

Pengembangan Metode Analisis Kualitatif Sildenafil Sitrat pada Jamu Penambah Stamina Pria dengan Menggunakan Metode Ekstraksi Fase Padat dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Method Development Qualitative Analysis of Sildenafil Citrate in Traditional Herbs Medicine Male Stamina Increasing Using Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography

¹Eva Latifa Novaretta, ²Anggi Arumsari, ³Hilda Aprilia Wisnuwardhani

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: ¹evalativaa@gmail.com, ²anggiarumsari@yahoo.com, ³hilda.aprilia@gmail.com

Abstract. Add chemicals adulteration in traditional herb medicine is a violation of Indonesian Minister of Public Health Regulations article 7 paragraph 1 No. 007 Year 2012 which is committed, frequently, by herb producers. The addition of sildenafil citrate in male stamina increasing herbs is one example. This study was conducted to find most optimal condition of solid phase extraction (SPE) method and high performance liquid chromatography (HPLC) for quantitative analysis of sildenafil citrate in male stamina increasing herbs. The result of SPE condition optimization using cartridge C-18 wore, acetate acid 2,5% in water as extract solution; NaOH as washing solution; hydroxide ammonium 2% in methanol as eluent; and sample volume of 1 mL. The result showed that sildenafil citrate was retented in SPE adsorbent. HPLC optimization showed the most optimum condition for sildenafil citrate analysis using Zorbax StableBond 4,6 mm ID x 250 mm (5µm) column as stationary phase; aquabides-methanol (25:75) as mobile phase; 1 mL/min of flow rate; UV detector in wavelength 292 nm; and isocratic elution type.

Keywords: Traditional Herb Medicine, Chemical Adulteration, SPE, HPLC

Abstrak. Penambahan bahan kimia obat (BKO) di dalam jamu merupakan pelanggaran terhadap Permenkes RI pasal 7 ayat 1 No. 007 Tahun 2012 yang sering dilakukan oleh produsen jamu. Salah satunya adalah penambahan BKO sildenafil sitrat di dalam jamu penambah stamina pria. Penelitian ini dilakukan untuk menemukan kondisi paling optimum pada metode ekstraksi fase padat (EFP) dan KCKT untuk analisis kuantitatif BKO sildenafil sitrat dalam jamu penambah stamina pria. Hasil optimasi kondisi EFP menggunakan *cartridge* C-18 yaitu asam asetat 2,5% dalam air sebagai larutan pengekstraksi, NaOH sebagai larutan pencuci, amonium hidroksida 2% dalam metanol sebagai larutan pengelusi dan volume sampel sebanyak 1 mL. Pada kondisi ini menunjukkan bahwa sildenafil sitrat teretensi dalam adsorben EFP. Hasil optimasi KCKT menunjukkan kondisi paling optimum untuk analisis sildenafil sitrat yaitu dengan menggunakan kolom Zorbax StableBond 4,6 mm ID x 250 mm (5 µm) sebagai fase diam; aquabides-metanol (25:75) sebagai fase gerak; laju alir 1 mL/menit; detektor UV dengan panjang gelombang 292 nm; dan tipe elusi isokratik.

Kata kunci: Jamu, BKO, EFP, KCKT

A. 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 (Permenkes RI No. 007 Tahun 2012).

Menurut Permenkes No. 007 Tahun 2012 pasal 7 ayat 1, obat tradisional dilarang mengandung etil alkohol lebih dari 1%, kecuali dalam bentuk sediaan tingtur yang pemakaiannya dengan pengenceran; bahan kimia obat yang merupakan hasil isolasi atau sintetik berkhasiat obat, narkotika atau psikotropika; dan atau bahan lain yang berdasarkan pertimbangan kesehatan dan atau berdasarkan penelitian membahayakan kesehatan.

Meningkatnya kebutuhan masyarakat akan obat tradisional menyebabkan bertambahnya industri yang bergerak di bidang obat tradisional. Maka dari itu tidak

sedikit produsen yang nakal membuat produk yang menghasilkan efek terapi lebih kuat. Salah satu kecurangan yang dilakukan oleh produsen yaitu dengan menambahkan Bahan Kimia Obat (BKO) ke dalam produk jamu yang mereka buat.

Jenis-jenis jamu yang sering ditambahkan BKO di antaranya jamu penambah stamina pria, yaitu sildenafil sitrat. Sildenafil sitrat merupakan obat yang digunakan untuk penanganan disfungsi ereksi. Penelitian BKO sildenafil sitrat dalam jamu menurut BPOM saat ini masih menggunakan metode KLT yang digunakan untuk analisis BKO dalam sediaan jamu secara kualitatif saja, sehingga perlu dikembangkan metode analisis kuantitatifnya.

Berdasarkan masalah tersebut maka pada penelitian ini akan dilakukan pengembangan metode analisis kadar BKO dalam jamu penambah stamina pria dengan menggunakan EFP dan KCKT. Diharapkan diperoleh metode analisis yang memiliki kepekaan, kecermatan, dan ketelitian yang tinggi. Dengan diperolehnya metode untuk analisis kadar BKO dalam jamu, maka akan memudahkan pemantauan penggunaan BKO pada jamu penambah stamina pria dan diharapkan ke depannya dapat digunakan untuk uji paparan terhadap penggunaan jamu ber-BKO.

B. Landasan Teori

Menurut Permenkes No. 007 tahun 2012 tentang Registrasi Obat Tradisional, 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, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat.

Menurut Badan POM tentang ketentuan pokok pengelompokan dan penandaan Obat Bahan Alam Indonesia yang dimaksud dengan Obat Bahan Alam adalah Obat Bahan Alam yang diproduksi di Indonesia. Berdasarkan cara pembuatan serta jenis klaim penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat, Obat Bahan Alam dikelompokkan menjadi tiga, yaitu:

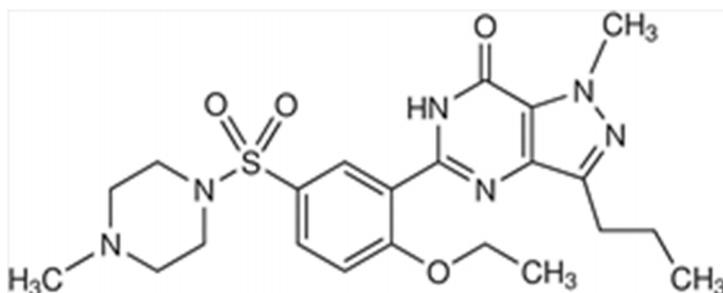
- Jamu
- Obat Herbal Terstandar
- Fitofarmaka

Bahan Kimia Obat

Bahan kimia obat merupakan senyawa kimia obat yang ditambahkan dengan sengaja ke dalam jamu, dengan tujuan agar produk yang dibuat menghasilkan efek terapi lebih kuat dari biasanya dan segera menyembuhkan penyakit. Bahan kimia obat yang sering ditambahkan pada jamu antara lain mengandung sibutramin hidroklorida, sildenafil, tadalafil dan glibenklamid. Sebagian besar hasil temuan pengawasan tersebut merupakan produk ilegal atau tidak terdaftar di BPOM, tetapi mencantumkan nomor pendaftaran fiktif pada labelnya.

Sildenafil Sitrat

Sildenafil sitrat dengan nama kimia 1-[[3-(6,7-dihydro-1-methyl-7-oxo-3-propyl-1-H-pyrazolo[4,3d]pyrimidin-5-yl)-4-ethoxyphenyl]-sulfonyl]-4-methyl piperazine citrate dan rumus molekul $C_{22}H_{30}N_6O_4S \cdot C_6H_8O_7$ dengan berat molekul 666,7 g/mol. Sildenafil sitrat merupakan bahan aktif pertama yang digunakan sebagai terapi gangguan ereksi peroral. Sildenafil sitrat ini berupa serbuk kristalin berwarna putih; tidak berbau atau hampir tidak berbau; rasa sedikit asin; bebas larut dalam dimetilformamida; sedikit larut dalam metanol, air, etanol; di simpan dalam wadah tertutup baik dan pada suhu kamar (Florey, 1981).



Gambar 1. Struktur sildenafil sitrat (Martindale 36,2009)

Mekanisme kerja sildenafil adalah menghambat selektif terhadap enzim fosfodiesterase tipe 5 (PDE-5) yang spesifik terhadap cGMP (siklik guanilmonofosfat). Selama proses perangsangan seksual dibebaskan NO (nitrogenoksida) dalam corpus cavernosum (jaringan ereksi penis) yang meningkatkan jumlah cGMP. Peningkatan cGMP menghasilkan pelepasan secara perlahan otot yang ada dalam corpus cavernosum yang memungkinkan aliran darah ke dalam corpus cavernosum tersebut dan terjadinya ereksi. Keberadaan PDE-5 akan merusak cGMP. Dengan menghambat fungsi dari PDE-5, maka sildenafil memperlama aktivitas cGMP dan memungkinkan ereksi terjadi pada saat diberikannya rangsangan seksual (Tjay & Rahardja, 2008:686).

Ekstraksi Fase Padat

Ekstraksi fase padat (EFP) atau yang lebih dikenal dengan *solid phase extraction (SPE)* digunakan untuk memekatkan dan memurnikan sampel untuk analisis. Ekstraksi fase padat merupakan metode pemisahan dimana senyawa yang terlarut dalam campuran cairan dipisahkan dari senyawa lain dalam campuran sesuai dengan sifat fisik dan kimianya.

Prinsip ekstraksi fase padat yaitu analit yang terlarut dalam suatu pelarut yang memiliki daya elusi rendah dimasukkan ke dalam *cartridge* dan kemudian akan terperangkap pada medium EFP. Analit tersebut kemudian dapat dibilas dengan pelarut lain yang berdaya elusi rendah dan kemudian akhirnya dielusi dengan pelarut berdaya elusi kuat bervolume kecil (Watson, 2010:420).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Metode ini memiliki sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sensitif telah menyebabkan perubahan kromatografi kolom cair menjadi suatu sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif.

Prinsip kerja KCKT adalah dengan bantuan pompa fase gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor. Cuplikan dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran. Karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut-solut terhadap fasa diam. Solut-solut yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Sebaliknya, solut-solut yang kuat berinteraksi dengan fasa diam maka solut-solut tersebut akan keluar dari kolom lebih lama. Setiap komponen campuran yang keluar kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram (Hendrayana, 2006:69).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

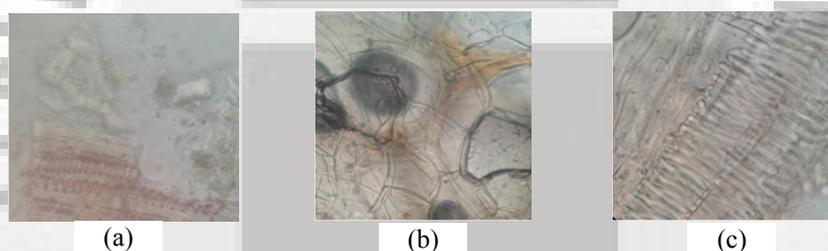
Pemeriksaan Mikroskopik Simplisia

Berdasarkan komposisi yang terdapat pada kemasan beberapa merk jamu penambah stamina pria, maka pada penelitian ini digunakan bahan simplisia *Eurycomae longifolia radix* (akar pasak bumi), *Zingiberis officinalis rhizoma* (rimpang jahe), dan *Piperis retrofracti fructus* (buah cabe jawa) sebagai jamu simulasi. Kemudian dipastikan kebenaran identitasnya dengan dilakukan pemeriksaan mikroskopik fragmen-fragmen penanda pada masing-masing simplisia.



Gambar 2. Pemeriksaan mikroskopik fragmen penanda pada *Eurycomae longifolia radix*, (a) jari-jari teras, (b) serabut. Dilihat dibawah mikroskop pada perbesaran 400 x dengan pereaksi kloral hidrat.

Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia yang diperoleh sesuai dengan fragmen penanda yang tercantum pada Materia Medika Indonesia Ed. V, Hal. 212.



Gambar 3. Pemeriksaan mikroskopik fragmen penanda pada *Zingiberis officinalis rhizoma*, (a) berkas pembuluh, (b) jaringan gabus, (c) pembuluh kayu. Dilihat dibawah mikroskop pada perbesaran 400 x dan 1000 x dengan pereaksi HCl+fluoroglusinol dan kloral hidrat.

Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia yang diperoleh sesuai dengan fragmen penanda yang tercantum pada Materia Medika Indonesia Ed. II, Hal. 120.



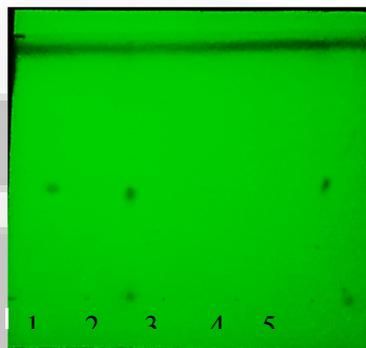
Gambar 4. Pemeriksaan mikroskopik fragmen penanda pada *Piperis retrofracti fructus*, (a) jaringan mesokarp dengan sel sekresi (b) butir pati. Dilihat dibawah mikroskop pada perbesaran 400 x dan 100 x dengan pereaksi fluoroglusinol+HCL dan I₂KI.

Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia yang diperoleh sesuai dengan fragmen penanda yang tercantum pada *Materia Medika Indonesia* Ed. I, Hal. 83.

Hasil Optimasi Ekstraksi Fase Padat

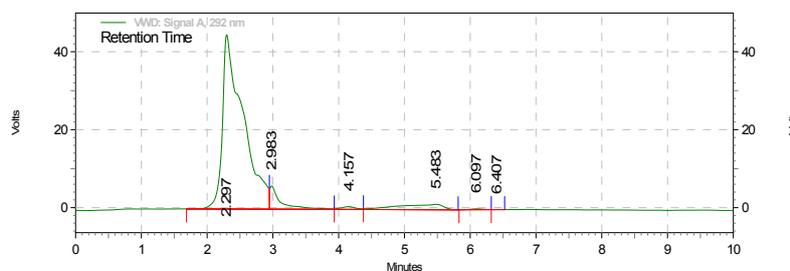
Sebanyak 500 mg sampel jamu simulasi yang telah ditambahkan sildenafil sitrat ditambahkan 10 mL asam asetat 2,5% dalam air. Lalu dikocok menggunakan *shaker* selama 15 menit. Kemudian campuran disaring, filtratnya diambil. Sebelumnya dilakukan pengondisian kolom EFP C-18 berturut-turut dengan 1,5 mL metanol dan 1,5 mL aquabidestilata. Sebanyak 1 mL sampel jamu simulasi dimasukkan ke dalam kolom EFP dan dibiarkan menetes perlahan. Kemudian kolom dicuci berturut-turut dengan 3 mL NaOH. Kemudian analit dielusi dengan 2 mL amonium hidroksida 2% dalam metanol. Lalu dilakukan pemantauan menggunakan KLT.

Digunakan asam asetat dalam air karena diharapkan dengan adanya asam maka sildenafil sitrat akan lebih banyak terjerap pada fase diam. Hasil yang didapat dari pemantauan KLT dapat dilihat pada gambar 5.

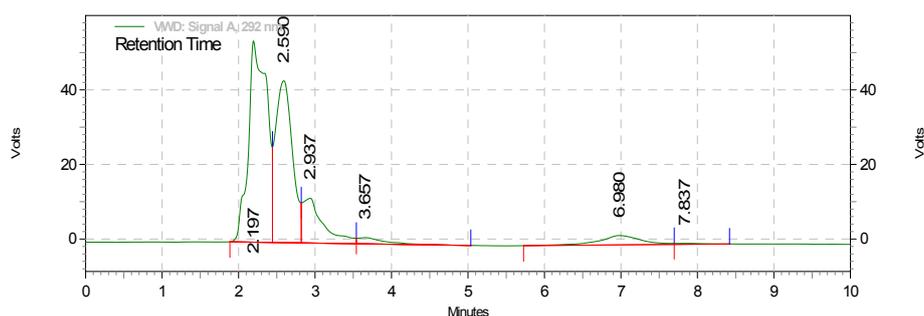


Gambar 5. Hasil KLT, (1) standar kerja sildenafil sitrat, (2) filtrat jamu simulasi, (3) larutan sisa retensi, (4) larutan hasil pencucian, (5) larutan hasil elusi, lihat di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm.

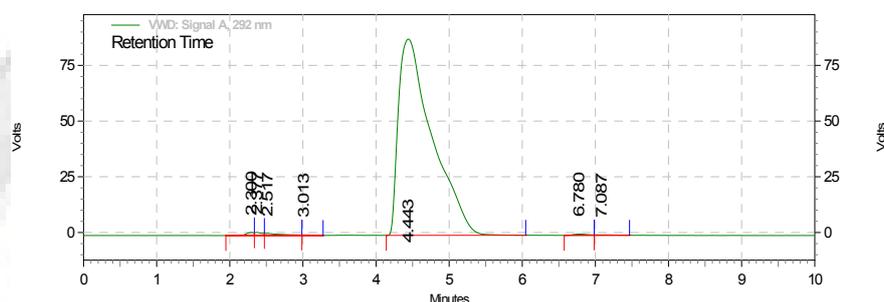
Berdasarkan kromatogram hasil pemantauan KLT terlihat bahwa dengan penambahan asam asetat 2,5% dalam air, sildenafil sitrat masih dapat larut sehingga pada bercak filtrat jamu simulasi tidak terlihat adanya matriks yang mengganggu dan sildenafil sitrat lebih banyak terjerap pada fasa diam. Kemudian dari hasil pencucian terlihat bahwa sildenafil sitrat tidak ikut tercuci sehingga ketika menggunakan amonia 2% dalam metanol sebagai larutan pengelusi, sildenafil sitrat lebih mudah terelusi. Hal ini diperjelas pada kromatogram hasil KCKT seperti yang terjadi dibawah ini :



Gambar 6. Kromatogram larutan sisa retensi sampel



Gambar 7. Kromatogram larutan hasil pencucian sampel

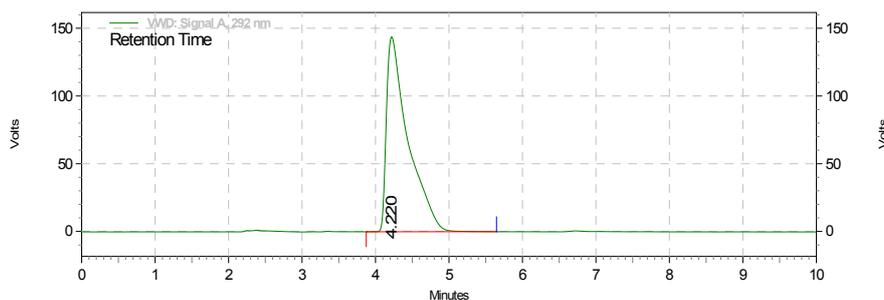


Gambar 8. Kromatogram larutan hasil elusi sampel

Dari hasil pengujian dengan KCKT menunjukkan bahwa sildenafil sitrat teretensi dengan baik di fasa diam EFP. Hal ini sesuai dengan hasil pemantauan dengan KLT dimana pada larutan sisa retensi tidak terdapat puncak sildenafil sitrat dan pada hasil pencucian tidak terdapat sildenafil sitrat sehingga pada hasil elusi yang ditunjukkan oleh kromatogram sangat jelas bahwa sildenafil sitrat dapat bereaksi dan menjadi garam yang mudah larut sehingga lebih mudah terelusi.

Optimasi Sistem KCKT

Optimasi sistem KCKT dilakukan untuk mengetahui fase gerak yang sesuai untuk analisis sildenafil sitrat secara simultan. Optimasi dilakukan dengan menggunakan tipe elusi isokratik dan menguji beberapa fase gerak (aquabides-metanol), yaitu perbandingan 5:95, 15:85, 25:75, 50:50. Untuk sistem KCKT ini digunakan kolom Zorbax StableBond 4,6 mm ID x 250 mm (5 μ m) dengan laju alir fase gerak 1 mL/menit, dan detektor UV dengan panjang gelombang 292 nm. Hasil yang diperoleh dari sistem yang diujikan ini menghasilkan puncak sildenafil sitrat yang baik pada menit ke 4,220 dengan perbandingan fase gerak aquabides-metanol (25:75) dan tersaji dalam kromatogram di bawah ini :



Gambar 9. Kromatogram sildenafil sitrat, komposisi eluen aquabides-metanol (25:75)

Uji Kesesuaian Sistem KCKT

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk mengetahui bahwa sistem kromatografi yang digunakan dapat beroperasi dengan baik atau tidak. Pada uji ini dilakukan dengan cara menginjeksikan larutan standar sebanyak 7 kali dan konsentrasi sildenafil sitrat yang digunakan yaitu 100 ppm. Berikut perhitungan simpangan baku residual (SBR) dari nilai waktu retensi dan luas area standar :

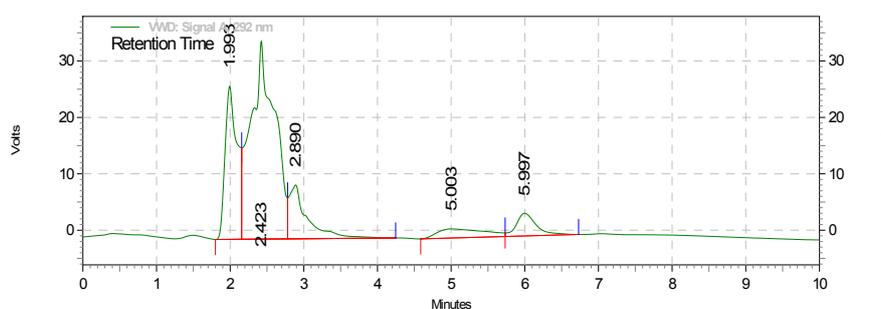
Tabel 1. Hasil perhitungan UKS waktu retensi dan luas area standar

Nomor	Uji Kesesuaian Sistem	
	Waktu Retensi	Luas Area
1	4,2	48685516
2	4,217	49135741
3	4,22	49244344
4	4,223	49400836
5	4,227	49430452
6	4,23	49422126
7	4,233	49464408
Rata-Rata	4,221429	49254775
SD	0,010967	277633,5
SBR (%)	0,259805	0,563668

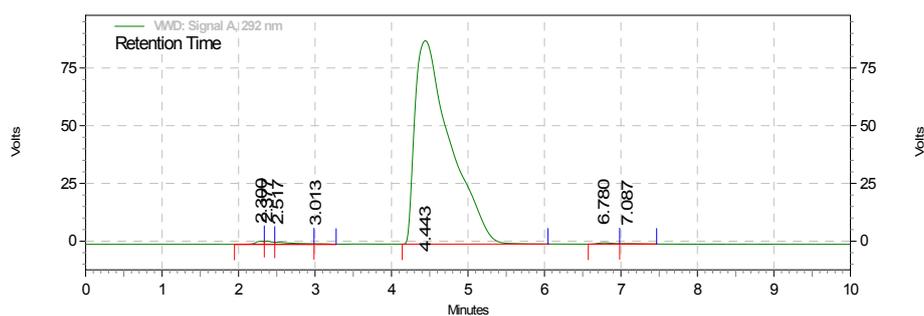
Hasil tersebut dapat dikatakan memenuhi persyaratan karena nilai SBR yang baik harus $\leq 2\%$.

Selektivitas (Spesifisitas)

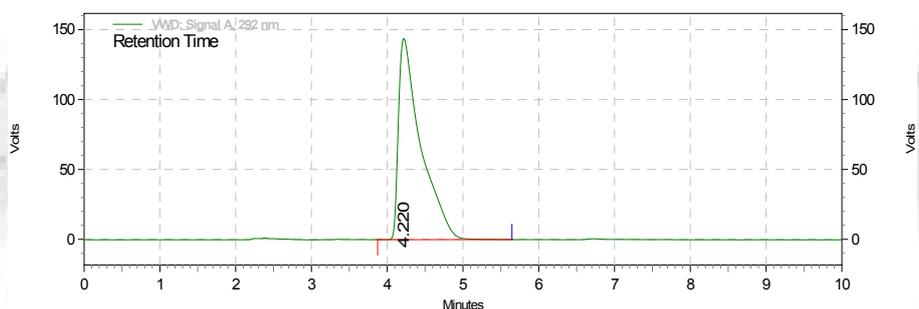
Uji selektivitas dilakukan untuk melihat kemungkinan adanya matriks sampel seperti adanya pengotor, hasil degradasi atau adanya komponen matriks pada waktu retensi sildenafil sitrat. Pada uji ini diperoleh kromatogram hasil elusi jamu simulasi yang menunjukkan bahwa hanya terdapat puncak yang muncul pada waktu retensi tertentu yang diketahui adalah matriks dan tidak terdapat puncak yang muncul pada waktu retensi sildenafil sitrat. Hal ini tersaji dalam kromatogram di bawah ini :



Gambar 10. Kromatogram larutan hasil elusi sampel jamu simulasi



Gambar 11. Kromatogram larutan hasil elusi sampel jamu simulasi+sildenafil sitrat



Gambar 12. Kromatogram larutan standar sildenafil sitrat

Hasil tersebut dapat dikatakan bahwa metode yang digunakan memenuhi kriteria spesifik.

D. Kesimpulan

Telah berhasil dikembangkan metode analisis kualitatif sildenafil sitrat pada jamu penambah stamina pria dengan menggunakan metode ekstraksi fase padat dan KCKT. Pada metode EFP, sildenafil sitrat dapat terekstraksi dan teretensi dengan pelarut asam asetat 2,5% dalam air, larutan pencuci NaOH, dan larutan pengelusi amonium hidroksida 2% dalam metanol dengan jumlah sampel yang dimasukkan sebanyak 1 mL. Kondisi KCKT untuk analisis sildenafil sitrat yang paling baik yaitu dengan menggunakan kolom Zorbax StableBond 4,6 mm ID x 250 mm (5 µm), fase gerak aquabides-metanol (25:75), laju alir fase gerak 1 mL/menit, detektor UV dengan panjang gelombang 292 nm, dan menggunakan tipe elusi isokratik.

Daftar Pustaka

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1977. *Materia Medika Indonesia Jilid I*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Hal. 80 – 83.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1978. *Materia Medika Indonesia Jilid II*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Hal. 118 – 120.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Hal. 212 – 214.
- Florey, K. 1981. *Analytical Profiles of Drug Substances*, Vol. 10, Academic Press, New York.
- Gandjar, I. G dan Abdul, R. 2012. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gandjar, I. G. dan Abdul, R. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.

- Hendrayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Penerbit PT Remaja Rosdakarya, Bandung.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomer 007 Tahun 2012 tentang Registrasi Obat Tradisional.
- Sweetman, Sean C. 2009. *Martindale The Complete Drug Reference 36th Edition*. The Pharmaceutical Press, London.
- Tjay, T.H dan Rahardja, K. 2008. *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi Keenam, PT Elex Media Komputindo Kelompok Kompas Gramedia, Jakarta.
- USP. 2015. *United States Pharmacopeia and the National Formulary (USP 38-NF 33)*, The United States Pharmacopeial Convention, Rockville.
- Watson, D. G. 2010. *Analisis Farmasi: Buku Ajar Untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi*. EGC, Jakarta.

