

Identifikasi Sildenafil Sitrat pada Jamu Kuat Pria Yang Beredar di Wilayah Bumiayu dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Identification of Sildenafil Citrate in High Performance Liquid Chromatography Methods Circulated in Bumiayu Area

Nur Alimul Hakim¹, Tunjung Winarno², Pudjono^{*3}

^{1,2,3} Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Peradaban

Abstract

The aim of this study was to identify sildenafil citrate in the preparation of male strong herbal medicine circulating in the Bumiayu Region. Qualitative analysis using TLC, the solvent is methanol, the mobile phase is methanol: chloroform (4: 1) and the stationary phase is Silica Gel GF254 plate. Observation of spots with 254nm UV lamp. The results of the qualitative test on 7 samples were positive for sildenafil citrate. Quantitative analysis using HPLC, the stationary phase in the form of a C18 column (150mm x 3.9mm, 5µm) and the mobile phase in the form of phosphate buffer pH 3, methanol, acetonitrile ratio (50: 30: 20). Standard sildenafil citrate with a concentration of 0.1mg/mL in the mobile phase. Dissolve the extracted test sample in a 100mL flask using the mobile phase. Assay using HPLC at a wavelength of 290nm with a pump pressure of 1 mL/min and an injection volume of 20µL. Quantitative test results from 7 samples with codes A,B,C,D,E,F,G per capsule are (103.53 mg), (90.23 mg), (33.44 mg), (45.63 mg), (104.78 mg), (64.64 mg) and (84.22 mg).

Keywords: Traditional medicine, Sildenafil Citrate, Thin Layer Chromatography, High Performance Liquid Chromatography, Column C18

Article Info

Article history

Submission: July 26 2021

Accepted: August 22 2021

Publish: January 31 2022

Ucapan terimakasih

Terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Kepala Laboratorium Farmasi Universitas Peradaban dan Kepala Laboratorium PT. Amida Farma.

Correspondence:

Pudjono

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Peradaban

e-mail:

p_jhon@ugm.ac.id

PENDAHULUAN

Obat tradisional di Indonesia banyak ditemukan mengandung bahan kimia obat. Sildenafil sitrat termasuk satu dari sekian bahan kimia yang ditemukan dalam sediaan obat tradisional. Tahun 2020, Badan Pengawas Obat dan Makanan menemukan 13 merek obat tradisional dan suplemen kesehatan yang positif mengandung sildenafil sitrat (Anonim, 2020b).

Seiring dengan perkembangan obat tradisional banyak terindikasi mengandung bahan kimia obat yang dilarang. Selama tahun 2019, Badan Pengawas Obat dan Makanan menemukan obat tradisional dan suplemen ilegal dan atau mengandung bahan kimia obat senilai 6,2 miliar rupiah (Anonim, 2020d). Peringatan publik tanggal 01 juli 2020 No. HM.01.1.2.07.20.18 yang dikeluarkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan menyebutkan setidaknya ada 40 merek obat tradisional dan suplemen kesehatan yang terbukti mengandung bahan kimia obat dan menggunakan nomor izin edar fiktif (Anonim, 2020b). Obat tradisional dengan nomor izin edar fiktif banyak ditemukan di pasar hewan. Sildenafil sitrat adalah bahan kimia yang sering ditambahkan kedalam sediaan jamu kuat pria. Obat tradisional dan suplemen kesehatan yang mengandung bahan kimia obat memiliki resiko kesehatan, seperti sildenafil sitrat jika digunakan berlebih akan menyebabkan efek samping berbahaya seperti gangguan penglihatan dan pendengaran, stroke, serangan jantung, bahkan kematian (Pfizer, 2018). Penelitian terdahulu tahun 2013 tentang identifikasi dan penetapan kadar sildenafil sitrat pada jamu kuat lelaki di wilayah Makassar. Hasil penelitian dengan metode KLT-Densitometri menunjukkan dari 4 sampel jamu terdapat 1 jamu yang positif mengandung sildenafil sitrat (Waris et al., 2013). Penelitian pada tahun 2018 tentang analisis kualitatif sildenafil sitrat pada beberapa produk jamu sehat pria dengan metode kromatografi lapis tipis di wilayah Banjarmasin. Penelitian menunjukkan hasil dari 13 sampel produk yang di uji

terdapat 5 produk jamu yang positif mengandung sildenafil sitrat (Tiadisti and Heldawati, 2018).

Penelitian oleh Setiawan et al., (2020) tentang Validasi Metode Identifikasi Sildenafil Sitrat, Tadalafil dan Fenilbutazon Dalam Jamu Obat Kuat Secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. Penelitian yang dilakukan di Surabaya menghasilkan dari 22 merek sampel jamu obat kuat terdapat 14 merek yang terindikasi positif mengandung sildenafil sitrat. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk mengidentifikasi sildenafil sitrat pada sediaan jamu kuat pria yang beredar di kecamatan Bumiayu.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : Timbangan analitik (AND GR200), vacum pump, sonikator (ower Sonic), pH meter (Hana Istrument), mikropipet (Dragon Lab), membran filter nylon 0.45 μ m (Hawach), lampu UV 254 nm (Merck), plat KLT Silica Gel GF 254 (Merck), kolom (C18/L1, ukuran 150 mm x 3,9 mm, 5 μ m) (Agilent), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan panjang gelombang 290 nm (Waters).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi : Standar sildenafil sitrat murni (BPOM), sampel jamu, kloroform (Smart Lab), etanol (Smart Lab), acetonitril (Smart Lab), metanol (Smart Lab), aquadest, asam fosfat (Merck), trietilamin (Merck).

Uji Kualitatif

Pengujian menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan fase diam berupa plat Silica Gel GF 254. Fase gerak dengan mencampurkan methanol : kloroform (4 : 1). Larutkan standar sildenafil sitrat dilarutkan menggunakan metanol.

Uji Kuantitatif

Kualifikasi dilakukan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Fase diam menggunakan kolom C18 ukuran (150 mm x 3,9 mm, 5 μ m). Fase gerak metanol p.a : acetonitril p.a : dapar trietilamin pH 3 (50 : 30 : 20). Laju alir yang digunakan sebesar 1mL/menit dengan volume injeksi 20 μ m. Panjang

gelombang yang digunakan sebesar 290 nm. Penentuan panjang gelombang pada penelitian ini didasarkan pada literature USP 35 yaitu sebesar 290 nm. Tekanan pompa 1 mL/menit dan volume injeksi 20 µL.

Ekstraksi sampel jamu, ambil serbuk dari kapsul sampel uji dan masukkan dalam wadah, lalu tambahkan metanol kurang lebih 5 mL. Diamkan selama sehari dan kemudian saring, tampung ekstrak cair dari sampel jamu.

Pembuatan larutan uji sampel jamu, Ekstrak jamu dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL. Tambahkan fase gerak 30 mL dan lakukan sonifikasi selama 15 menit, kemudian tambahkan fase gerak sampai tanda batas dan gojog. Ambil 1 mL masukan kedalam labu 10 mL dan tambahkan fase gerak, gojog dan saring dengan filter membran 0,45 µm.

Larutan induk sildenafil sitrat, dibuat dengan cara melarutkan pada fase gerak hingga diperoleh konsentrasi (1 mg/mL).

Pembuatan larutan standar, diambil sebanyak 1 mL larutan induk sildenafil sitrat, encerkan dengan labu ukur 10 mL konsentrasi (0,1 mg/mL), saring dengan membrane filter 0,45 µm.

Pembuatan larutan seri. Dibuat 9 seri konsentrasi (10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 120, 140 µg/mL). Nantinya digunakan untuk proses uji lineritas dan uji akurasi pada validasi metode analisa.

Validasi metode

Uji kesesuaian sistem, dilakukan dengan menyuntikkan larutan standar sildenafil sitrat 0,1 mg/mL kedalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi sebanyak 6 kali. Syarat keberterimaan dinyatakan masuk jika nilai simpangan baku relatif area dan waktu retensi kromatografi tidak lebih dari 2%.

Uji linearitas, dilakukan dengan menyuntikkan masing-masing larutan seri 9 konsentrasi yang berbeda meliputi 10, 20, 30, 40, 60,80, 100, 120 dan 140 µg/mL. Dinyatakan memenuhi syarat jika nilai koefisien korelasi (r) mendekati 1 atau minimal 0,998.

Uji akurasi, dilakukan dengan menyuntikkan larutan seri dengan konsentrasi 80 µg/mL, 100 µg/mL dan 120 µg/mL, masing-masing sebanyak 3

kali. Dinyatakan masuk syarat jika nilai rata-rata perolehan kembali didapat antara 98,0%-102,0% serta nilai simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Uji presisi, dilakukan dengan menyuntikkan larutan standar sildenafil sitrat 100 µg/mL sebanyak 7 kali pada sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Dinyatakan masuk syarat jika nilai simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Uji batas deteksi, dilakukan perhitungan pada persamaan uji lineritas dengan nilai K : 3 (persamaan 1).

$$Q = \frac{K \times Sb}{SI} \dots\dots\dots(1)$$

Uji batas kuantitasi, dilakukan perhitungan pada persamaan uji lineritas dengan nilai K : 10 (persamaan 2).

$$Q = \frac{K \times Sb}{SI} \dots\dots\dots(2)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

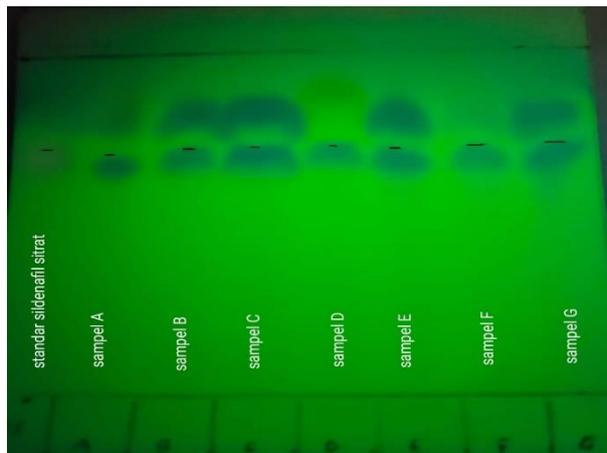
Langkah awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah melakukan uji kualitatif. Uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Fase diam yang digunakan berupa plat Silica Gel GF 254 dengan ukuran 8 x 1 cm. Fase gerak yang semula berupa kloroform : etanol (9,5 : 0,5), tidak mendapatkan hasil yang optimal, sehingga diganti dengan fase gerak berupa methanol : kloroform (4 : 1) (Saraswati *et al.* 2012)

Hasil pada uji kualitatif menunjukkan nilai Rf semua sampel memiliki nilai yang identik dengan Rf standar. Hasil ini menunjukkan semua sampel jamu kuat pria dinyatakan positif mengandung sildenafil sitrat (Gambar 1.1 dan Tabel 1.1).

Langkah selanjutnya melakukan uji kuantitatif terhadap sampel jamu kuat yang teridentifikasi mengandung sildenafil sitrat. Tujuannya untuk mengetahui kadar sildenafil sitrat pada masing-masing sampel jamu kuat pria. Uji kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Fase diam yang digunakan

berupa kolom C18, sedangkan fase gerak yang digunakan berupa campuran metanol p.a : acetonitril p.a : dapar trietilamin pH 3 dengan perbandingan (50 : 30 : 20), modifikasi dari perbandingan (58 : 25 : 17). Laju alir yang digunakan sebesar 1 mL/menit dengan volume injeksi 20 µL. Panjang gelombang yang digunakan sebesar 290 nm (8).

Gambar 1.1. Hasil uji kualitatif dengan lempeng KLT pada standar sildenafil sitrat dan 7 sampel jamu kuat pria



Tabel 1.1. Hasil uji kualitatif

Nama	Jarak komponen	Jarak pelarut	Nilai Rf	Hasil
Standar sildenafil sitrat	4	6	0,67	Positif
Sampel A	3,9	6	0,65	Positif
Sampel B	4	6	0,67	Positif
Sampel C	4	6	0,67	Positif
Sampel D	4	6	0,67	Positif
Sampel E	4	6	0,67	Positif
Sampel F	4	6	0,67	Positif
Sampel G	4	6	0,67	Positif

Validasi metode analisa dilakukan dengan tujuan agar dapat memastikan metode yang akan digunakan menghasilkan data yang akurat untuk penetapan kadar sampel jamu kuat pria. Validasi juga dilakukan karena adanya modifikasi perbandingan fase gerak. Parameter validasi pada penelitian ini meliputi uji kesesuaian sistem, uji presisi, uji akurasi, uji linearitas, uji LOD dan uji LOQ.

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk memastikan metode dan juga perangkat KCKT memiliki tingkat keakuratan yang cukup baik serta stabil untuk penelitian. Uji kesesuaian sistem dilakukan dengan menginjeksikan standar sildenafil sitrat pada konsentrasi 100 µg/mL sebanyak 6 kali pengulangan. Nilai SBR area yang dihasilkan pada penelitian ini sebesar 0,4% dan faktor ikutan sebesar 1,27. Hasil ini menunjukkan uji kesesuaian sistem yang dilakukan untuk standar sildenafil sitrat memiliki kriteria yang sangat baik, karena nilai SBR area yang direkomendasikan tidak lebih dari 0,85% dan faktor ikutan maksimal 1,5 (Anonim, 2012).

Uji presisi dilakukan dengan tujuan untuk memastikan metode yang digunakan mempunyai tingkat ketepatan yang tinggi. Uji ini dilakukan dengan menginjeksikan larutan sildenafil sitrat konsentrasi 100 µg/mL sebanyak 7 kali pengulangan. Nilai SBR area atau kadar yang dihasilkan sebesar 0,7 %.

Uji akurasi dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk memastikan metode yang digunakan mempunyai tingkat keakuratan yang tinggi atau tingkat kedekatan hasil dengan konsentrasi yang sebenarnya. Nilai SBR yang dihasilkan sebesar 1,2 %, dihitung dari perolehan kembali, yaitu hasil bagi antara kadar yang dihasilkan dengan konsentrasi yang sebenarnya dikali 100%. Rata-rata kadar perolehan kembali sebesar 99,98 %. Nilai SBR uji akurasi direkomendasikan tidak lebih dari 2%.

Uji linearitas bertujuan untuk mengetahui kemampuan metode analisa dapat menunjukkan tingkat linearitas antara kadar analit dengan luas area kromatogram. Nilai yang didapat dari uji linearitas berupa persamaan yang menyatakan hubungan antara kadar analit dengan luas area atau disebut dengan koefisien korelasi (r)/regresi. Nilai regresi yang didapatkan pada uji linearitas sebesar (0,9999), sehingga hasil tersebut dapat dikatakan linear dan valid, karena nilai tersebut mendekati (1) seperti yang dipersyaratkan.

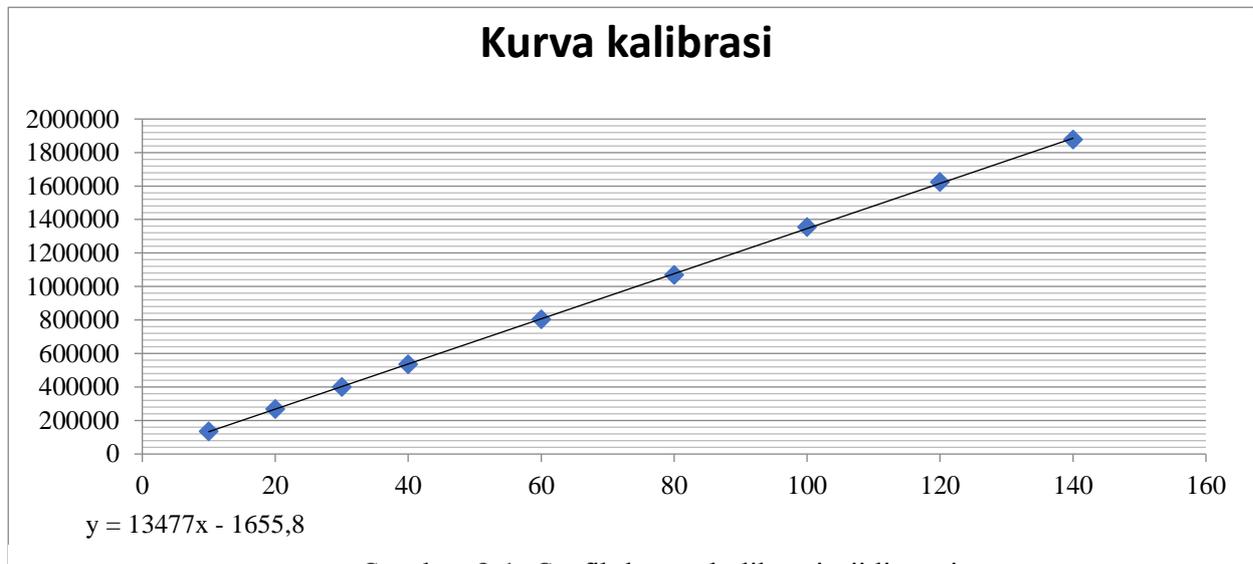
Uji batas deteksi merupakan gambaran konsentrasi terkecil pada

sampel yang masih bisa diukur. Sedangkan uji batas kuantitas merupakan jumlah terkecil analit yang masih bisa memberikan hasil yang akurat dan seksama. Nilai uji batas deteksi dan uji batas kuantitas didapat dari perhitungan yang dihasilkan dari uji linearitas. Nilai uji batas deteksi pada penelitian ini sebesar 0,48 µg/mL dan nilai uji batas kuantitasi sebesar 1,60 µg/mL.

pada menit 3,588 dan luas area kromatogram rata-rata sebesar 1365886,933. Pengujian sampel dilakukan sebanyak 3 replikasi pada setiap sampel, dari semua sampel yang sudah diinjeksikan mempunyai puncak kromatogram yang identik dengan standar sildenafil sitrat dan dengan luas area yang berbeda-beda, hal ini bisa menguatkan hasil analisis yang sebelumnya yaitu menggunakan Kromatografi Lapis Tipis, sehingga dilanjutkan dengan perhitungan kadar pada masing-masing sampel. Kadar yang diperoleh dihitung dengan membandingkan luas area standar sildenafil sitrat dengan luas area masing-masing sampel, hasil akhir diambil nilai rata-rata 3 replikasi kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran dan dihitung kadar sebenarnya dari setiap sampel jamu perkapsul diperoleh sampel A (101,56 mg), sampel B (88,51 mg), sampel C (32,81 mg), sampel D (44,76 mg), sampel E (102,78 mg), sampel F (63,40 mg) dan sampel G (82,62 mg).

Tabel 2.1. Hasil injeksi standar sildenafil sitrat

Konsentrasi	Area	Waktu retensi
100 µg/mL	1366372	3,593
100 µg/mL	1377844	3,592
100 µg/mL	1358274	3,588
100 µg/mL	1360438	3,589
100 µg/mL	1368131	3,586
100 µg/mL	1364261	3,579
Rata-rata	1365886,933	3,588
Simpangan baku	6907,137	0,005
Simpangan baku relatif	0,5	0,1



Gambar 2.1. Grafik kurva kalibrasi uji linearitas

Penetapan kadar pada 7 sampel jamu kuat pria dilakukan dengan kondisi alat yang sama seperti pada saat validasi. Sebelumnya diinjeksikan terlebih dahulu standar sildenafil sitrat sebanyak 6 kali pengulangan, kromatogram dan luas area yang muncul akan dijadikan sebagai acuan pembandingan terhadap sampel yang akan diinjeksikan. Puncak kromatogram standar sildenafil sitrat muncul rata-rata

Penelitian yang dilakukan menunjukkan hasil positif dari semua sampel jamu kuat pria yang beredar di wilayah Bumiayu. Adapun kandungan sildenafil sitrat yang terdapat pada setiap sampel jamu memiliki kadar yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan keberadaan sildenafil sitrat dalam jamu kuat pria yang dilarang masih beredar secara bebas.

KESIMPULAN

1. Semua sampel jamu kuat pria yang beredar di wilayah Bumiayu terindikasi positif mengandung sildenafil sitrat melalui uji kualitatif KLT.
2. Kandungan sildenafil sitrat tertinggi terdapat pada sampel E (102,78 mg) dan terendah pada sampel C (32,81 mg).

Saran

Perlu adanya tindakan yang serius dengan adanya hasil positif pada penelitian ini oleh lembaga yang berwenang, pengawasan perlu diperketat terkait peredaran jamu yang bisa membahayakan masyarakat.

PERNYATAAN OROGINALITAS

“saya menyatakan dan bertanggung jawab dengan sebenarnya bahwa Artikel ini adalah hasil karya saya sendiri kecuali cuplikan dan ringkasan yang masing-masing telah saya jelaskan sumbernya”. [Nur Alimul Hakim-42117055]

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. Public Warning. 2020.
2. Anonim. Obat Tradisional dan Suplemen Kesehatan Pria Mengandung Bahan Kimia Obat. Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2020;4.

3. Pfizer. Product Monograph (Revatio). Canada: Pfizer Canada; 2018. 1–49 p.
4. Waris R, Kadir A, Akbar C. Identifikasi dan Penetapan Kadar Sildenafil Sitrat pada Jamu Kuat Lelaki Yang Beredar Di Kota Makassar. *J Farm As-syifa*. 2013;05(01):8.
5. Tiadisti N, Heldawati. Analisa kualitatif Sildenafil Sitrat Pada Beberapa Produk Jamu Sehat Pria Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis di Wilayah Banjarmasin. *J Curent Pharm Sci*. 2018;1(2):42–7.
6. Setiawan Neysa Marcella; Stephanie, Stephanie; Sukarti, Emi HKK. Validasi Metode Identifikasi Sildenafil Sitrat, Tadalafil Dan Fenilbutazon Dalam Jamu Obat Kuat Secara Kromatografi Lapis Tipis - Densitometri. *J Farm Sains dan Terap*. 2020;7(Vol 7, No 1 (2020): Maret):1–7.
7. Saraswati PY, Kartamihardja H, Firmasnyah A. Analisis Spot Test Bahan Kimia Obat Sildenafil Sitrat Pada Sediaan Jamu. *Indones J Pharm Sci Technol*. 2012;1(2):29–37.
8. Anonim. United States Pharmacopeial (USP). In: The United States Pharmacopeial Convention. 35th ed. 2012. p. 5994.