

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hipertensi dikenal sebagai *silent killer* yang prevalensinya terus meningkat baik secara global maupun di Indonesia. Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO), hipertensi secara global meningkat dari 650 juta kasus pada tahun 1990 menjadi 1,4 miliar kasus pada tahun 2024 (1). Di Indonesia, kasus hipertensi meningkat sebesar 8,31%, dari sebelumnya 25,8% pada tahun 2013 menjadi 34,11% ditahun 2018 (2). Hipertensi yang tidak mendapatkan penanganan yang tepat dapat menyebabkan kematian (3). Oleh karena itu, penanggulangan hipertensi sangatlah penting.

Lini pertama pengobatan hipertensi dapat menggunakan golongan *Angiotensin Receptor Blocker* (ARB) (4). Telmisartan merupakan salah satu agen antihipertensi dari golongan ARB yang bekerja menggantikan angiotensin II dan menurunkan tekanan darah dengan cara menghalangi vasokonstriksi yang dipicu oleh angiotensin II. Telmisartan memiliki keunggulan farmakokinetik berupa waktu paruh panjang ± 24 jam, memungkinkan pemberian sekali sehari dengan kontrol tekanan darah yang stabil. Selain itu, sifat lipofilik telmisartan yang lebih tinggi dibandingkan ARB lain mendukung penetrasi sel dan meningkatkan penyerapan oral (5).

Selain obat konvensional, hipertensi juga dapat dikendalikan dengan obat tradisional. Salah satu tanaman obat yang digunakan dalam pengendalian hipertensi adalah seledri (*Apium graveolens*). Penelitian oleh Rad *et al.* menunjukkan bahwa ekstrak biji seledri (1,34 g/hari selama 4 minggu) dapat menurunkan tekanan darah sistolik dari $141,2 \pm 5,91$ mmHg menjadi $130,0 \pm 4,38$ mmHg dan tekanan darah diastolik dari $92,2 \pm 5,74$ mmHg menjadi $84,2 \pm 4,87$ mmHg tanpa efek samping signifikan, sehingga menunjukkan efek teraupetik ekstrak biji seledri sebagai suplemen dalam pengelolaan hipertensi (6). Salah satu senyawa aktif yang dapat membantu menurunkan tekanan darah di dalam ekstrak seledri adalah apigenin (7). Rata-rata kandungan apigenin dalam ekstrak seledri yaitu $3,74 \pm 0,09\%$ (8). Apigenin terbukti memiliki berbagai aktivitas biologis lainnya, seperti sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiamiloidogenik, neuroprotektif, kemopreventif, dan

peningkat fungsi kognitif (9). Selain itu, apigenin memiliki toksisitas yang rendah seperti penelitian yang dilakukan oleh Muchtaridi *et al.* Apigenin memiliki nilai LD₅₀ terendah sebesar 2,45 mol/kg, yang mencerminkan toksisitas akut yang rendah (10).

Terapi antihipertensi konvensional kini sering dikombinasikan dengan pengobatan tradisional oleh pasien. Studi oleh Clement *et al.* melaporkan bahwa 30% pasien menggabungkan terapi tradisional dan konvensional, namun 70% tidak menginformasikan hal tersebut kepada tenaga medis (11). Kombinasi dua obat atau lebih dapat berinteraksi yang memberikan dampak positif maupun negatif (12).

Penelitian yang dilakukan Misaka *et al.*, menunjukkan bahwa kombinasi lisinopril dengan ekstrak teh hijau dapat menurunkan konsentrasi maksimum (C_{max}) lisinopril hingga 71% dan menurunkan nilai area di bawah kurva (AUC) lisinopril hingga 67-69%, sehingga bioavailabilitas lisinopril berkurang yang dapat menurunkan efikasi terapeutik lisinopril (13). Pemberian telmisartan bersama makanan juga terbukti menurunkan AUC sebesar 6-19% dan C_{max} sebesar 26-56% tergantung dosis (14). Sementara itu, distribusi apigenin di makanan sangat luas, karena telah ditemukan di banyak sayuran, rempah-rempah, dan buah-buahan (15). Dengan demikian, penetapan kadar telmisartan dan apigenin di dalam plasma perlu dilakukan sebagai dasar dalam studi farmakokinetika, karena melalui penetapan kadar dapat diperoleh data konsentrasi obat untuk mengevaluasi profil farmakokinetika obat dalam sirkulasi sistemik ketika digunakan secara bersamaan.

Penentuan kadar obat dalam matriks biologis seperti plasma memerlukan metode analisis yang memiliki sensitivitas, akurasi, dan presisi tinggi. Metode yang digunakan harus divalidasi untuk memastikan keabsahan data, sehingga hasil yang diperoleh dapat dimanfaatkan dalam evaluasi farmakokinetika maupun pemantauan terapi klinis (16). Beberapa penelitian telah meneliti penetapan kadar telmisartan dan apigenin dalam plasma menggunakan instrumen *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) secara tunggal. Dalam penelitian Navarrete *et al.*, fase gerak berupa campuran larutan dapar amonium asetat berair (10 mM, pH 3,0 ± 0,1) dan asetonitril dengan perbandingan 40:60 (v/v), suhu kolom 25°C, dengan laju alir 1 mL/menit, menghasilkan waktu retensi telmisartan sebesar 3,8 menit. Konsentrasi maksimum (C_{max}) telmisartan yang diperoleh adalah 0,48 µg/mL setelah

pemberian dosis sebesar 80 mg (17). Dalam penelitian Gupta *et al*, fase gerak berupa campuran 0,3% asam format dan metanol dengan perbandingan 30:70 (v/v), laju alir 1,5 mL/menit, menunjukkan waktu retensi sebesar 4,2 menit. Konsentrasi maksimum (C_{max}) apigenin yang diperoleh adalah 1,8636±0,124 µg/mL untuk apigenin murni (18). Namun, hingga saat ini belum ada laporan mengenai penetapan kadar kedua senyawa tersebut secara simultan dalam plasma.

Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC) merupakan pengembangan dari HPLC yang kini banyak digunakan karena mampu memisahkan campuran kompleks dengan sensitivitas lebih tinggi, resolusi yang baik, waktu analisis lebih singkat, serta penggunaan pelarut lebih sedikit sehingga lebih ramah lingkungan. UHPLC digunakan untuk analisis bahan alam dan jamu, identifikasi metabolit, studi bioekivalensi, QA/QC manufaktur, uji degradasi, pelepasan obat, dan toksisitas. Keunggulan ini menjadikan UHPLC sebagai metode pemisahan yang efisien, andal, serta sesuai dengan konsep *green analytical chemistry* untuk analisis farmasi modern (19).

Selain pemilihan instrumen, tahapan preparasi sampel juga menjadi faktor penting dalam analisis plasma, karena berpengaruh terhadap hasil pemisahan dan deteksi. Metode preparasi yang ideal harus mampu menekan efek matriks tanpa mengurangi *recovery* analit. Beberapa metode yang umum digunakan meliputi pengendapan protein, ekstraksi cair-cair, dan ekstraksi fase padat. Di antara metode tersebut, pengendapan protein merupakan pilihan yang paling efisien karena prosedurnya sederhana dan mampu menghasilkan *recovery* yang tinggi dibanding metode lain yang lebih kompleks dan mahal (20).

Bedasarkan hal tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan pengembangan metode analisis apigenin dan telmisartan dalam plasma secara UHPLC, dengan preparasi sampel secara pengendapan protein. Metode ini diharapkan menghasilkan analisis yang efektif dan efisien untuk mendukung studi farmakokinetik serta pemantauan terapi kombinasi obat tradisional dan konvensional secara ilmiah.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana kondisi optimal UHPLC untuk analisis simultan kadar apigenin dan telmisartan dalam plasma?
2. Apa jenis dan jumlah volume pelarut pengestraksi yang optimal dengan preparasi sampel secara pengendapan protein untuk analisis silmultan kadar apigenin dan telmisartan dalam plasma?
3. Apakah metode analisis UHPLC yang digunakan dengan preparasi sampel secara pengendapan protein yang dikembangkan mampu memenuhi parameter validasi untuk analisis silmultan kadar apigenin dan telmisartan dalam plasma?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan kondisi optimal UHPLC untuk analisis simultan kadar apigenin dan telmisartan dalam plasma.
2. Menentukan jenis dan jumlah pelarut pengestraksi yang optimal dengan preparasi sampel secara pengendapan protein untuk analisis silmultan kadar apigenin dan telmisartan dalam plasma
3. Mendapatkan metode analisis UHPLC dengan preparasi sampel secara pengendapan protein yang tervalidasi dan dapat digunakan sebagai acuan pada penelitian maupun aplikasi klinis terkait kombinasi apigenin dan telmisartan.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. H₀ : Metode analisis UHPLC yang digunakan dengan preparasi sampel secara pengendapan protein untuk analisis silmutan kadar apigenin dan telmisartan dalam matriks plasma tidak optimal dan tidak valid.
2. H₁ : Metode analisis UHPLC yang digunakan dengan preparasi sampel secara pengendapan protein untuk analisis silmutan kadar apigenin dan telmisartan dalam matriks plasma optimal dan valid.

