

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Permasalahan

Olahraga merupakan salah satu aktivitas yang sangat berguna bagi kehidupan manusia. Namun dewasa ini, olahraga kompetitif merupakan salah satu hal yang sangat diperhatikan karena menimbulkan persoalan. Salah satu permasalahan yang dikaitkan pada bidang olahraga yaitu penggunaan obat terlarang (doping) (Juliantine, 2003).

Doping adalah penggunaan metode atau zat yang terlarang khususnya dalam hal peningkatan prestasi olahraga yang dinyatakan dari pasal 1 ayat 22 dan pasal 85 ayat 1 yang menyatakan bahwa penggunaan doping dilarang bagi semua kegiatan olahraga menurut Undang-Undang Dasar Republik Indonesia Nomor 3 Tahun 2005 tentang sistem Keolahragaan Nasional pada Bab 1. Selain itu menurut *International Olympic Committee (IOC)* tahun 1990, doping merupakan cara yang dilarang dalam bidang olahraga dengan menggunakan suatu zat yang tidak terkait dengan indikasi medis. Doping adalah pemberian zat pada seseorang khususnya atlet untuk meningkatkan kinerja latihannya dan fungsi fisiologisnya (William and Wilkins, 2001). Penggunaan doping dilarang karena secara etis melanggar norma *fairplay* dan nilai sportivitas. Selain itu doping juga berbahaya bagi keselamatan pemakainya (LADI, 2010).

Aktivitas fisik seperti latihan olahraga berupa latihan olahraga aerobik dapat meningkatkan radikal bebas dan menyebabkan stres oksidatif (Chevion *et al.*, 2003; Harjanto, 2004). Timbulnya stres oksidatif dihasilkan dari sumber

potensial berupa peningkatan metabolisme aerobik selama latihan (Leeuwenburgh dan Heinecke, 2001). Keadaan saat terjadi peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) terutama pada saat aktivitas fisik berat disebut stres oksidatif (Chevion *et al.*, 2003). Selain itu ada spesies oksidatif yang merupakan jenis radikal bebas yang sangat berbahaya pada tubuh dan menyebabkan kerusakan sel, jaringan dan organ yang disebut sebagai spesies oksigen reaktif (Cortina-Puig dan Camp, 2007; Small, 2012) yang dijadikan dasar patogenesis berbagai penyakit degeneratif seperti diabetes melius, hipertensi, penuaan dini, penyakit paru, kanker dan jantung koroner (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Senyawa 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-ol atau alopurinol merupakan salah satu obat yang berpotensi dipakai oleh para atlet sebagai doping. Pada awalnya alopurinol digunakan untuk mengobati penyakit asam urat yang disebabkan oleh penumpukan kristal asam urat pada sendi (Nuki, 2006). Pada saat olahraga terjadi peningkatan aktivitas xantin oksidase plasma yang menyebabkan pembentukan radikal bebas setelah latihan lari marathon, tetapi pengobatan dengan penambahan alopurinol dapat menghambat aktivitas xantin oksidase (Gomez-Cabrera *et al.*, 2006). Alopurinol dosis tinggi dapat menurunkan stress oksidatif pada jaringan vaskuler dan memperbaiki disfungsi endotel (George *et al.*, 2009). Alopurinol berpotensi menghambat xantin oksidase, enzim yang mengubah hipoksantin untuk xantin, dan xanthine asam urat. Daya tahan atlet dapat dipulihkan dan dapat menghindari cedera aktif stress oksidatif. Namun diketahui bahwa efek penggunaan alopurinol dalam jangka panjang dilaporkan dapat menyebabkan kejadian difusi vaskuler yang menyebabkan kematian.

Penggunaan doping juga dapat menyebabkan penyakit sindrom hipersensitivitas yang dapat melemahkan respon tubuh penderita terhadap konsentrasi alopurinol sehingga meningkatkan dosis penggunaan pemakaian alopurinol (Rott dan Agudelo, 2003). Adanya isu etik penggunaan alopurinol sebagai doping para atlet tersebut maka diperlukan pengujian penggunaan doping. Pengujian penggunaan doping pada atlet dapat dilakukan melalui kandungan urinnya setelah pertandingan (LADI, 2010).

Di dalam tubuh atlet terjadi metabolisme alopurinol dan dikeluarkan melalui urin 70% sebagai oksipurinol. Oleh karena itu, oksipurinol merupakan marker yang baik untuk mendeteksi alopurinol dan pengembangan metode analisis oksipurinol yang mudah, selektif dan sensitif untuk mendeteksi penggunaan alopurinol sebagai doping perlu dilakukan (Purwanto, 2012).

Beberapa metode untuk mendeteksi oksipurinol telah dilakukan dan dikembangkan antara lain kapiler elektroforesis dengan akhir-kolom deteksi amperometri (Sun *et al.*, 2001), dan *HPLC-tandem mass spectrometry* dengan deteksi ultra-violet (atau deteksi elektrokimia) (Brown *et al.*, 1977). Pada penelitian Brown *et al.*, (1977) dijelaskan metode HPLC untuk uji oksipurinol dalam urine dan plasma manusia didasarkan pada kromatografi pertukaran ion kompleks. Deteksi elektrokimia melibatkan persiapan sampel reaksi kompleks enzymatic atau ekstraksi fase padat (Eisenberg *et al.*, 1990). Metode lain seperti deteksi elektroforesis kapiler (Sun *et al.*, 2001) dan suhu kamar misel-endar stabil deteksi memerlukan modifikasi khusus untuk plasma dan deteksi sampel urin (Pérez-Ruiz *et al.*, 2003).

Metode-metode tersebut cukup rumit karena membutuhkan waktu yang cukup lama dalam menganalisis sampel dalam jumlah banyak. Oleh karena itu dibutuhkan adanya metode baru yang sederhana, mudah, cepat, sensitif, dan akurat untuk menjadi solusi kekurangan metode sebelumnya.

Menurut penelitian Refat *et al.* (2010) DDQ (2,3-dikloro-5,6-disiano-1,4-benzoquinon) sebagai akseptor elektron dapat direaksikan dengan alopurinol sebagai donor elektron melalui pembentukan kompleks transfer muatan (Charge Transfer complex/ CT-kompleks). Sebuah kompleks transfer muatan (CT-kompleks) yang terbentuk antara senyawa kompleks alopurinol-DDQ yang telah dibuktikan dengan FTIR terjadi secara umum dari DDQ yang memiliki pasangan elektron yang semula tidak digunakan kemudian pasangan elektron bebas itu digunakan secara bersama untuk mengikat  $H^+$  dari  $-NH$  pada alopurinol sebagai donor basa amina/ donor elektron. Kompleks CT terbentuk dari interaksi ikatan hidrogen antara DDQ dan alopurinol melalui transfer elektron dari donor (alopurinol) dengan reagen  $\pi$ -akseptor (DDQ). Kompleks transfer muatan dapat terjadi dengan mereaksikan alopurinol dengan DDQ dalam pelarut kloroform atau metanol (Refat *et al.*, 2010).

Oksipurinol sebagai produk oksidatif alopurinol terkenal sebagai inhibitor xanthine oxidase (Arai *et al.*, 1998), dan memiliki kegiatan farmakodinamik dan farmakokinetik sama seperti alopurinol. Dalam hal farmakokinetik, alopurinol dikonversi menjadi oksipurinol dalam hati sekitar 60-70%. Waktu paruh alopurinol antara 2 – 3 jam dalam plasma dan oksipurinol antara 12-30 jam pada pasien dengan fungsi ginjal normal. Oksipurinol dieksresikan melalui ginjal

bersama dengan alopurinol dan ribosida alopurinol, metabolit utama kedua (Johnstone, 2005). Alopurinol dalam urin tetap tidak berubah sekitar 10% dari total dan sekitar 70% dikonversi dalam bentuk metabolinya oksipurinol, dan 20% yang diekskresikan melalui feses (Hande *et al.*,1984). Selain itu oksipurinol juga memiliki struktur kimia yang mirip dengan alopurinol seperti ditunjukkan pada Gambar 2.2, sehingga DDQ diduga dapat digunakan sebagai pereaksi untuk mendeteksi oksipurinol secara spektrofotometri UV-Vis.

Pada penelitian ini akan dilakukan optimasi temperatur dan pH pada penentuan oksipurinol dengan pereaksi DDQ secara spektrofotometri. Selanjutnya dilakukan validasi metode dengan cara menentukan parameter validasi yang meliputi linieritas, presisi, akurasi, limit deteksi, dan sensitivitas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang masalah tersebut diperoleh rumusan masalah sebagai berikut.

1. Apakah DDQ dapat digunakan sebagai reagen pengompleks untuk analisis oksipurinol dengan metode spektrofotometri UV-Vis?
2. Bagaimana hasil optimasi terhadap parameter temperatur dan pH pada analisis oksipurinol dengan metode spektrofotometri UV-Vis?
3. Berapakah parameter validasi yang meliputi linieritas, presisi, akurasi, limit deteksi, dan sensitivitas dalam analisis oksipurinol secara spektrofotometri UV-Vis?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui penggunaan DDQ sebagai reagen pengompleks untuk analisis oksipurinol dengan metode spektrofotometri UV-Vis.
2. Mengetahui hasil optimasi terhadap parameter temperatur dan pH pada analisis oksipurinol menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.
3. Menentukan validitas metode spektrofotometri UV-Vis yang meliputi linieritas, presisi, akurasi, limit deteksi, dan sensitivitas dalam analisis oksipurinol secara spektrofotometri UV-Vis.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai metode *spektrofotometri UV-Vis* untuk analisis oksipurinol pada urin. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian-penelitian yang lain.