCKT. Percobaan diulang sebanyak enam kali. Luas area yang diperoleh dicatat kemudian ditentukan koefisien variasinya. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan koefisien variasi 2% atau kurang (Snyder *et al*, 1997).

Linieritas (*linearity*)

Lautan baku sildenafil sitrat dibuat dengan konsentrasi 0,5 ; 1 ; 2 dan 4 $\mu\text{g/mL}$ kemudian disuntikan dengan volume penyuntikan 20 μL ke alat KCKT. Luas area yang diperoleh dicatat lalu dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dengan luas area sehingga diperoleh nilai koefisien korelasi (r) yang menunjukkan bagus tidaknya linearitas. Persamaan yang diperoleh merupakan kurva kalibrasi

yang dapat digunakan untuk perhitungan penetapan kadar.

Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi (LOD dan LOQ)

Batas deteksi dan kuantitasi pada penelitian ini dihitung secara statistik menggunakan garis linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada garis linear $y = bx + a$, sedangkan simpangan baku blangko sama dengan simpangan baku residual s_y/x . Batas deteksi (D) Karena $k=3$ atau 10, simpangan baku $s_b = s_y/x$ maka

$$x = \frac{3s_y}{x}$$

SI

Batas kuantitasi (Q)

$$Q = \frac{10s_y}{x}$$

SI

Perolehan kembali (*accuracy*)

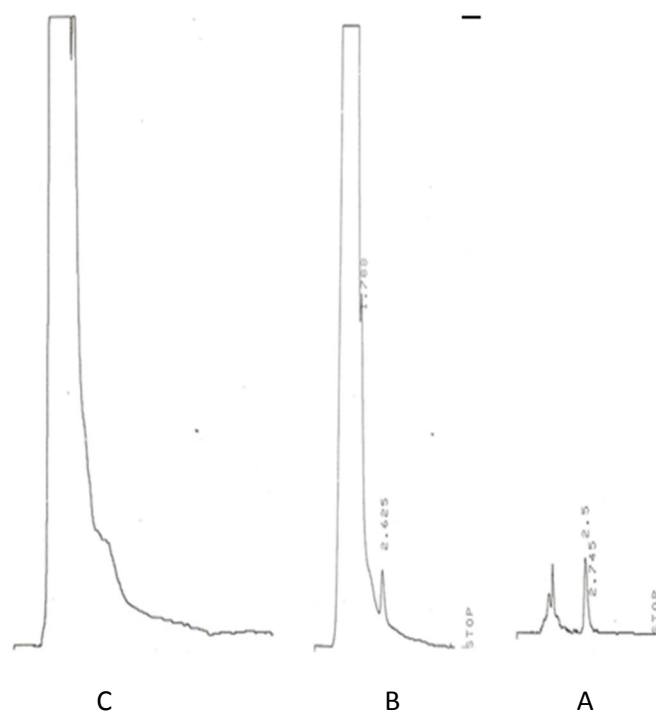
Ditimbang seksama sejumlah 5 g jamu, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, disiapkan duplo yaitu ditambah fase gerak 2,5 ml dan di tambahkan 2,5 ml dari larutan stok 1000 ppm. Kemudian dilarutkan dengan fase gerak (Asetonitril:Dapar Fosfat 60:40) sampai

garis tanda. Dari larutan tersebut dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL diencerkan kembali dengan fase gerak sampai garis tanda. Ambil 2 ml dari larutan di atas masukan dalam 10 mL labu takar sampai garis tanda dengan menggunakan fase gerak Disaring melalui penyaring millex GS (porositas 0,22 μ m). Larutan tersebut diinjeksikan 3 kali ke alat KCKT pada panjang gelombang 290 nm dengan laju alir 1,2 mL/menit dengan volume injeksi 20 μ L. Kemudian dua-duanya ditetapkan kadarnya. Dihitung % Recovery.

Hasil dan Pembahasan

Hasil analisis Kualitatif sildenafil sitrat

Hasil eluasi dengan KCKT menunjukkan waktu retensi yang diperoleh untuk standar sildenafil sitrat dan jamu merk A adalah 2,5 menit dan 2,625 menit. Untuk jamu merk B tidak ada puncak yang terdeteksi pada daerah waktu retensi sekitar 2,5 yang berarti dalam jamu merk B tidak terdapat sildenafil sitrat (Gambar 2)



Gambar 2. Kromatogram sildenafil sitrat baku (2 µg / ml) (A); Sampel Jamu A (B); dan sampel jamu B (C); dengan fase gerak Asetonitril dan Dapar Fosfat 0,05 M pH 4,5 dengan perbandingan (60:40)

Hasil Analisis Kuantitatif Sildenafil Sitrat

Setelah dipastikan adanya kandungan sildenafil sitrat pada jamu, maka dilakukan penetapan kadar. Kurva baku dibuat untuk dapat digunakan dalam mengukur kadar dari sildenafil sitrat dengan membuat hubungan antara luas area kromatogram dengan konsentrasi. penelitian menggunakan data luas area untuk menghitung kadar, sebab luas area kromatogram sangat proposional dengan konsentrasi analit (Mulja & Suharman, 1995).

Hasil dari penetapan kurva baku diperoleh linieritas kurva kalibrasi dari

sildenafil sitrat baku dengan rentang konsentrasi 0,5 – 4 µg/mL yang diukur pada panjang gelombang 290 nm dengan laju alir 1,2 ml/menit, didapatkan hubungan yang linier antara konsentrasi versus luas puncak dengan koefisien korelasi (r) = 0,999 dan persamaan garis regresinya $y = 1073,269565x - 116,1304348$. Nilai r ini menggambarkan adanya hubungan yang linier antara konsentrasi dengan luas area yang dihasilkan. Hubungan linier yang ideal dicapai jika $r_{table} < r_{hitung}$. Nilai r linier karena $r_{tabel} < r_{hitung}$ yaitu $0,950 < 0,999$.

Berdasarkan hasil kromatogram dan kurva baku jamu merk A mengandung sildenafil sitrat sebesar 0,313 mg/g (table 1). Jamu merek B

tidak ditetapkan kadarnya dikarenakan secara kualitatif tidak terdeteksi mengandung sildenafil sitrat

Tabel 1. Hasil Kadar Sildenafil Sitrat pada Jamu Kuat lelaki Merk A dengan metode KCKT

No	Luas area	Kadar (mg/g)
1.	1251	0,318
2.	1202	0,307
3.	1230	0,313
		$\bar{x} = 0,313$
		$SD = 0,005$
		$RSD = 1,829 \%$

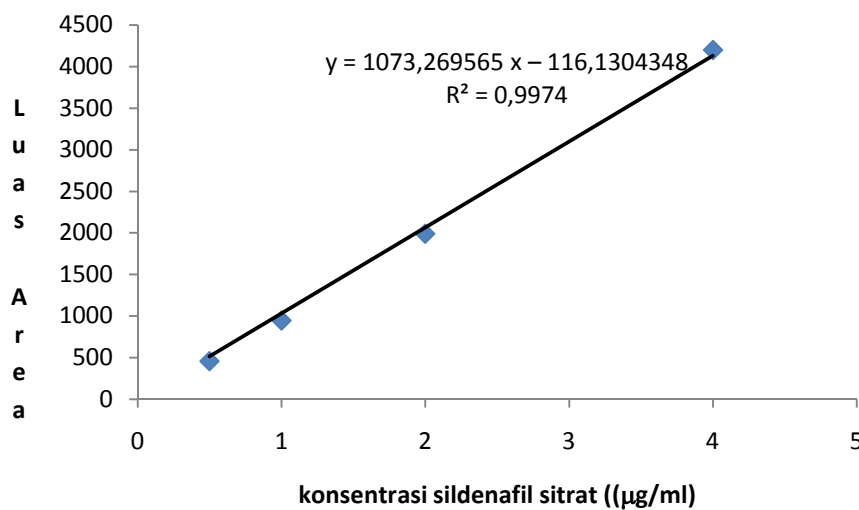
Hasil Validasi metode KCKT untuk menetapkan sildenafil sitrat dalam jamu Hasil uji linieritas

Uji linieritas menggambarkan kemampuan pada rentang tertentu untuk mendapatkan hasil uji yang secara langsung proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima. Dari hubungan konsentrasi dengan luas area didapat persamaan regresi linier yaitu melalui perhitungan nilai regresi (r) = 0,999. Nilai r bisa diterima karena r tabel < r hitung yaitu $0,950 < 0,999$ dengan nilai derajat bebas (db) 2, nilai α

sebesar 5 % dan taraf kepercayaan 95 %. (gambar 3)

Hasil uji ketelitian (*Precision*)

Keseksamaan merupakan ukuran nilai kedekatan hasil uji seseorang dengan metode replikasi dari sampel homogen. Kriteria ketelitian diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif 1 – 2 %. Tetapi kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel dan kondisi laboratorium sehingga RSD 5 – 19 % masih dapat diterima (Synder *et al*, 1997).



Gambar 3. Kurva baku ssildenafil sitrat

Tabel 2. Hasil Uji Ketelitian Baku Sildenafil Sitrat 2 µg/ml

Replikasi	Luas Area	$(x - \bar{x})^2$
1	2046	650,25
2	2048	552,25
3	2046	650,25
4	2091	380,25
5	2088	272,25
6	2110	1482,25
Jumlah		3987,5
Rata-rata		2071,5
SD		28,24004249
RSD (%)		1,363 %
Ketelitian alat		98,636 %

Makin kecil simpangan baku relatif yang diberikan suatu metode analisis maka kesahihan metode tersebut lebih terjamin. Ilmu statistik akan dapat menyuguhkan berapa besarnya simpangan baku, makin kecil kadar zat yang dianalisis akan didapat harga simpangan baku relatif yang

semakin besar (Mulja & Suharman, 1995). Analisis terhadap parameter keseksamaan dilakukan dengan menginjeksikan ke alat KCKT larutan sildenafil sitrat 2 µg/mL dengan 6 kali replikasi.

Melalui hasil perhitungan diperoleh nilai RSD sebesar 1,363%

menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memenuhi kriteria untuk suatu metode analisis yang seksama atau teliti. Ketelitian alat sebesar 98,636% (Tabel 2).

Hasil Uji Perolehan Kembali (*Recovery*)

Uji perolehan kembali (*Recovery*) merupakan parameter akurasi analisis. Akurasi adalah kedekatan nilai hasil dengan nilai yang sebenarnya. Akurasi juga dapat digunakan untuk menentukan kesalahan sistematis

Persen perolehan kembali ditentukan dengan menentukan berapa persen analit yang ditambahkan tadi

dapat ditemukan (Harmita, 2004: 117–118). Pada uji perolehan kembali ini dilakukan dengan duplo yaitu dua kali penetapan dengan penambahan standar dan tanpa penambahan standar.

Dari hasil uji perolehan kembali (*recovery*), maka dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan cukup akurat untuk menganalisis, sebab nilai rentang rata-rata % *recovery* yang dihasilkan adalah 110,67% (table 3), berada pada rentang yang diijinkan, yaitu 80% - 120% (Mulya dan Suherman, 1995).

Tabel 3. Hasil uji perolehan kembali sildenafil sirat dengan metode adisi

NO	Tanpa Penambahan Standar		Dengan Penambahan Standar 2,5 µg/mL		% Recovery
	Luas Area (Volt)	Waktu retensi (Menit)	Luas Area (Volt)	Waktu retensi (Menit)	
1	1012	2,553	3308	2,547	106,96%
2	1064	2,657	3493	2,507	113,15%
3	1085	2,653	3487	2,532	111,90%
Rata-rata					110,67%
SD					3,27
RSD					2,95 %

Hasil Batas deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan

blanko. Batas kuantitasi adalah kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harminta, 2004).

Uji batas deteksi ini bertujuan untuk mengetahui berapa konsentrasi

terendah senyawa uji yang terkandung dalam sampel yang dapat dideteksi. Batas deteksi didasarkan pada tiga kali nilai *signal-to noise ratio (S/N)*. Uji batas kuantitasi bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah senyawa yang terkandung dalam sampel yang dapat ditetapkan secara kuantitatif dan reproduibel. Batas kuantitasi didasarkan pada sepuluh kali *signal-to noise ratio (S/N)*, dengan menggunakan kurva baku. Batas deteksi dapat dihitung dengan persamaan $y = y_B + 3 s_B$, diperoleh nilai LOD 0,010 µg/mL. Batas kuantitasi di hitung dengan persamaan $y = y_B + 10 s_B$, diperoleh nilai LOQ 0,341 µg/mL.

Dari hasil LOD dan LOQ semuanya masih dibawah konsentrasi terkecil yang digunakan atau seri konsentrasi yang digunakan masih diatas LOD dan LOQ. Berarti kadar sildenafil sitrat yang masih menunjukan respon pada analisis menggunakan KCKT dengan detektor UV sebesar 0,010 µg/ml dan konsentrasi terkecil sildenafil sitrat yang masih dapat menunjukan pengukuran secara teliti dan tepat menggunakan metode KCKT dengan detektor UV sebesar 0,341 µg/ml.

Kesimpulan

Metode KCKT yang digunakan dalam penelitian ini dapat digunakan untuk analisis sildenafil sitrat dalam jamu tradisional kuat lelaki dengan hasil penetapan kadar sildenafil sitrat didapat kadar rata-rata untuk Jamu tradisional kuat lelaki merk A yaitu 0,313 mg/g. Sedangkan jamu tradisional kuat lelaki merk B tidak mengandung sildenafil sitrat.

Daftar Pustaka

- BPOM RI, 2004. *Ketentuan Pokok Pengelompokan Dan Penandaan Obat Bahan Alam Indonesia*. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- BPOM RI, 2005. *Produk Ilegal Yang Dicampur Bahan Kimia Obat Keras Sildenafil Sitrat*. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Mayangsari, D. 2007. *Pengembangan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Deteksi Sildenafil Sitrat Dalam Obat Tradisional*. ITB, Bandung.
- Mulja, M, & Suharman 1995. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.

- O'Neil, M.J, 2001, *The Merck Index*, 13th ed, Merck & Co. Inc, New Jersey, 1523.
- Synder, L.R., Joseph., and Joseph, G., 1997. *Practical High Performance Liquid Chromatography Method Development* 2nd edition. New York. John and Wiley and Sons.
- Tjay, T.H & Rahardja, K. 2002. *Obat-obat penting. Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*. Edisi keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- UU RI, 2009. No36 *Tentang Kesehatan*. Jakarta: Undang Undang No. 23 Presiden Republik Indonesia