

BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1 Obat tradisional

2.1.1.1. Pengertian obat tradisional

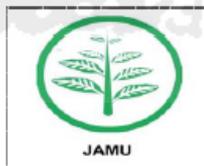
Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 007 Tahun 2012 Tentang Registrasi Obat Tradisional. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat⁽¹⁴⁾.

2.1.1.2. Jenis-jenis obat tradisional

Jenis-jenis obat tradisional menurut badan pengawasan obat dan makanan Nomor : HK.00.05.4.2411 obat tradisional Berdasarkan cara pembuatan serta jenis klaim penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat, Obat Bahan Alam Indonesia dikelompokkan menjadi :

a. Jamu

Jamu merupakan obat tradisional dimana khasiatnya dibuktikan dengan data empiris. Jenis klaim penggunaan sesuai dengan jenis pembuktian tradisional dan tingkat pembuktiannya yaitu tingkat pembuktian umum dan medium. Jenis klaim penggunaan harus diawali dengan kata – kata : “ Secara tradisional digunakan untuk ...”, atau sesuai dengan yang disetujui pada pendaftaran⁽¹⁵⁾.



Gambar 2.1. Logo dan tulisan Jamu

b. Obat Herbal Terstandar

Obat Herbal Terstandar merupakan obat tradisional dengan klain khasiat dibuktikan dengan cara pembuktian ilmiah atau praklinik. Jenis klaim penggunaan sesuai dengan tingkat pembuktian yaitu tingkat pembuktian umum dan medium⁽¹⁵⁾.



Gambar 2.2. Logo dan nama obat herbal

c. Fitofarmaka

Fitofarmaka merupakan obat tradisional dimana klaim khasiat harus dibuktikan berdasarkan uji klinik dan Jenis klaim penggunaan sesuai dengan tingkat pembuktian medium dan Tinggi⁽¹⁵⁾.



Gambar 2.3. Logo dan nama fitofarmaka

2.1.2. Disfungsi ereksi

Disfungsi ereksi (ED) adalah kegagalan untuk mencapai ereksi penis ketika melakukan hubungan seksual. Hal ini biasanya sering disebut dengan impotensi. Tanda dan gejala disfungsi ereksi sulit untuk dideteksi, hal tersebut biasanya pertama kali dirasakan oleh pasangan pasien. Manifestasi yang terjadi pada penderita disfungsi ereksi yaitu depresi, kecemasan dan rasa malu⁽¹⁶⁾.

Pada penelitian cross sectional prevalensi kejadian disfungsi ereksi pada laki-laki dengan umur 20 tahun atau diatas 20 tahun pada populasi laki-laki di amerika serikat sekitar 18,4%. *Crude* Prevalensi kejadian disfungsi ereksi sekitar 50% pada laki laki dengan diabetes. Laki-laki dengan disfungsi ereksi lebih berpotensi untuk mengalami hipertensi dengan aktifitas fisik yang kurang menjadi salah satu faktor yang kuat potensi tersebut⁽¹⁷⁾.

Diagnosa yang digunakan untuk mendiagnosa adanya disfungsi ereksi disusun berdasarkan penyebab terjadinya disfungsi ereksi. Kunci diagnosa didasarkan pada keparahan, riwayat kesehatan, obat-obatan yang sedang dikonsumsi atau telah dikonsumsi, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan laboratorium (yaitu, darah serumglukosa, profil lipid, tingkat testosteron). beberapa kuisioner dapat digunakan untuk mendiagnosa adanya disfungsi

ereksi⁽¹⁶⁾. Pada *The International Index of Erectile Function (IIEF-5) Questionnaire*, ada 5 pertanyaan untuk menilai adanya disfungsi ereksi. Pertanyaan tersebut meliputi perasaan percaya diri ketika mengalami dan mempertahankan ereksi, seberapa kuat usaha dalam mencapai ereksi ketika menggunakan rangsangan seksual, kemampuan dalam mempertahankan ereksi ketika telah terpenetrasi pada pasangan, kemampuan untuk menyelesaikan hubungan seksual sampai menuju ereksi, tingkat kepuasan pasien ketika berhubungan seksual⁽¹⁸⁾.

2.1.3. Obat tradisional sebagai aprodisiak

Menurut kamus besar bahasa Indonesia adalah aprodisiak zat kimia yang digunakan untuk merangsang daya seksual. Obat aprodisiak merupakan obat yang digunakan untuk mengatasi masalah seksual⁽¹⁹⁾. Tanaman yang berkhasiat sebagai aprodisiak diantaranya *Chlorophytum borivilianum* pada akar, *Mondia whitei* pada akar, *Tribulus terrestris* pada semua bagian tanaman, *Crocus sativus* pada stigma, *Myristica fragrans* pada bij, *Phoenix dactylifera* pada serbuk sari, *Lepidium meyenii* pada akar, *Kaempferia parviflora* pada bagian rizoma, *Eurycoma longifolia* pada akar, *Satureja khuzestanica* terdapat pada minyak esensial, *Panax ginseng* pada akar, *Pausinystalia yohimbe* pada kulit, *Fadogia agrestis* pada batang, *Montanoa tomentosa* pada daun dan bunga, *Terminalia catappaseed* dan *Casimiroa edulis* pada biji, *Turnera diffusa* pada daun⁽²⁰⁾.

Saat ini, tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional jamu kuat dipasaran diantaranya yaitu,

a. Ginseng (*panax ginseng*)

Ginseng merupakan salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai aprodisiak. Ginseng atau dengan nama latin *Panax ginseng* merupakan *family* dari Araliaceae. Pemerian simplisia panax ginseng bau lemah, rasa manis, pedas, dan agak pahit. Ginseng mengandung beberapa komponen farmakologi diantaranya golongan tetracyclic triterpenoid saponins (ginsenosides), polyacetylenes, campuran polyphenolic, dan acidic polysaccharides⁽²⁰⁾.

b. *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali)

Eurycoma longifolia Jack atau yang lebih dikenal dengan nama Tongkat Ali merupakan tanaman herbal yang dikenal memiliki efek sebagai *aphrodisiac* dan juga untuk mengobati malaria. Tanaman ini memiliki bentuk sebagaimana berikut yaitu tinggi, berupa pohon semak, merupakan family Simaroubaceae. Daunnya dapat tumbuh hingga panjang sampai 1 m, warna daun hijau dan bentuknya menyirip⁽²¹⁾.

Efek *aphrodisiac* dari *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali) diperoleh dari bagian akar tanaman ini yang mengandung Eurycomanone (C₂₀), 13 α ,21-dihydroeurycomanone, 13 α (21)-epoxyeurycomanone, 13 β -methyl,21-dihydroeurycomanone, 12-Acetyl-13,21-dihydroeurycomanone, 15-Acetyl13 α (21)-epoxyeurycomanone, 12,15-Diacetyl-13 α (21)epoxyeurycomanone, 1 β ,12 α ,15 β -Triacetyleurycomanone. Zat tersebut berefek sebagai *aphrodisiac* dengan cara meningkatkan produksi testosteron dan spermatogenesis⁽²¹⁾.

2.1.4. Obat tradisional mengandung Bahan Kimia Obat (BKO)

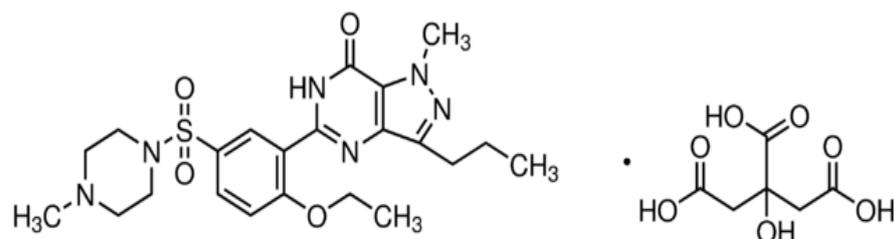
Syarat yang diatur oleh Bahan kimia obat adalah Badan pengawasan obat dan makanan pada no.HK.00.05.41.1384 tahun 2005, bahwa obat tradisional tidak boleh mengandung bahan kimia obat, yaitu bahan kimia hasil isolasi atau sintetik berkhasiat obat⁽³⁾. Dari data yang diperoleh dari laporan badan pengawas obat dan makanan bahan kimia obat yang sering ditambahkan pada obat tradisional di antaranya parasetamol, fenilbutazon, natrium diklofenak, indometasin, deksametason, CTM, piroksikam, prednison, sibutramin, sildenafil sitrat, tadalafil⁽²²⁾.

Pada tahun 2006 beberapa obat tradisional jamu kuat atau suplemen pria yang mengandung sildenafil sitrat dan tadalafil sebanyak 13 merk obat tradisional ditarik dan dimusnahkan karena mengandung bahan kimia obat. Pada 30 november 2015 sekitar 4 obat tradisional produksi dalam negeri dilaporkan mengandung kandungan sildenafil sitrat. Pada 24 agustus 2015 badan pengawas obat dan makanan melaporkan 50 obat tradisional baik dalam maupun produk importir dilaporkan mengandung sildenafil sitrat dan atau dengan tadalafil⁽⁵⁾.

Perbuatan menambahkan Bahan kimia obat pada obat tradisional melanggar peraturan yang berlaku di Indonesia yang mempersyaratkan bahwa obat bahan alam dan jamu tidak diperbolehkan mengandung BKO. Hal ini sangat berbahaya, karena obat bahan alam dan jamu seringkali digunakan dalam jangka waktu lama dan dengan takaran dosis yang tidak dapat dipastikan Walaupun efek penyembuhannya segera terasa, tetapi akibat penggunaan BKO yang tidak terkontrol dengan dosis yang dapat dipastikan, dapat menimbulkan efek samping yang serius, mulai dari mual, diare, pusing, sakit kepala, gangguan penglihatan, nyeri dada sampai pada kerusakan organ tubuh yang parah seperti kerusakan hati, gagal ginjal, jantung, bahkan sampai menyebabkan kematian⁽²⁾.

2.1.5. Sildenafil sitrat

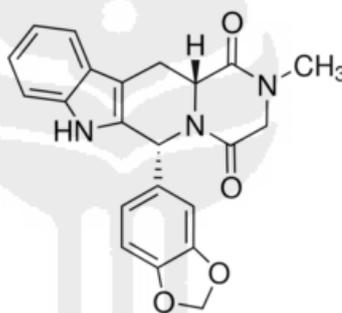
Sildenafil sitrat memiliki bentuk kristal putih sampai hampir putih, tidak berbau, dengan formula empiris $C_{22}H_{30}N_6O_4S \cdot C_6H_8O_7$. Nama lain dari sildenafil sitrat yaitu Piperazine,1-[[3-(6,7-dihydro-1-methyl-7-oxo-3-propyl-1H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-5-yl)-4-ethoxyphenyl]sulfonyl]-4-methyl-, 2 hydroxy-1,2,3-propanetri carboxylate (50:50), dengan berat molekul 666,70 g/mol⁽²³⁾. Kelarutan sildenafil sitrat yaitu larut dalam air, larut dalam metanol dan sangat sedikit larut dalam dapar fosfat pH 7,4 dan praktis tidak larut dalam n-heksana. Dengan mekanisme kerja sildenafil sitrat yaitu inhibitor selektif siklik guanosin monofosfat (cGMP) spesifik phosphodiesterase tipe 5 (PDE-5). sildenafil akan meningkatkan konsentrasi cGMP melalui penghambatan pada PDE-5 dan menghasilkan relaksasi otot polos serta meningkatkan aliran darah ke *corpus cavernosum*, sehingga meningkatkan respon ereksi selama terjadi rangsangan seksual yang tepat. Berikut ini adalah struktur kimia dari sildenafil sitrat :



Gambar 2.4. Struktur Kimia Sildenafil sitrat⁽²³⁾

2.5.6. Tadalafil

Tadalafil memiliki bentuk serbuk hablur putih sampai hampir putih, dengan formula empiris $C_{22}H_{19}N_3O_4$. Nama lain dari tadalafil yaitu (6R-trans)-6-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-2,3,6,7,12,12a-hexahydro-2-methylpyrazino (1',2':1,6) pyrido (3,4-b) indole-1,4-dione, dengan berat molekul 389,41 g/mol. Tadalafil memiliki kelarutan praktis tidak larut dalam air ⁽²⁴⁾, dengan mekanisme kerja inhibitor selektif siklik guanosa monofosfat (cGMP) spesifik phosphodiesterase tipe 5 (PDE-5). Tadalafil akan meningkatkan konsentrasi cGMP melalui penghambatan pada PDE-5 dan menghasilkan relaksasi otot polos serta meningkatkan aliran darah ke *corpus cavernosum*, sehingga meningkatkan respon ereksi selama terjadi rangsangan seksual yang tepat. Berikut ini adalah struktur kimia tadalafil :



Gambar 2.5. Struktur Kimia Tadalafil

2.5.7. KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam satu sampel. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Kromatografi merupakan teknik pemisahan berdasarkan perbedaan kecepatan elusi satu solut atau zat terlarut dalam melewati kolom kromatografi. Fase gerak cair dialirkan melalui kolom dengan bantuan pompa menuju detektor. Prinsip pemisahan KCKT yaitu pemisahan berdasarkan afinitasnya dengan fase diam dan fase gerak, afinitas tersebut ditentukan oleh kepolaran senyawa apakah sesuai dengan fase gerak atau fase diam. Terdapat dua jenis elusi dalam KCKT yaitu isokratik dan gradien.

Isokratik menggunakan komposisi solven yang konstan dipompakan selama analisis berlangsung, sehingga selama proses komposisi solven tidak berubah. Sedangkan pada jenis elusi gradien berarti selama elusi komposisi solven dan kekuatan elusi berubah^(25,26).

2.5.7.1. Instrumentasi

Komponen–komponen utama pada KCKT diantaranya (gambar 2.6.):

1. Tempat/wadah fase gerak

Wadah yang digunakan harus bersih dan inert. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* untuk menghilangkan udara. Adanya pengotor atau partikel kecil dapat mengganggu kromatografi sehingga fase gerak harus di saring terlebih dahulu.

2. Sistem penghantaran fase gerak

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri dari campuran pelarut yang dapat bercampur dan secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan disolusi. Sistem fase gerak dapat digunakan dengan isokratik, komposisi fase gerak tetap sama selama elusi atau gradient komposisi fase gerak berubah-ubah selama elusi. Pompa yang digunakan pada KCKT harus inert dengan terhadap fase gerak. Tujuan digunakannya pompa adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara cepat reproduksibel, konstan dan bebas gangguan.

4. Alat pemasukkan sampel (injektor)

Sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung kedalam fase gerak yang mengalir dibawah tekanan menuju kolom. Pada saat pengisian sampel, sampel digelontorkan dan kelebihananya dikeluarkan ke pembuang. Pada saat penyuntikan, katup diputar sehingga fase gerak melewati sampel dan menuju kolom.

5. Kolom

Kolom merupakan salah penentu keberhasilan pada proses kromatografi. Hal tersebut terkait pemilihan kolom dan kondisi yang sesuai. Kolom terbagi menjadi dua diantaranya kolom preparative dan kolom analitik.

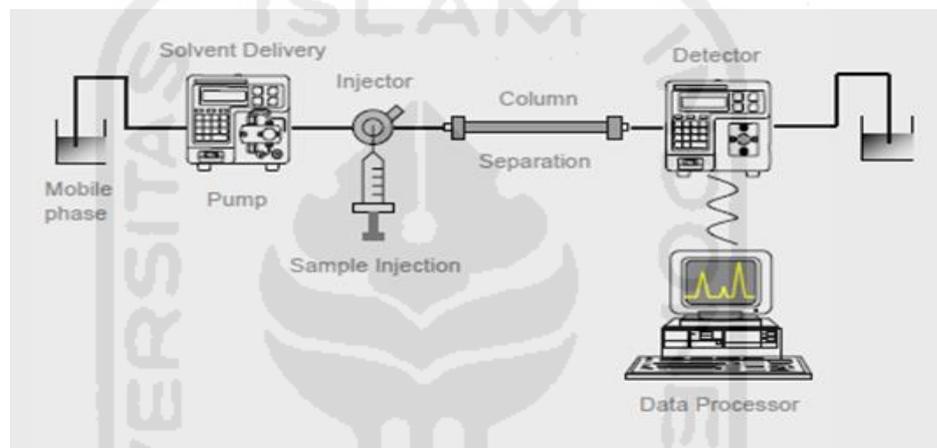
6. Detektor

Secara umum pada KCKT terbagi menjadi dua yaitu universal yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak spesifik dan tidak bersifat selektif misalnya detektor indeks bias dan detektor spektrofotometri massa. Sedangkan detektor spesifik, hanya mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, misalnya detektor UV-Vis, elektrokimia dan fluoresensi.

7. Tempat/wadah pembuangan.

8. Slang/pipa penghubung.

9. Komputer, integrator dan rekorder^(15,16).



Gambar 2.6. Instrumentasi KCKT⁽²⁵⁾

KCKT atau *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Pemisahan dengan KCKT didasarkan pada interaksi dan perbedaan afinitas sampel terhadap fase gerak dan fase diam. Metode kromatografi yang umumnya digunakan diantaranya :

1. Kiral
2. *Ion exchange*
3. *Ion pair/affinity*
4. Fase normal
5. Fase terbalik
6. Kromatografi eksklusi ukuran⁽²⁶⁾.

2.5.8. Uji Kesesuaian Sistem

Kesesuaian sistem didefinisikan sebagai serangkaian uji untuk menjamin bahwa metode tersebut dapat menghasilkan akurasi dan presisi yang dapat

diterima. Uji kesesuaian sistem lebih sering diterapkan pada instrumen analisis dan dirancang untuk mengevaluasi komponen dalam sistem analisis. Uji kesesuaian sistem yang dilakukan diantaranya dengan menghitung faktor kapasitas, resolusi, faktor *tailing* dan jumlah plat teoritis (N)^(12,13).

2.5.8.1.Faktor kapasitas

Faktor kapasitas (k') adalah parameter yang digunakan untuk menggambarkan kecepatan migrasi senyawa pada kolom. Faktor kapasitas umumnya digunakan sebagai parameter kesesuaian sistem dibanding waktu retensi, karena waktu retensi dinilai tidak terlalu sensitif terhadap perubahan kondisi kromatografi. Bila satu senyawa berbeda memiliki perbedaan faktor kapasitas yang besar maka akan terjadi pemisahan. Nilai faktor kapasitas menunjukkan waktu yang dibutuhkan senyawa tertahan pada kolom. Nilai faktor kapasitas (k') yang dapat diterima adalah $k' > 2$. Jika faktor kapasitas < 2 , elusi terjadi lebih cepat sehingga penentuan waktu retensi yang akurat sangat sulit dan menunjukkan bahwa senyawa tidak tertahan oleh fase diam. Jika faktor kapasitas > 20 (antara 20 - 30), elusi menjadi terlampaui panjang dan menunjukkan bahwa analit terlalu tertahan oleh fase diam⁽¹³⁾.

2.5.8.2. Resolusi

Resolusi (R) menyatakan seberapa baik pemisahan antara dua puncak yang berdekatan, dengan tujuan agar kuantitasi yang dihasilkan dapat dipercaya. Pemisahan yang baik memiliki nilai resolusi > 2 menunjukkan bahwa pemisahannya mencapai 99,7% dan menunjukkan pemisahan yang baik antar puncak senyawa yang berdekatan^(11,13).

2.5.8.3. Faktor *tailing*

Faktor *tailing* menunjukkan pengukuran asimetris puncak. Sehingga semakin tinggi nilainya semakin menurun keakuratan pengukuran. *Tailing*(pengekoran) terjadi karena kesulitan dalam menentukan kapan puncak tersebut berakhir. Faktor *tailing* pengukurannya didasarkan pada perhitungan luas

area dibawah puncak. Nilai faktor $tailing \leq 2$ menunjukkan tidak adanya pengekoran pada kromatografi⁽¹³⁾.

2.5.8.4. Jumlah plat teoritis

Jumlah plat teoritis (N) merupakan ukuran efisiensi kolom, yaitu banyaknya puncak yang ditemukan dalam tiap unit dalam kromatografi. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi jumlah plat teoritis diantaranya posisi puncak, ukuran partikel dalam kolom, suhu kolom, viskositas fase gerak, laju alir fase gerak, dan berat analit molekuler. Efisiensi kolom dinyatakan baik apabila $N > 2000$ ⁽¹³⁾.

2.5.9. Validasi Metode

Validasi metoda analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya^(11,13). Pemilihan metodologi didasarkan pada beberapa pertimbangan seperti sifat analit, konsentrasi sampel dalam membran, kecepatan dan biaya analisis serta jenis pengukuran kualitatif atau kuantitatif. Metode kualitatif menghasilkan informasi berupa identitas kimia suatu jenis senyawa dalam sampel dalam sampel. Sedangkan Metode kuantitatif memberikan informasi berupa angka terkait jumlah analit dalam sampel⁽²⁷⁾.

2.5.9.1. Seleksi Parameter Analitik

Parameter analitik yang diperlukan untuk validasi dapat bervariasi bergantung pada tipe prosedur analitik (tabel 2.1.). Metode yang digunakan untuk pemeriksaan produk farmasetika dapat diklasifikasikan diantaranya :

1. Identifikasi : metode analitikal untuk memastikan identitas sebuah analit.
2. Uji kemurnian : metode analitikal untuk memastikan bahwa seluruh prosedur untuk uji kemurnian merupakan prosedur yang akurat. Terkait dengan uji zat, logam berat, residu pelarut dll.

Tabel 2.1.Parameter validasi metode analitik⁽²⁸⁾.

Parameter Performa Analitik	Identifikasi	Uji kemurnian		Assay (content and potency)
		Kuantitatif	Batas tes	
Akurasi	Tidak	Ya	Tidak	Ya
Presisi				
Repeatabilty	Tidak	Ya	Tidak	Ya
Interm. presisi	Tidak	Ya*	Tidak	Ya*
Spesifitas	Ya	Ya	Ya	Ya
Batas deteksi	Tidak	Tidak**	Ya	Tidak
Batas kuantitasi	Tidak	Ya	Tidak	Tidak
Linearitas	Tidak	Ya	Tidak	Ya
Rentang	Tidak	Ya	Tidak	Ya

* dalam beberapa kasus ketika *reproducibility* telah dilakukan, maka tidak perlu dilakukan

**mungkin dibutuhkan, pada beberapa kasus bergantung pada sifat tes yang spesifik

3. Assay (potensi dan konten) : Metode analitik ini untuk memberikan hasil yang tepat mengenai potensi adanya analit dalam sebuah sampel dengan pernyataan yang akurat⁽²⁸⁾.

2.5.9.2. Parameter Analisis

2.5.9.2.1. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, 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^(27,29).

Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Untuk menentukan linearitas dalam prakteknya digunakan satu seri larutan yang berbeda konsentrasinya antara 50 – 150 % kadar analit dalam sampel atau menggunakan rentang konsentrasi antara 0 – 200%. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linier :⁽²⁷⁾

$$y = b(x) + a \quad (2.1)$$

2.5.9.2.2. Spesifisitas

Spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Spesifisitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cecaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan⁽²⁷⁾.

Spesifisitas metode ditentukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung cecaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya atau pembawa dengan hasil analisis sampel tanpa penambahan bahan-bahan⁽¹⁷⁾.

2.5.9.2.3. Akurasi (kecermatan)

Akurasi menunjukkan kedekatan nilai hasil analisis dengan nilai sebenarnya atau nilai yang dapat diterima. Nilai yang didapat dapat berupa nilai individu, rata-rata nilai dari replikasi hasil pengukuran atau rata-rata nilai dari beberapa set pengukuran. Apabila analit bebas matriks tidak tersedia (*analyte - free matrix*), dapat digunakan standar analit. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan⁽⁵⁾. Nilai kadar untuk akurasi yang direkomendasikan 80%, 100% dan 120%. Untuk data perolehan kembali dilakukan tiga replikasi tiap kadar⁽⁶⁾. Persen perolehan kembali seharusnya tidak melebihi nilai presisi RSD^(16,17).

Perhitungan perolehan kembali dapat juga ditetapkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Perolehan kembali} = \frac{(C_F - C_A)}{C^*_A} \times 100 \quad (2.2)$$

- C_F : konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran
- C_A : konsentrasi sampel sebenarnya
- C^*_A : konsentrasi analit yang ditambahkan

2.5.9.2.4. Presisi (keseksamaan)

Presisi adalah ukuran menunjukkan kedekatan suatu nilai dengan nilai lainnya pada sejumlah pengukuran dengan kondisi analisis yang sama⁽²⁹⁾. Keseksamaan juga merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual yang diterapkan secara berulang pada sampel yang homogen. Oleh karena itu, apabila larutan sampel yang digunakan untuk uji presisi harus dilakukan uji homogenitas untuk memastikan bahwa sampel homogen⁽²⁷⁾. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif. Presisi dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. Keterulangan dinilai melalui pelaksanaan penetapan terpisah lengkap terhadap sampel-sampel yang terpisah dari *batch* yang sama, jadi memberikan ukuran keseksamaan pada kondisi yang normal. Ketertiruan adalah keseksamaan metode jika dikerjakan pada kondisi yang berbeda^(7,17).

Tabel 2.2 Kriteria penerimaan presisi⁽¹¹⁾.

Konsentrasi	Repitabilitas (RSD) %
100%	1
10%	1,5
1%	2
0,1%	3
0,01%	4
10 µg/g (ppm)	6
1 µg/g	8
10µg/kg (ppb)	15

Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku atau koefisien variasi 2% atau kurang. Akan tetapi kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium(tabel 2.2.). Pada beberapa penelitian dijumpai bahwa koefisien variasi meningkat dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis⁽¹⁷⁾. Keseksamaan dapat dihitung dengan rumus :

1. Standar deviasi

SD merupakan akar jumlah kuadrat deviasi masing-masing hasil penetapan terhadap *mean* dibagi dengan derajat kebebasannya (*degrees of freedom*)⁽²⁹⁾.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(P-Pr)^2}{n-1}} \quad (2.3)$$

P : nilai dari masing – masing pengukuran

Pr : rata-rata dari pengukuran

n : frekuensi penetapan

n – 1 : derajat kebebasan

2. Standar deviasi relatif

$$CV = \frac{SD}{Pr} \times 100 \% \quad (2.4)$$

2.5.9.2.5. *Limit of Detection dan Limit of Quantitation*

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier $y = a + bx$, sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x)^(9,29).

Batas deteksi :

$$LOD = \frac{3.3 \times sy/x}{b} \quad (2.5)$$

Batas kuantitasi :

$$LOQ = \frac{10 \times sy/x}{b} \quad (2.6)$$

Sy/x : simpangan baku respon analitik blanko

b : slope

2.5.9.2.6. Kekuatan (Robustness)

Kekuatan merupakan kapasitas metode untuk tetap tidak terpengaruh oleh adanya variasi parameter metode yang kecil. Kekuatan dievaluasi dengan melakukan variasi parameter-parameter metode seperti: persentase pelarut oraganik, pH, kekuatan ionik, suhu, dan sebagainya. Suatu praktek yang baik untuk mengevaluasi kekuatan suatu metode adalah bervariasi parameter-parameter penting dalam suatu metode secara sistematis lalu mengukur pengaruhnya pada pemisahan.

2.5.10. Ketidakpastian (*Uncertainty*)

Ketidakpastian (*Uncertainty*) merupakan suatu parameter yang menetapkan rentang nilai dimana di dalam rentang tersebut diperkirakan ada nilai benar yang diukur. Ketidakpastian pengukuran dilakukan apabila hasil pengujian memberikan nilai angka (numerik). Ketidakpastian merupakan persyaratan yang diharuskan dalam sistem akreditasi berdasarkan ISO/IEC 17025-2005. Sumber-sumber ketidakpastian antara lain adalah sampling, preparasi cuplikan, kalibrasi peralatan, kesalahan random, kesalahan sistematis, dan kapabilitas personil⁽¹⁰⁾. Ketidakpastian pengukuran terdiri dari beberapa komponen yang dapat diklasifikasikan menurut metode yang digunakan. Adapun komponen ketidakpastian terdiri dari tipe A (dari data primer) yang berdasarkan pekerjaan eksperimental dan dihitung dari rangkaian pengamatan berulang, dan tipe B (dari data sekunder) yang berdasarkan informasi yang dapat dipercaya, seperti sertifikat⁽⁹⁾. Ketidakpastian yang berasal dari pengaruh sistematis yang dalam suatu kasus dievaluasi dengan evaluasi tipe A, dalam kasus yang lain dengan evaluasi tipe B demikian juga komponen ketidakpastian yang berasal dari pengaruh acak⁽¹⁰⁾.

2.6. Landasan teori

Penggunaan obat tradisional dengan bahan kimia obat sildenafil sitrat dan tadalafil tanpa memperhatikan dosis, mutu dan keamanan sangat berbahaya bagi kesehatan tubuh manusia karena efek samping yang ditimbulkan oleh bahan kimia obat tersebut. Oleh karena itu, dilakukan pengujian bahan kimia obat dalam obat tradisional yang beredar di pasaran perlu dilakukan secara rutin. Selain dapat

memberikan informasi kadar sildenafil sitrat dan tadalafil hal ini juga sebagai bentuk pengawasan terhadap produk pada obat tradisional.

Pada penelitian terdahulu menggunakan metode KLT densitometri, namun untuk hasil akurasi tidak terlalu baik. Pada penelitian ini, menggunakan metode kromatografi cair kinerja tipis (KCKT) karena memiliki beberapa keunggulan yaitu spesifitas yang tinggi, mampu memisahkan dua kandungan dalam satu sampel, dan penggunaannya relatif cepat. Pengembangan pada penelitian ini yaitu metode yang menjadi acuan menggunakan campuran fase gerak dengan komposisi pelarut organik lebih banyak yaitu dengan perbandingan 60:40. Penggunaan pelarut organik tidak begitu menguntungkan berkaitan dengan masalah biaya, sehingga penelitian ini melakukan modifikasi dengan merubah komposisi fase gerak pada pelarut organik yang lebih sedikit, dengan perbandingan fase gerak 50:50. Setiap metode baru dikembangkan harus dilakukan upaya pembuktian keandalannya sehingga perlu dilakukan proses validasi. Parameter validasi menurut ICH (*International Conference On Harmonization*) meliputi uji kesesuaian sistem, spesifisitas, linearitas, presisi, akurasi, LOD dan LOQ, *robustness*. Selain itu, perlu ditambahkan beberapa parameter lain seperti uji kesesuaian sistem dan pengukuran ketidakpastian (*uncertainty*) yang merupakan suatu parameter yang menetapkan rentang nilai yang didalamnya diperkirakan nilai benar yang diukur berada.

2.3.Hipotesis

1. Metode yang digunakan telah memenuhi kriteria parameter *Association of Official Analytical Chemist (AOAC) Guideline for Single Laboratory Validation of Chemical Method for Dietary Supplements and Botanicals* dan *ICH (International Conference On Harmonization)*
2. Metode analisis yang digunakan dapat menganalisis kandungan sildenafil sitrat dan tadalafil secara simultan pada jamu kuat.