

Studi Recovery Dutasteride dalam Pelarut Organik terhadap Dutasteride Terlarut dalam Plasma Darah Manusia*Study of Recovery of Dutasteride in Organic Solvents against Dutasteride Dissolved in Human Blood Plasma*Marius Agung Sasmita Jati¹, Heni Febriani^{2*}, Eva Runi Khristiani³¹Program Studi D3 Teknologi Bank Darah STIKES Wira Husada | agungsj85@gmail.com²Program Studi Kesehatan Masyarakat S1 STIKES Wira Husada | febrianiheni1987@gmail.com³Program Studi D3 Teknologi Bank Darah STIKES Wira Husada | khristianieva@gmail.com*Korespondensi Penulis : febrianiheni1987@gmail.com**Abstrak**

Latar belakang: Obat *Dutasteride* tergolong dalam obat golongan keras, yang merupakan obat yang tidak boleh diberikan pada wanita dan wanita hamil memberikan cacat pada bayi laki-laki, merupakan salah satu obat yang dilarang dikonsumsi saat donor darah dan jika seseorang ingin mendonorkan darah harus menghentikan minimal 6 bulan sebelum donor. Belum ada penelitian yang menggunakan Spektrofotometer UV-Vis untuk menganalisis residu obat *Dutasteride* dalam plasma darah. Pengujian secara kualitatif dan kuantitatif obat *Dutasteride* dalam plasma darah manusia menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan mencari *recovery* kadar dari ekstraksi 2 tahap.

Tujuan: Melakukan studi *recovery* kadar *Dutasteride* dalam plasma darah dengan metode yang diusulkan, menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Metode: Penelitian ini menggunakan metode eksperimental (bioanalisis) yaitu dengan menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis untuk menguji kadar obat *Dutasteride* secara kualitatif terdapat dalam plasma darah

Hasil: Didapat yaitu *recovery* total sebesar 64,992%. Ekstraksi dan penambahan reagen BTB dapat menyeleksi senyawa yang tidak dianalisis dalam penelitian ini

Kesimpulan: Studi Kualitatif dan Kuantitatif yang dilakukan menunjukkan bahwa Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk memeriksa kadar 0,006 ppm *Dutasteride* dan penggunaan reagen BTB dapat berfungsi untuk menyeleksi puncak yang tidak dianalisis.

Kata Kunci: *Dutasteride*; Spektrofotometer UV-Vis; *Recovery*

Abstract

Introduction: Breastfeeding is a natural thing experienced after the birth process. Types of industrial workplaces have different characteristics in terms of the kind of work and lactation infrastructure for workers. Labour is one type of female worker at risk of stopping breastfeeding due to the many inhibiting factors in the workplace. These barriers will affect their decision to continue breastfeeding exclusively or not.

Objective: Conducted a recovery study of *Dutasteride* levels in blood plasma with the proposed method, using a UV-Vis Spectrophotometer.

Method: This study uses a quantitative approach and a cross-sectional design. Sixty-eight of the research respondents were female workers in the manufacturing industry who filled out a questionnaire distributed online. The study was conducted from July – September 2022. The analysis was performed using the chi-square test to examine the significant relationship between work shift variables, time flexibility, and lactation space on exclusive breastfeeding variables.

Result: The results of the study found that breastfeeding breaks (p -value 0.001, OR = 9.211), and lactation rooms (p -value 0.0004, OR = 6.067) had a significant relationship with the continuation of exclusive breastfeeding to female workers in the industry.

Conclusion: The qualitative and quantitative studies conducted showed that the UV-Vis Spectrophotometer could be used to measure *Dutasteride* 0.006 ppm levels and the use of the BTB reagent could serve to select peaks that were not analyzed.

Keywords: *Dutasteride*; Spectrophotometer UV-Vis; *Recovery*

PENDAHULUAN

Obat *Dutasteride* merupakan obat yang sering digunakan untuk untuk pengobatan, pencegahan terapi perkembangan Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) dengan mengurangi gejala yang muncul, mengurangi ukuran prostat (volume), meningkatkan kecepatan aliran urin, mengurangi risiko retensi urin akut dan mengurangi pembedahan akibat BPH. Dalam kombinasi dengan alfa bloker tamsulosin, diindikasikan untuk pengobatan simptomatik BPH moderat sampai berat pada pria dengan pembesaran prostat (1). Pada beberapa kasus untuk pasien yang mengalami kerontokan rambut juga menggunakannya (2), pada beberapa kasus juga diujikan kepada pasien pria dengan gejala Androgenetic Alopecia yang terbukti efektif (3). *Dutasteride* merupakan obat golongan keras yang penggunaannya dalam pengawasan dokter. Efek samping yang ditimbulkan dari obat ini secara umum yaitu impotensi, terganggunya ejakulasi, potensi kanker payudara, pasien mengalami hipersensitivitas, gangguan psikologis. Pada tahun 2020 permasalahan mengenai obat ini timbul kembali, yaitu pada saat terjadinya pandemi COVID-19 dan tingginya permintaan untuk donor plasma darah (Donor Plasma Konvalesen) dari penyintas COVID-19 (4). Inilah yang menjadi perhatian utama dalam penelitian ini. Konfirmasi mengenai studi recovery atau studi mengenai kandungan *Dutasteride* setelah perlakuan ekstraksi dalam plasma darah belum pernah dikaji. Hal ini juga menjadi perhatian utama selama kurun waktu hingga tahun 2022, karena *Dutasteride* mempunyai efek yang berbahaya terutama untuk janin laki-laki dan mempunyai kemampuan retensi serum yang akan diberikan untuk pasien (5).

Penggunaan Obat *Dutasteride* biasanya bersamaan dengan Tamsulosin atau Alfuzosin. Pada penggunaan *Dutasteride* dengan Tamsulosin (6) yang berfungsi antagonis selektif pada adrenoseptor α -1A dan α -1B di prostat, kapsul prostat, uretra prostat, dan leher kandung kemih. Sedangkan untuk *Dutasteride* dan Alfuzosin (7) merupakan alfa-adrenergik blocker [1,2] yang berfungsi melemaskan otot-otot di prostat dan leher kandung kemih, sehingga lebih mudah untuk buang air kecil. Ini digunakan untuk meningkatkan buang air kecil pada pria dengan hiperplasia prostat jinak.

Dutasteride dijadikan pilihan yang rasional untuk monoterapi yaitu pengobatan gejala Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) pada pria dengan pembesaran prostat. Diterapkan juga untuk Terapi kombinasi dengan alpha blocker, tamsulosin, diindikasikan untuk pengobatan BPH simptomatik sedang hingga berat pada pria dengan pembesaran prostat. Dapat juga diberikan sendiri atau dalam kombinasi dengan alpha blocker, tamsulosin, telah terbukti mengurangi ukuran prostat, meningkatkan aliran urin dan gejala BPH. *Dutasteride* yang diberikan sebagai monoterapi telah terbukti mengurangi risiko retensi urin akut (AUR) dan kebutuhan untuk operasi BPH. Terapi kombinasi juga telah terbukti secara signifikan terhadap monoterapi tamsulosin tetapi bukan monoterapi *dutasteride* dalam mengurangi risiko relatif operasi terkait AUR atau BPH (8).

Penggunaan obat *Dutasteride* hanya untuk pria. Paparan Risiko terjadi pada Wanita dan pada Janin Pria. *Dutasteride* diserap melalui kulit, sehingga wanita yang sedang hamil tidak boleh terpapar *Dutasteride* dalam darahnya. Hal ini mengakibatkan tidak bolehnya pasien yang mempunyai terapi *Dutasteride* untuk mendonorkan darahnya (2). Apabila terdonorkan maka penerima donor (wanita hamil) akan mempunyai anak laki-laki yang cacat.

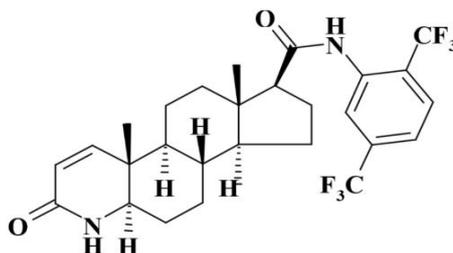
Secara teori *Dutasteride* mengalami metabolisme secara ekstensif di hati oleh isoenzim sitokrom P450 (CYP) CYP3A4 dan CYP3A5. Dua metabolit minor (6,4'-dihydroxydutasteride dan 15-hydroxydutasteride) dan tiga metabolit utama (4'-hydroxydutasteride, 1,2-dihydroxydutasteride, dan 6-hydroxydutasteride) diidentifikasi ada di dalam serum manusia. Dari metabolit ini, hanya 6-beta-hydroxydutasteride yang mempertahankan aktivitas yang sebanding dengan *dutasteride*. *Dutasteride* dan metabolitnya terutama diekskresikan dalam tinja (5% tidak berubah dan 40% sebagai metabolit). Kurang dari 1% *dutasteride* ditemukan tidak berubah dalam urin dan 55% dari dosis tidak terhitung. Pada kondisi mapan, waktu paruh eliminasi terminal *dutasteride* kira-kira lima minggu. Konsentrasi serum mencapai 65% keadaan stabil setelah pemberian dosis harian selama satu bulan dan 90% setelah tiga bulan dan tetap dapat dideteksi hingga empat hingga enam bulan setelah penghentian pengobatan (9).

Penelitian mengenai metode bioanalisis ini terutama kandungan zat obat pada plasma darah sudah banyak dilakukan. Alat yang digunakan berupa Spektrofotometer UV-Vis. Penelitian mengenai *Dutasteride* yang terlarut dalam pelarut organik menyerupai fisiologis manusia juga telah dilakukan (10), menggunakan alat spektrofotometer dan memvalidasinya. Disimpulkan bahwa hasil yang didapatkan akurat, cepat, tepat, dapat diulang, ekonomis serta nilai korelasi dapat diterima untuk co-efisien, akurasi dan ketahanan. Kelebihan dari penelitiannya adalah kemudahan dari preparasi sampel dan penggunaan reagen yang sangat selektif. Dari penelitiannya tersebut menjadi suatu solusi dalam penentuan *Dutasteride* dalam plasma darah.

Penelitian mengenai *Dutasteride* dengan dimodifikasi metode Vierordt juga dikaji (6) menggunakan suatu alat yaitu Spektrofotometer UV-Vis. Penelitiannya juga dapat dikuatkan (7) yaitu Pengembangan metode dan validasi Alfuzosin HCl dan *Dutasteride* dalam bentuk sediaan farmasi oleh RP-HPLC. Hasil dari penelitiannya adalah terbukti efektif untuk penentuan *Dutasteride* dari tablet yang larut dalam pelarut fisiologis.

Saat ini belum terdapat penelitian mengenai *Dutasteride* yang dianalisis kandungannya dalam plasma darah menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dalam penelitian ini akan mengkaji recovery kadar obat *Dutasteride* dalam plasma darah menggunakan Spektrofotometer UV-Vis yang pernah dilakukan (11) secara teori *Dutasteride* ini

merupakan senyawa dengan gugus kromofor yang dapat mengabsorpsi warna. Struktur molekul dari obat Dutasteride ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Struktur kimia Dutasteride

Dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimental (bioanalisis) yaitu dengan menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis untuk menguji kadar obat Dutasteride yang terdapat dalam plasma darah serta memberikan suatu bukti bahwa Spektrofotometer UV-Vis juga dapat digunakan dalam menganalisis secara kualitatif untuk kadar Dutasteride yang dalam plasma darah. Diperlukan juga reagen BTB (Bromotimol Biru) untuk memperkuat serapan secara selektif. Mengingat jika masih terdapat sisa obat Dutasteride maka donor darah tidak bisa dilakukan. Kadar yang didapatkan dalam setiap variasi uji dipelajari sebagai studi recovery.

Penggunaan Spektrofotometri UV-Vis merupakan solusi dalam bioanalisis suatu sample darah manusia. Jika penggunaan spektrofotometer UV-Vis dapat menguji secara kualitatif suatu larutan berwarna atau suatu senyawa yang mempunyai gugus kromofor, dan Spektrofotometer UV-Vis mempunyai ketelitian dan keakuratannya yang dapat dibandingkan atau diuji komparasi dengan menggunakan data instrumen maka apakah dapat menganalisis secara kualitatif kandungan Obat Dutasteride dalam plasma darah manusia.

METODE

Jenis penelitian ini termasuk dalam eksperimental quasi. Eksperimen kuasi adalah eksperimen yang memiliki perlakuan (treatments), pengukuran-pengukuran dampak (*outcome measures*), dan unit-unit eksperimen (*experimental units*) serta tidak menggunakan penempatan secara acak (12). Quasi Experimental Design juga merupakan pengembangan dari True Experimental Design, Desain ini memiliki kelompok kontrol, namun tidak bisa berfungsi secara penuh untuk mengontrol variabel-variabel eksternal yang mempengaruhi pelaksanaan eksperimen/percobaan. Desain tidak memberikan batasan yang ketat terhadap cara random, dan pada saat yang sama dapat juga mengontrol hal yang mengurangi validitas.

Lokasi penelitian ini terletak di Laboratorium Kimia Instrumentasi Organik FMIPA UGM dan Laboratorium terpadu STIKES Wira Husada Yogyakarta. Waktu penelitian akan dilakukan pada bulan Februari - Desember 2022. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1800 240V, Frezzer, Sentrifuse, tabung EDTA, Syringe 3 cc, tabung sentrifuse, mortar penggerus, pH meter, Shaker, Labu ukur, Mikropipet, Botol Reagen

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini : Kloroform (p.a.) E-Merck, methanol-0.1% (p.a.) E-Merck, Buffer fisiologis (phosfat) pH 5.3, Akuatridestilata, Kantong Plasma Darah dengan Golongan Darah AB, Tablet obat Dutasteride, Standar Internal Dutasteride, Tisu atau kapas pembersih, Alkohol 99% teknis.

Membuat larutan induk sample dilakukan dengan cara menimbang dengan seksama 2 tablet dutasteride seberat 1,21 gram selanjutnya melarutkan 2 isi soft tablet dutasteride (0,5 mg) berupa cairan ke dalam 100 ml metanol 10%, Kemudian diaduk dengan menggunakan stirer magnet sampai larut sempurna. Dihasilkan larutan 10 ppm dutasteride dalam 100 mL. Ditutup rapat dan disimpan dalam lemari es bersuhu konstan 4°C. Untuk pengambilan dari larutan induk sample terlebih dahulu harus diaduk dengan magnet stirer selama 1 jam.

Membuat larutan induk standar dilakukan dengan cara melarutkan 20 mg Material Standar Dutasteride ke dalam 100 ml metanol 10%, kemudian diaduk dengan menggunakan stirer magne sampai larut sempurna. Dihasilkan larutan Dutasteride 200 ppm dalam 100 mL. Ditutup rapat dan disimpan dalam lemari es bersuhu konstan 4°C. Untuk pengambilan dari larutan induk standar juga terlebih dahulu harus diaduk dengan magnet stirer selama 1 jam.

Pemilihan plasma darah dilakukan dengan cara : memilih plasma darah dari pasien dengan golongan darah AB dari PMI yang sudah dilakukan pemeriksaan bebas penyakit menular dan telah dilakukan pengolahan yang berkualitas berdasar prosedur di PMI.

Ekstraksi pelarut dalam plasma dilakukan dengan cara mengambil 2 mL plasma dari blood bag yang sudah dilumerkan dengan kondisi suhu ruang sampai mencair kemudian diambil dan ditempatkan dalam tabung reaksi,

selanjutnya ditetesi dengan 2x100 uL dari larutan induk sampel Dutasterde dan divortex selama 5 menit. Ditambahkan kloroform sebanyak 4 ml dengan cara mengalirkannya lewat dinding tabung rekasi, selanjutnya divortex selama 10 menit atau sampai bercampur homogen. Ditambahkan buffer pH Fisiologis kedalamnya kemudian divortex hingga homogen. Campuran yang sudah homogen tersebut kemudian ditutup rapat menggunakan hipafix dan ditempatkan dalam wadah tertutup dari udara luar kemudian didiamkan di kulkas pada suhu 0 C sampai memisah. Setelah memisah ditambahkan 4 mL metanol 10% menggunakan syringe dialirkan melalui dinding dilanjutkan dengan vortex selama 10 menit sampai homogen dan ditutup lapis kedua dengan hipafix. Didiamkan di kulkas pada suhu 0 C sampai memisah. Dilanjutkan dengan sentrifuse 4000 rpm selama 10 menit, supernatan di ambil dan dilabeli sebagai A.

Scanning panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara membuat 4 sampel perbandingan serapan dari larutan yang dibuat didalam langkah ekstraksi pelarut dalam plasma, yaitu Supernatan yang berada diatas diambil sebanyak 2 ml dan dibagi 2 selanjutnya diencerkan masing-masing hingga 5 ml menggunakan larutan metanol 10%, salah satu larutan tersebut diberi label A1 dan yang satu ditambahkan 3x100 uL BTB dan diberi label A1-BTB. Larutan bening yang mengendap dibawah tabung diambil sebanyak 1 ml dan dibagi 2 kemudian diencerkan masing-masing hingga 5 mL. Salah satu larutan tersebut diberi label B1 dan yang satunya ditambahkan 3x100 uL BTB dan diberi label B1-BTB. Masing-masing larutan A1, B1, A1-BTB, B1-BTB kemudian discanning untuk dicari panjang gelombang maksimum.

Kurva Standar Kalibrasi dilakukan dengan cara mengambil dari larutan induk standar dibuat 5 variasi konsentrasi yaitu 0,2 ppm; 0,06 ppm; 0,04 ppm; 0,02 ppm; 0,008 ppm; 0,006 ppm dalam 5 ml dengan pelarut metanol 10% dalam pH buffer 7. Ditambahkan masing-masing 3x100 uL BTB selanjutnya digojok dan dilakukan pemeriksaan absorbansi lalu dibuat kurva kalibrasi.

Dari larutan induk sample dibuat 5 variasi konsentrasi yaitu 0,2 ppm; 0,06 ppm; 0,04 ppm; 0,02 ppm; 0,008 ppm; 0,006 ppm dalam 5 ml dengan pelarut metanol 10% dalam pH buffer 7. Dari variasi yang dilakukan pada langkah 1 maka dimasukkan ke tabung reaksi secara terpisah dan masing masing dilarutkan 2 mL plasma dari blood bag yang sudah dilumerkan dengan kondisi suhu ruang sampai mencair kemudian diambil dan ditempatkan dalam tabung reaksi, divortex selama 5 menit. Ditambahkan kloroform sebanyak 4 ml dengan cara mengalirkannya lewat dinding tabung rekasi, selanjutnya divortex selama 10 menit atau sampai bercampur homogen. Ditambahkan buffer pH Fisiologis kedalamnya kemudian divortex hingga homogen. Campuran yang sudah homogen tersebut kemudian ditutup rapat menggunakan hipafix dan ditempatkan dalam wadah tertutup dari udara luar kemudian didiamkan di kulkas pada suhu 0 C sampai memisah. Setelah memisah ditambahkan 4 mL metanol 10% menggunakan syringe dialirkan melalui dinding dilanjutkan dengan vortex selama 10 menit sampai homogen dan ditutup lapis kedua dengan hipafix. Didiamkan di kulkas pada suhu 0 C sampai memisah. Dilanjutkan dengan sentrifuse 4000 rpm selama 10 menit, supernatan di ambil sebanyak 2 ml dan dilabeli sesuai dengan variasi konsentrasi yang diberikan. Masing-masing supernatan yang dihasilkan dispiking dengan 0,2 ppm larutan standar dutasteride 2 mL dan dilarutkan hingga 4 mL. Ditambahkan masing-masing 3x100 uL BTB selanjutnya digojok dan dilakukan pemeriksaan absorbansi lalu dibuat data absorbansi. Menggunakan rumus *recovery* untuk mencari persen (%) dilakukan dengan menggunakan rumus dibawah ini :

$$\%recovery = 100 * \frac{(Cp - Ct)}{Cs}$$

Dengan Cp adalah larutan yang telah terspike, Ct adalah konsentrasi spiking dan Cs adalah Larutan Konsentrasi awal sebelum *recovery*. Data yang dihasilkan dari langkah kerja Pembuatan Kurva Standar dan Standar Internal disajikan dalam bentuk Tabel, dilakukan pula pengulangan hasil sebanyak minimal 3 kali, begitu juga untuk data yang dihasilkan dari langkah Metode Komparasi. Data primer dari spektra yang dihasilkan akan diderivatifkan sehingga menemukan ketelitian yang seksama. Semua eksperimen ini dilakukan pada waktu yang sama dan teknisi yang sama serta alat dan musim yang sama. Dalam penelitian ini semua proses yang menggunakan metode statistik diolah menggunakan Fitur Data Analisis pada Microsoft Excel 2019.

HASIL

Tabel 1. Prosentase *recovery* pada tiap variasi yang diuji

Variasi konsentrasi (ppm)	Spike (ppm)	Konsentrasi (ppm)	Recovery (%)
0,006	0,1	0,004	63,697
0,008	0,1	0,005	62,427
0,02	0,1	0,017	84,760

0,04	0,1	0,025	63,482
0,06	0,1	0,035	58,343

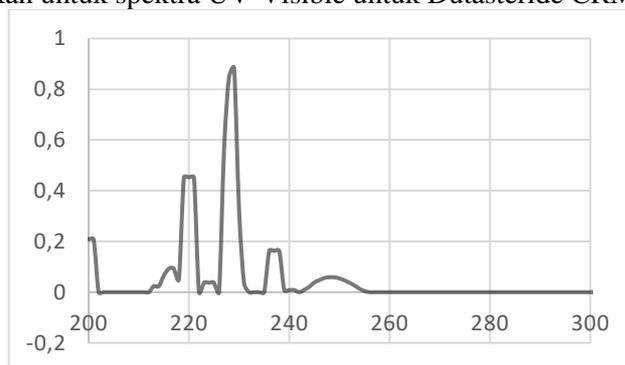
Dari Tabel 1 dapat ditunjukkan bahwa setiap variasi memiliki hasil recovery yang berbeda-beda namun recovery yang terbaik ditemukan pada variasi konsentrasi 0,02 ppm. Rerata recovery yaitu 64,992%.

PEMBAHASAN

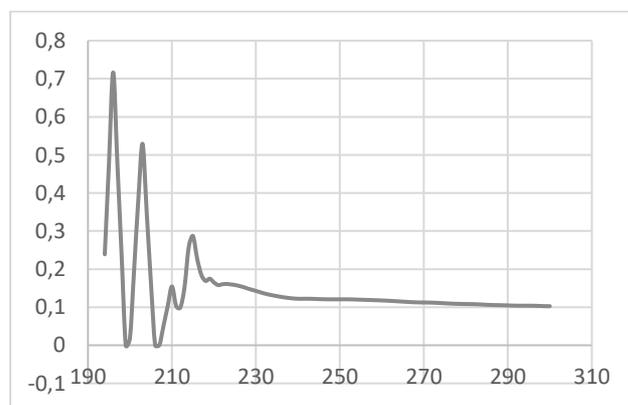
Dalam penelitian ini Dutasteride dilarutkan ke dalam sample plasma darah segar *FFP* (Fresh Frozen Plasma) dari seseorang pendonor dengan golongan darah AB. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental diluar tubuh manusia dengan mengambil sampel plasma segar sebagai pelarut kemudian melakukan recovery Dutasteride dari yang terlarut dalam plasma menggunakan pelarut efektif dari metanol 10% (13,14).

Penimbangan sample obat Dutasteride dilakukan secara seksama dan ditera pada 1,21 gram kemudian diambil cairan obat dengan cara dibelah dan langsung dimasukkan ke dalam beaker glass yang telah berisi 50 mL metanol 10% dan diaduk. Setelah dutasteride larut kapsul obat diambil kemudian larutan sample dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan diencerkan sampai 100 mL dengan menggunakan pelarut metanol 10%. Dari langkah ini dihasilkan larutan induk sample 10 ppm. Dasar pemilihan pelarut metanol ini menurut (15–17). Pembuatan larutan juga dilakukan serupa dengan pembuatan larutan induk sample namun berbahan baku Dutasteride *CRM* (*Certified Reference Material*) dengan seberat 20 mg yang dilarutkan dalam 100 ml metanol 10%. Dihasilkan larutan induk standar 200 ppm. Larutan yang dihasilkan berupa larutan putih keruh yang harus dihomogenkan 10 menit sebelum dan pada saat diambil cuplikannya. Larutan tersebut disimpan sebagai larutan induk dalam labu alas bulat 100 mL yang ditutup rapat sehingga tidak ada udara yang masuk dan harus steril.

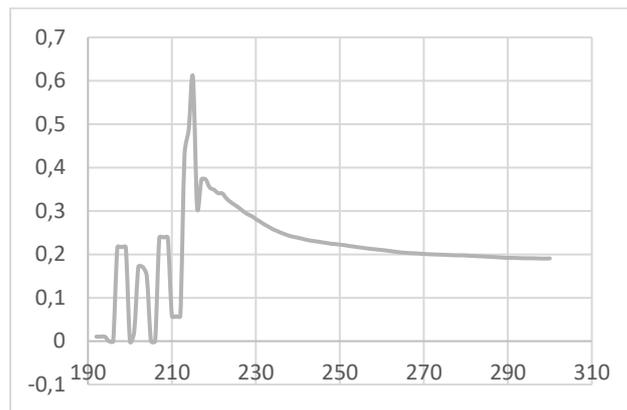
Dalam penelitian ini dilakukan *scanning* Panjang Gelombang Dutasteride dalam berbagai pelarut. Pelarut yang digunakan antara lain : Kloroform dan pelarut metanol 10%, yang kemudian diberikan perlakuan dengan menambahi BTB dan tidak. Hasil perlakuan ini dapat dilihat pada spektra UV-Visible yang ditunjukkan pada Gambar 1,2,3 dan 4, sedangkan untuk spektra UV-Visible untuk Dutasteride CRM ditunjukkan pada Gambar 2



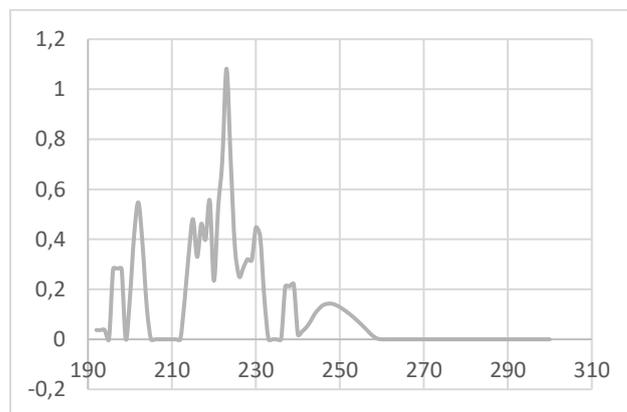
Gambar 2. Spektra UV-Vis Dutasteride dalam Kloroform dan penambahan reagen BTB pada sample obat, sampel larutan berwarna kebiruan



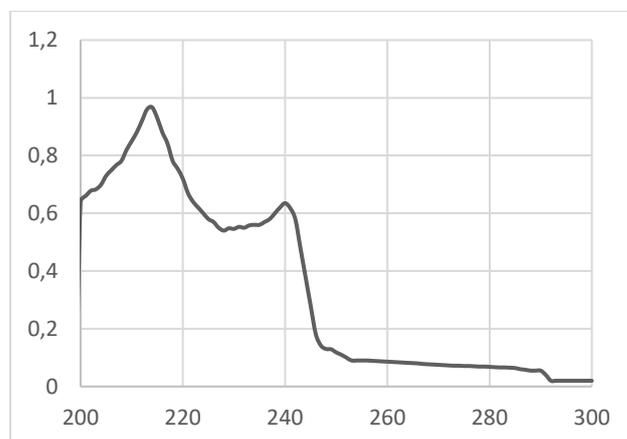
Gambar 3. Spektra UV-Vis Dutasteride dalam Metanol 10 % tanpa BTB pada sampel obat, sampel berwarna bening kekuningan



Gambar 4. Spektra UV-Vis Dutasteride dalam Metanol 10 % dengan reagen BTB pada sampel obat, sampel berupa larutan berwarna biru



Gambar 5. Spektra UV-Vis Dutasteride dalam kloroform tanpa BTB pada sampel obat, sampel berwarna bening agak kekuningan.



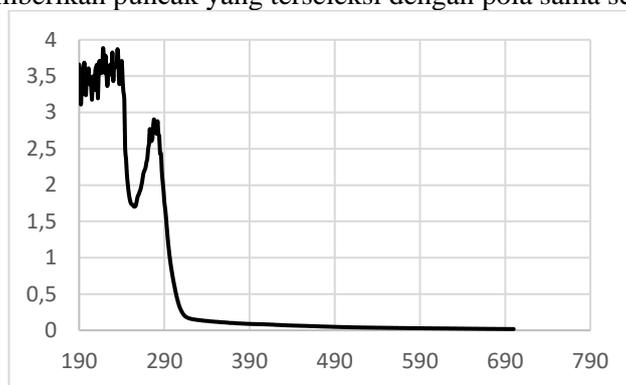
Gambar 6. Spektra UV-Vis Dutasteride CRM dalam pelarut 10% metanol dengan smoothing tanpa BTB, sampel larutan berwarna bening.

Pada Gambar 2,3,4 dan 5 spektra yang dihasilkan masih bersifat random karena adanya komposisi obat lain selain Dutasteride dan terdapat interferensi. Dari Gambar 2,3,4 dan 5 tersebut dapat disimpulkan juga bahwa penggunaan reagen BTB (*Bromo Thymol Blue*) mempunyai manfaat yang signifikan dalam memperkuat daya serapan sinar UV-Vis oleh molekul obat Dutasteride yang ditunjukkan pada Gambar 4 yang memiliki satu puncak tajam dan base yang melebar pada panjang gelombang yang semakin tinggi. Pada langkah ini dihasilkan panjang gelombang yang digunakan untuk penentuan Dutasteride dengan bantuan reagen BTB yaitu di 213 nm.

Pada Gambar 6 menunjukkan bahwa serapan panjang gelombang maksimal pada 213 nm dan 240 nm untuk Dutasteride murni tanpa penambahan BTB (*Bromo Thymol Blue*) (18–20). Hal ini sesuai dengan yang dikaji oleh (21). Dalam penelitiannya menggunakan reagen Chloranil yang menunjukkan reagen yang paling efektif dalam analisis Dutasteride hingga saat ini (22).

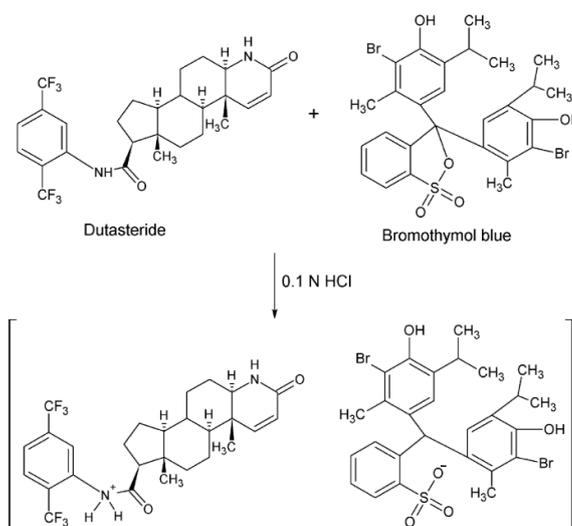
Penggunaan reagen BTB (Bromo Thymol Blue) pernah dikaji oleh (10) namun dalam penelitiannya justru tidak memberikan hasil yang signifikan dibandingkan dengan penggunaan reagen MTBH (3-metil-2-benzothazolinon hidrazon-hidroklorida). Reagen BTB (Bromo Thymol Blue) ini mempunyai efektivitas yang rendah dan dalam penelitian ini bekerja pada 2 kali konsentrasi LOD (*Low of Detection*) yang disarankan yaitu pada 0,006 ppm sedangkan dalam penelitiannya batas LOD pada 0,0033 ppm. Penggunaan 2 kali konsentrasi yang disarankan ini karena dalam penelitian ini menggunakan buffer pH 7 dalam melakukan recovery berbeda dengan penelitiannya yang menggunakan HCl 0,1 N sebagai katalisator untuk terjadi ikatan antara molekul obat Dutasteride dengan reagen BTB (*Bromo Thymol Blue*). Hal ini dapat ditunjukkan pada Gambar 8 menurut penelitian sebelumnya.

Dalam penelitian ini mekanisme kompleksasi yang disarankan oleh (10) tidak terjadi karena menggunakan buffer pH 7. Penggunaan buffer pH 7 tersebut untuk menjamin transfer Dutasteride pada antar medium yang digunakan diperlakukan sama seperti kondisi fisiologis dalam tubuh manusia. Penggunaan BTB di dalam penelitian ini tidak memberikan efek kompleksasi namun membantu untuk menyeleksi puncak serapan yang dianalisis yaitu mempertajam puncak 213 nm, dalam penelitian ini menunjukkan juga bahwa BTB mampu membentuk endapan dari senyawa yang tidak dianalisis dalam penelitian ini. Hal ini dapat ditunjukkan pada Gambar 7. Pada Gambar 7 menunjukkan bahwa hasil ekstraksi bertahap menggunakan kloroform dan metanol 10% setelah penggunaan reagen BTB (Bromo Thymol Blue) memberikan puncak yang terseleksi dengan pola sama seperti Gambar 6.



Gambar 7. Spektra UV-Vis hasil ekstraksi dengan penambahan BTB, sampel berupa larutan berwarna kebiruan

Dari Gambar 7 juga membuktikan bahwa tidak terjadi reaksi kompleksasi antara Dutasteride dan BTB (*Bromo Thymol Blue*) yang seharusnya timbul serapan pada 425 nm dan membuktikan juga bahwa BTB (Bromo Thymol Blue) membantu mengendapkan senyawa yang tidak dianalisis dalam penelitian ini. Dalam hal ini BTB (Bromo Thymol Blue) membantu dalam seleksi serapan UV-Vis.



Gambar 8. Mekanisme Reaksi Kimia antara Dutasteride dengan Reagen BTB (8)

Langkah selanjutnya dalam penelitian yang dilakukan ini adalah menguji recovery dari ekstraksi 2 tahap yang dilakukan. Dalam langkah ini dibuat kurva kalibrasi dari Dutasteride CRM dengan menggunakan variasi konsentrasi

0,006 ppm; 0,008 ppm; 0,02 ppm; 0,04 ppm; 0,06 ppm; 0,2 ppm. Dihasilkan persamaan garis yaitu $y = 4,265x + 0,1452$ dengan $R^2 = 0,9674$. Selanjutnya dibuat variasi larutan yang sama namun berasal dari larutan induk sampel dalam 5 ml dengan pelarut metanol 10% dalam pH buffer 7. Dari variasi yang dilakukan pada langkah diatas maka dimasukkan ke tabung reaksi secara terpisah dan masing masing dilarutkan 2 mL plasma dari blood bag yang sudah dilumerkan dengan kondisi suhu ruang sampai mencair kemudian diambil dan ditempatkan dalam tabung reaksi, divortex selama 5 menit, tujuan menggunakan vortex adalah untuk mendapatkan hasil yang homogen. Selanjutnya ditambahkan kloroform sebanyak 4 ml dengan cara mengalirkannya lewat dinding tabung reaksi, selanjutnya divortex selama 10 menit atau sampai bercampur homogen. Campuran yang sudah homogen tersebut kemudian ditutup rapat menggunakan hipafix dan ditempatkan dalam wadah tertutup dari udara luar kemudian didiamkan di kulkas pada suhu 0° C sampai memisah, hal ini dimaksudkan agar biomolekul yang ada dalam plasma agar mengendap. Setelah memisah ditambahkan 4 mL metanol 10% menggunakan syringe dialirkan melalui dinding dilanjutkan dengan vortex selama 10 menit sampai homogen dan ditutup lapis kedua dengan hipafix. Tujuan menggunakan hipafix ini untuk mengeluarkan gas yang timbul selama proses ekstraksi. didiamkan di kulkas pada suhu 0°C sampai memisah. Dilanjutkan dengan sentrifuse 4000 rpm selama 10 menit, supernatan di ambil sebanyak 2 ml dan dilabeli sesuai dengan variasi konsentrasi yang diberikan. Masing-masing supernatan yang dihasilkan dipiking dengan 0,2 ppm larutan standar dutasteride 2 mL dan dilarutkan hingga 4 mL. Kemudian ditambahkan masing-masing 3x100 uL BTB selanjutnya digojok dan dilakukan pemeriksaan absorbansi lalu dibuat data absorbansi. Tujuan spike ini adalah untuk Data Recovery dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa untuk hasil recovery dengan efisiensi terbaik yaitu pada konsentrasi 0,02 ppm Dutasteride yang dilarutkan dalam plasma darah. Untuk rerata *recovery* yang dihasilkan yaitu 64,992%. Tingginya kandungan dari hasil recovery inilah yang menjadi perhatian utama bahwa Dutasteride mampu melakukan ikut dalam metabolisme dalam tubuh serta kemampuannya terserap melalui kulit dan masuk ke tubuh seseorang⁽²³⁻²⁷⁾. Pada konsentrasi 0,006 ppm Dutasteride yang dilarutkan dalam plasma darah masih tetap terdeteksi jika menggunakan reagen BTB dan juga memberikan nilai recovery namun tidak terlampaui tinggi. Tidak berlaku semakin sedikit kadar yang diberikan maka semakin tinggi *recovery* yang didapat, hasil ekstraksi yang didapat berupa larutan bening agak kekuningan yang merupakan warna asli sebelum diberikan reagen BTB. Semua perlakuan dalam eksperimen yang dilakukan dalam kondisi suhu kamar dan menggunakan ruangan yang sudah disterilkan.

KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa studi kualitatif dan kuantitatif yang dilakukan menunjukkan bahwa Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk memeriksa kadar 0,006 ppm Dutasteride dan penggunaan reagen BTB dapat berfungsi untuk menyeleksi puncak yang tidak dianalisis. Kemudian hasil recovery yang dihasilkan yaitu 64,992%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Klikdokter.com. Dutasteride [Internet]. klikdokter. 2020. Available from: <https://www.klikdokter.com/obat/obat-saluran-kemih-dan-prostat/dutasteride>
2. My Canadian Pharmacy. Obat-obatan yang Mencegah Anda Mendonorkan Darah Obat Jerawat [Internet]. Csmecenter.com. 2022. Available from: <https://www.csmecenter.com/medications-preventing-you-from-donating-blood.aspx>
3. Ushirobira CY, Afiune LAF, Pereira MN, Cunha-Filho M, Gelfuso GM, Gratieri T. Dutasteride nanocapsules for hair follicle targeting: Effect of chitosan-coating and physical stimulus. *Int J Biol Macromol*. 2020;151:56–61.
4. Hu X, Hu C, Jiang D, Zuo Q, Li Y, Wang Y, et al. Effectiveness of Convalescent Plasma Therapy for COVID-19 Patients in Hunan, China. *Vol. 18, Dose-Response*. 2020.
5. Jeong JH, Hyun GH, Park YJ, Kwon SW, Lee AY. Clinical Factors Affecting the Serum Retention of a Teratogenic Eretinate after the Acitretin Administration. *Biomol Ther*. 2022;30(6):562–9.
6. Giriraj P, Sivakkumar T. Simultaneous estimation of dutasteride and tamsulosin hydrochloride in tablet dosage form by vierordt's method. *Vol. 10, Arabian Journal of Chemistry*. 2017. p. S1862–7.
7. Madhusudhan P, Reddy MR, Devanna N. Method development and validation of Alfuzosin HCl and Dutasteride in pharmaceutical dosage form by RP-HPLC. *Indian J Chem Technol*. 2017;24(4):441–6.
8. Limited TC. TEVA-DUTASTERIDE. Monograph. 2016. p. 1–55.
9. Pohlman GD, Pohlman EA, David Crawford E. Dutasteride: A review of its use in the management of prostate disorders. *Clin Med Insights Ther*. 2011;3:171–7.
10. Kumar A, Saradhi S, Sekaran C, Reddy T. Spectrophotometric Analysis of Dutasteride in Pure and Tablet Dosage Forms. *Chem Sci J*. 2012;CSJ-47:1–20.
11. Chaudhari R, Mohanraj K, Shirsat V. MS/MS AND HPLC CHARACTERIZATION OF FORCED

- DEGRADATION PRODUCTS OF DUTASTERIDE AND TAMSULOSIN HYDROCHLORIDE. *IJPSR*. 2014;5(7):1–9.
12. Dwi I, Dan P, Probandari A. Rancangan Penelitian Eksperimental Murni Dan Kuasi-Eksperimental. 2003;164–8. Available from: <https://id.scribd.com/document/395605433/Materi-21a-Penelitian-Kuasi-Eksperimental-dan-Eksperimental-pdf>
 13. Abbas A. a Validated Tlc- Densitometry for the Simultaneous Determination of Tamsulosin and Dutasteride in Their Combined Pharmaceutical Formulation. *Al-Azhar J Pharm Sci*. 2021;64(2):93–108.
 14. Deshmukh AV, Shirode AR, Kadam VJ. ANALYTICAL method development and validation for the quantitative estimation of Nimbin in bulk and solid dosage form by RP-HPLC. *Int J Pharma Bio Sci*. 2021;9(6):120–33.
 15. Patel DB, Patel NJ, Patel SK, Prajapati AM, Patel SA. RP-HPLC Method for the Estimation of Dutasteride in Tablet Dosage Form. *Indian J Pharm Sci*. 2010;1–6.
 16. Patel DB, Patel NJ, Patel S., Prajapati AM, Patel SA. RP-HPLC method for the estimation of tamsulosin hydrochloride in tablet dosage form. *Indian J Pharm Sci*. 2010;72(6):785–7.
 17. Prasanna LI, Naidu GT, Fathima N, Chakravathy I., Huq GA. Spectrophotometric Determination of Tamsulosin in the Presence of Dutasteride By Charge Transfer Complex Method By Using 2, 3-Dichloro-5, 6-Dicyano-1, 4-Benzoquinone (Ddq). *Int J Res Trends Innov [Internet]*. 2018;3(9):6. Available from: www.ijrti.org
 18. Chandrasekhar K, Manikandan A. Novel RP-HPLC method development and validation of Tamsulosin hcl and dutasteride in tablets by ratio's method. *Rasayan J Chem*. 2021;14(2):665–71.
 19. Diyya K. Novel stability indicating rp-hplc method development and validation for simultaneous estimation of alfuzosin and dutasteride in pharmaceutical dosage form. *Indian J Pharm Educ Res*. 2020;54(4):1144–52.
 20. Rames G. T, Prasad YR. Determination of Dutasteride for Analytical Method Development and Validation in Bulk as well as in Pharmaceutical Dosage Form by using RP-HPLC. *World J Pharm Sci*. 2022;10(9):61–9.
 21. Al-Bayatye YK, Muhamad YH, Kareem ZM, Khathi MT. Determination of dutasteride in pure and tablet by flow injection system. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2022;6(March):201–8.
 22. Jati MAS, Febriani H, Kristiani ER. Komparasi Uji Kualitatif Dutasteride Dalam Pelarut Organik terhadap Dutasteride terlarut Dalam Plasma Darah Manusia Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dan HPLC (Literature Review). In: *Basic and Applied medical Science Conference (BAMS-C0)*. 2022. p. 49–56.
 23. Da Silva MHA, Medeiros JL, Costa WS, Sampaio FJB, De Souza DB. Effects of the dutasteride and sildenafil association in the penis of a benign prostatic hyperplasia animal model. *Aging Male*. 2021;23(5):1009–15.
 24. Afiune LAF, Ushirobira CY, Barbosa DPP, de Souza PEN, Leles MIG, Cunha-Filho M, et al. Novel iron oxide nanocarriers loading finasteride or dutasteride: Enhanced skin penetration for topical treatment of alopecia. *Int J Pharm*. 2020;587(May).
 25. Noor NM, Umar S, Abdul-Aziz A, Sheikh K, Somavarapu S. Engineered Dutasteride-Lipid Based Nanoparticle (DST-LNP) System Using Oleic and Stearic Acid for Topical Delivery. *Bioengineering*. 2022;9(1).
 26. Seo SW, Park JW, Han DG, Kim JM, Kim S, Park T, et al. In vitro and in vivo assessment of metabolic drug interaction potential of dutasteride with ketoconazole. *Pharmaceutics*. 2019;11(12).
 27. Najafzade E, Jamali AK, Zahraei SAH. Clinical Images and Medical Case Reports Unusual presentation of an intracochlear schwannoma. *JCIMCR*. 2021;2.