

IDENTIFIKASI SILDENAFIL SITRAT DALAM KOPI BUBUK DAN PRODUK OLAHANNYA YANG BEREDAR DI KOTA PALU MENGGUNAKAN METODE SOLID PHASE EXTRACTION (SPE) KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN SPEKTROFOTODENSITOMETRI

[Identification Of Sildenafil Citrate in Coffee Powder And Its Processed Products Circulating In Palu City Using Solid Phase Extraction (SPE) Method Thin Layer Chromatography (TLC) And Spectrophotodensitometry]

Erfan Septian Mbealo^{1)*}, Qabul Dinanta Utama²⁾

¹⁾Prodi Teknologi Pangan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Terbuka

²⁾Prodi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri, Universitas Mataram

*Penulis Korespondensi, Email: septianmbealo26@gmail.com

Diterima 11 November 2022/Disetujui 16 Desember 2022

ABSTRACT

Coffee is a kind of beverage made from roasted and ground coffee beans. In the Regulation of the Head of POM No. 21 of 2016 concerning food categories, and Regulation of the Minister of Industry of the Republic of Indonesia number 03/M-IND/PER/1/2016, instant coffee (pure without being mixing with other ingredients) including decaffeinated instant coffee either in retail packaging or in bulk form is required to meet the Standard National Indonesia (SNI) 2983 : 2014. As one of the food products, coffee must safe from any chemical substances that can be harmful to human health. One of the chemical substances that commonly add to instant coffee was sildenafil. This research is non-experimental descriptive of 20 samples of coffee circulating in the city of Palu which was carried out using thin layer chromatography (TLC)-solid phase extraction (SPE) and spectrophotodensitometry methods. The analysis of the results carried out is a qualitative analysis of the chemical content of the sildenafil type of drug contained in coffee products circulating in the city of Palu. Of the 20 samples tested, 3 test samples were declared positive where the retention factor (Rf) value of the test solution spot was the same as the Rf value of the standard solution spot. and spiked sample solution. Testing with Spectrophotodensitometry provides a spectrum profile and maximum absorption wavelength of the test solution spots are the same as the standard solution spots and spiked sample solutions

Keywords: coffee, sildenafil, Silica gel 60 F254, spectrophotodensitometry, TLC

ABSTRAK

Kopi merupakan salah satu minuman yang berasal dari biji kopi yang telah disangrai dan dihaluskan. Dalam Peraturan Kepala Badan POM No. 21 tahun 2016 tentang kategori pangan, dan Peraturan Menteri Perindustrian RI nomor 03/M-IND/PER/1/2016, kopi instan (murni tanpa dicampur bahan lain) termasuk kopi instan dekafein baik dalam kemasan ritel atau bentuk curah diwajibkan memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) 2983 : 2014. Sebagai salah satu produk pangan, kopi instan harus aman dari berbagai jenis zat kimia yang membahayakan bagi Kesehatan. Salah satu zat kimia yang sering ditambahkan adalah sildenafil. Penelitian ini bersifat non-eksperimental deskriptif terhadap 20 sampel kopi yang beredar dikota Palu yang dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT)- *solid phase extraction* (SPE) dan spektrofotodensitometri. Analisis hasil yang dilakukan adalah analisis kualitatif terhadap kandungan bahan kimia obat jenis sildenafil yang terkandung di dalam produk kopi yang beredar dikota Palu. Dari ke 20 sampel yang diuji 3 sampel uji dinyatakan positif dimana nilai *retention factor* (Rf) dari bercak larutan uji sama dengan nilai Rf bercak larutan baku dan larutan spiked sampel. Pengujian dengan Spektrofotodensitometri memberikan profil spektrum dan panjang gelombang serapan maksimum dari bercak larutan uji sama dengan bercak larutan baku dan larutan spiked sampel

Kata Kunci: KLT, kopi instan, sildenafil, Silika gel 60 F₂₅₄, Spektrofotodensitometri , SPE.

PENDAHULUAN

Kopi sebagai salah satu komoditas pangan yang memegang peranan penting dalam perekonomian Indonesia (Utama dkk, 2022). Sebagai salah produk pangan, kopi harus bebas dari beberapa zat-zat kimia yang memiliki efek samping berbahaya bagi kesehatan manusia (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2016). Salah satu kasus yang saat ini sering ditemukan pada produk kopi adalah penambahan Bahan Kimia Obat (BKO). Penggunaan Bahan Kimia Obat (BKO) di luar batas dan aturan yang benar dapat membahayakan kesehatan (Kurnia Setiawan dkk., 2017). Salah satu BKO yang sering ditambahkan pada produk kopi adalah sildenafil.

Sildenafil sitrat digunakan untuk mengobati disfungsi ereksi pada pria (Rahandika Fridayangga & Kongres, 2022). Selain itu, sildenafil digunakan untuk meningkatkan kemampuan berolahraga pada orang dewasa dengan hipertensi arteri pulmonal (PAH; tekanan darah tinggi di pembuluh yang membawa darah ke paru-paru, menyebabkan sesak napas, pusing, dan kelelahan). Sildenafil mengobati PAH dengan merelaksasi pembuluh darah di paru-paru agar darah mengalir dengan mudah. Sildenafil termasuk dalam kelas obat yang disebut phosphodiesterase (PDE) inhibitor. Sildenafil dapat menimbulkan reaksi yang lebih serius seperti kejang, denyut jantung tidak teratur, pandangan kabur atau buta mendadak, hingga kematian jika digunakan tidak sesuai dengan dosis (Rahandika Fridayangga & Kongres, 2022).

Semakin maraknya kasus penambahan BKO ke dalam produk kopi sehingga dianggap penting melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi sildenafil sitrat pada produk kopi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi sildenafil sitrat pada produk kopi bubuk dan olahannya yang beredar di Kota Palu dengan metode *Solid Phase Extraction* (SPE) Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotodensitometri.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Sampel yang diuji berupa 20 produk kopi yang terdiri dari produk kopi bubuk, kopi instant, kopi stamina pria yang dipilih secara acak di Kota Palu. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain sildenafil sitrat (Baku pembanding BPOM), kloroform p.a (Merck, Germany), NaOH, metanol p.a (Merck, Germany), etil asetat (Merck, Germany), Silika gel 60 GF₂₅₄(Merck, Germany), asetonitril (Merck, Germany), amonia (Merck, Germany), aseton (Merck, Germany), diethyl ether (Merck, Germany) kertas Whatman no.1 (Merck, Germany).

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *TLC scanner* (Camag, Swiss), *TLC visualizer* (Camag, Swiss), *automatic developing chamber* (Camag, Swiss), *Camag linomat 5* (Camag, Swiss), *solid phase extraction* (Camag, Swiss), *sentrifuge*, *cartridge SPE C18* (Oasis), alat gelas (pyrex), timbangan analitik (Sartorius) ultrasonik, *Hei-VAP rotary evaporator* (Heidolph).

Metode

Penelitian ini berpedoman pada analisis Badan POM nomor 66/PA/11, 45/OT/13, 29/OTPK/17 dan metode analisis BPOM nomor 31/OTPK/17 Identifikasi Sildenafil Sitrat Dalam Kopi Bubuk Dan Produk Olahannya Secara *Solid Phase Extraction* (SPE) Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotodensitometri, adapun beberapa metode tersebut merupakan metode yang merujuk pada identifikasi bahan kimia obat sildenafil. Metode penelitian diawali dengan penyiapan sampel, preparasi sampel dilanjutkan dengan identifikasi sampel menggunakan metode KLT dan spektrofotodensitometri terhadap BKO yang dilaporkan Badan POM RI terkandung dalam produk kopi yaitu sildenafil sitrat.

Analisis sildenafil sitrat

Sildenafil sitrat dipisahkan dari sampel dan diidentifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) berdasarkan perbedaan polaritas

dan kelarutan serta dikonfirmasi secara Spektrofotodensitometri

Persiapan Sampel

Sejumlah 10 mg sampel uji sildenafil sitrat yang memenuhi persyaratan baku pembanding farmakope Indonesia (BPFI) dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 mL dan dilarutkan dalam 30 mL etil asetat. Kemudian campuran disonikasi selama 30 menit, disentrifugasi 4000 rpm selama 10 menit, disaring dengan kertas saring Whatman no.1 kedalam corong pisah 250 mL. Selanjutnya, ulangi perlakuan tersebut diatas dimulai dari penambahan 30 mL etil asetat kedalam elenmeyer 100 mL. Filtrat digabungkan dan diekstraksi tiga kali, setiap kali dengan 50 mL larutan basa pH 9. Ekstrak etil asetat diuapkan dengan penguap vakum pada suhu 80 °C sampai kering, sisa penguapan dilarutkan dengan metanol. Preparasi dilakukan duplo.

Identifikasi sampel dengan metode SPE

Prosedur Analisis

- A. Spike sampel: Sejumlah sampel ditambahkan campuran lebih kurang 10 mg sildenafil sitrat BPFI kemudian dilakukan seperti sampel uji.
- B. Larutan baku: Ditimbang sejumlah 10 mg sildenafil sitrat BPFI dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dilarutkan dan diencerkan dengan metanol sampai tanda.
- C. Larutan uji dan larutan *spiked sample* dilakukan pemisahan dengan SPE dengan kondisi sebagai berikut :
 - Kolom: Cartridge SPE C18
 - Pelarut kondisioning: 2,0 mL air; 2,0 mL metanol
 - Larutan pencuci: 1,0 Metanol 5%; Metanol 60%
 - Larutan pengelusi: Metanol
 - 1) Dilakukan pengkondisian cartridge SPE C18 berturut-turut menggunakan 2,0 mL air dan 2,0 mL metanol (cartridge tidak boleh sampai kering), dibiarkan menetes perlahan tanpa bantuan vacuum manifold.
 - 2) Larutan uji dan larutan *spiked sample* sebanyak 100 µL dimasukkan ke

dalam masing-masing cartridge SPE C18 secara terpisah, dibiarkan menetes perlahan (\pm 15 tetes per menit) dengan bantuan vacuum manifold.

- 3) Cartridge SPE C18 dicuci dengan 1,0 mL metanol 5% dilanjutkan 1,0 mL metanol 60%. Penetesan dibantu dengan vacuum manifold.
- 4) Masing-masing cartridge diekstraksi dengan 2,0 mL metanol, ditampung dalam tabung reaksi.

Identifikasi sampel dengan metode KLT dan spektrofotodensitometri

Prosedur Analisis

1. Larutan uji, spike sampel dan larutan baku ditotolkan secara terpisah diatas silika gel 60 GF₂₅₄ sebanyak 50 µl dengan Camag linomat 5 dan dilakukan kromatografi lapis tipis dengan kondisi sebagai berikut:
 - Fase diam: Silika gel 60 GF₂₅₄
 - Fase gerak: 1. Etilasetat : asetonitril : amonia 25% (85 :10 : 5) (Eluen 1)
 - 2. Aseton : kloroform : eter (40 : 35 : 25) (Eluen 2)
 - Jarak rambat: 7.5cm (automatic developing chamber); 15 cm (manual)
 - Penampakan bercak: Radiasi 254 nm sildenafil memadamkan fluoresensi.
 2. Lempeng KLT hasil eluasi dilakukan pemindaian dengan sebagai berikut :
 - Slit dimensions: 4.00 x 0.30 mm, Micro
 - *Scanning speed* : 20 mm/s
 - Data resolution: 100 µm/step
 - *Lamp* : D2
 - *Wavelength*: 200 – 400 nm
- Profil spektrum dan panjang gelombang serapan maksimum direkam
3. Interpretasi Hasil :
 - Kromatografi lapis tipis : Hasil uji dinyatakan negatif jika nilai Rf dari bercak larutan uji berbeda dengan nilai Rf bercak larutan baku dan larutan spiked sampel.
 - Spektrofotodensitometri : Hasil uji dinyatakan negatif jika profil spektrum dan panjang gelombang serapan maksimum dari bercak larutan uji tidak sama dengan

bercak larutan baku dan larutan spiked sampel.

- 1) Persyaratan sampel uji tidak boleh mengandung sildenafil sitrat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Solid Phase Extraction (SPE) merupakan metode ekstraksi fase padat yang dapat digunakan untuk analisis, pemisahan, purifikasi sampel dalam bidang industri farmasi,

maupun analisis toksikologi dan makanan. SPE memiliki keunggulan yaitu proses ekstraksi menjadi lebih sempurna, pemisahan analit dari matriks menjadi lebih efisien, mengurangi pelarut organik yang digunakan. Untuk meningkatkan sensitivitas dan selektivitas dalam analisis sampel, metode SPE dapat digabungkan dengan metode lain seperti Kromatografi lapis tipis, spektrofotodensitometri, Spektrofotometer UV-Vis, dan HPLC.

Tabel 1. Nilai Rf sampel, spike dan baku sildenafil menggunakan 2 eluen

No	Kode sampel	Nilai Rf sampel		Nilai Rf sampel + baku		Nilai Rf Baku Pemanding		Sildenafil sitrat
		Eluen	Eluen	Eluen	Eluen	Eluen	Eluen	
		1	2	1	2	1	2	
1	01	0.53	0.73	0.53	0.72	0.44	0,27	-
2	02	0.52	0.73	0.53	0.73	0.44	0.27	-
3	03	0.52	0.60	0.52	0.60	0.44	0.27	-
4	04	0.45	0.46	0.45	0.46	0.45	0.46	+
5	05	0.52	0.45	0.52	0.45	0.45	0.46	-
6	06	0.51	0.44	0.51	0.44	0.45	0.46	-
7	07	0.40	0.19	0.40	0.19	0.40	0.19	+
8	08	0.49	0.53	0.49	0.53	0.40	0.19	-
9	09	0.49	0.53	0.49	0.53	0.40	0.19	-
10	10	0.48	0.56	0.48	0.56	0.39	0.26	-
11	11	0.39	0.26	0.39	0.26	0.39	0.26	+
12	12	0.48	0.55	0.48	0.56	0.48	0.26	-
13	13	0.62	0.31	0.53	0.31	0.36	0.26	-
14	14	0.53	0.42	0.53	0.42	0.36	0.26	-
15	15	0.52	0.32	0.52	0.32	0.36	0.26	-
16	16	0.51	0.48	0.51	0.48	0.42	0.27	-
17	17	0.51	0.48	0.51	0.48	0.41	0.27	-
18	18	0.51	0.47	0.51	0.47	0.39	0.27	-
19	19	0.59	0.53	0.59	0.53	0.48	0.30	-
20	20	0.60	0.54	0.60	0.54	0.48	0.30	-

SPE (Solid Phase Extraction) merupakan salah satu variasi dari teknik analisis yang tersedia untuk memperbaiki kesenjangan yang ada antara sampel dengan tahap-tahap analisis. Filtrasi, homogenisasi, presipitasi, reaksi kimia, pertukaran pelarut, konsentrasi, penghapusan matrix, solubilisasi merupakan komponen yang dapat digunakan secara tunggal atau kombinasi untuk mendapatkan sampel dengan bentuk yang kompatibel dengan alat analisis yang diperlukan

(Simpson, 2000). Dalam teknik SPE (Solid phase Extraction), biasanya terdapat beberapa reagen yang dapat sebagai matriks seperti garam, reagen derivatisasi, dan pelarut sehingga diperlukan prosedur *washing* dan *elution* untuk menghilangkan kelebihan reagen yang sering menjadi matriks atau pengganggu dalam mendeteksi analit(Corporation Restek, 2022). Keuntungan utama dari SPE adalah penggunaannya yang mudah, waktu cepat dan umunya hanya

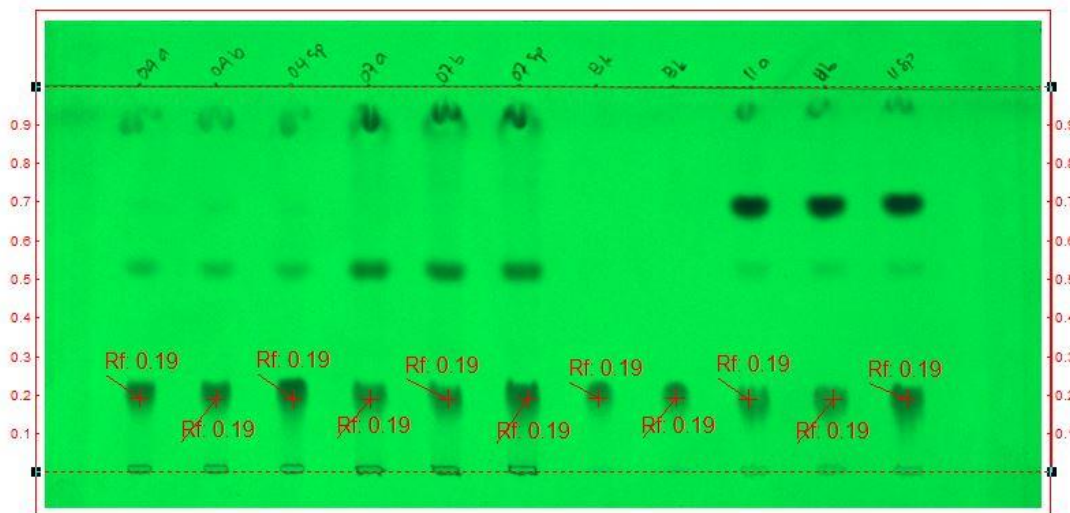
dibutuhkan pelarut ekstraksi dengan volume yang kecil (Thurman & Mills, 1998)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) atau *Thin Layer Chromatography* (TLC) adalah suatu teknik kromatografi yang sederhana yang biasanya digunakan untuk identifikasi senyawa-senyawa organik (Rohmah dan Rini, 2020). Pada dasarnya KLT melibatkan dua perubahan yaitu fase diam dan sifat gerak. Fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penyerap (kromatografi cair-padat) atau berfungsi sebagai penyangga untuk lapisan zat cair (kromatografi cair-cair) (Pusat Pengembangan

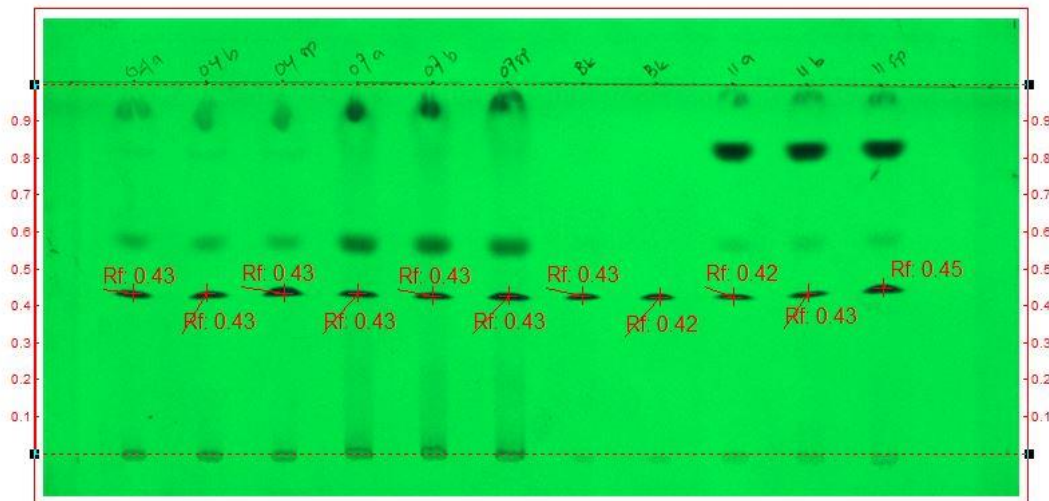
Metode Analisis Obat dan Makanan, 2011). Prinsip kerja dari KLT yaitu campuran yang akan dipisahkan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Penotolan dilakukan memakai pipa kapiler. Pelarut dibiarkan menguap atau dihilangkan dengan bantuan aliran udara kering. Lapisan kemudian dimasukan ke dalam bejana yang berisi pelarut yang dalamnya sekitar satu cm yang akan bertindak sebagai fase gerak. Lalu bejana ditutup ketat dan pelarut dibiarkan sekitar 10-15 menit. Titik tempat campuran yang ditotolkan pada ujung

Tabel 2 : nilai Rf sampel, spike dan baku sildenafil kode 04,07 dan 11 menggunakan 2 eluen

No	Kode sampel	Nilai Rf sampel		Nilai Rf sampel + baku		Nilai Rf Baku Pemanding		Sildenafil sitrat
		Eluen 1	Eluen 2	Eluen 1	Eluen 2	Eluen 1	Eluen 2	
1	04	0.43	0.19	0.43	0.19	0.43	0.19	+
2	07	0.43	0.19	0.43	0.19	0.43	0.19	+
3	11	0.42	0.19	0.43	0.19	0.43	0.19	+



Gambar 1. Hasil eluasi sampel kode 04, 07 dan 11 dibandingkan dengan spike dan baku sildenafil sitrat



Gambar 2. Hasil Eluasi sampel kode 04, 07 dan 11 dibandingkan dengan spike dan baku sildenafil sitrat

pelat atau lembaran disebut titik awal dan cara menempatkan cuplikan disebut penotolan. Garis depan pelarut ialah bagian atas fase gerak atau pelarut ketika bergerak melalui lapisan dan setelah pengembangan selesai, merupakan tinggi maksimum yang dicapai pelarut (Rohmah dan Rini, 2020).

Spektrofotodensitometri adalah metode analisis instrumental yang berdasarkan

interaksi radiasi elektro magnetik dengan analit yang merupakan noda pada KLT, alat ini dilengkapi dengan spektrofotometer yang mempunyai pancaran sinar yang panjang gelombang diatur dari 200 - 700 nm (Kurnia Setiawan dkk., 2017). Pada spektrofotodensitometri juga dilakukan penentuan transmisi pada panjang gelombang maksimal (Nur Patria Tjahjani, 2021).

Scan positions (gray if linked to previous TLC steps)

Number of tracks: 11
 Position of first track, X: 20.0 mm
 Distance between tracks: 15.0 mm
 Scan start position Y: 5.0 mm
 Scan end position Y: 75.0 mm

Track	Scan	Integrate	Sample ID	Color
1	✓	✓	04a	Blue
2	✓	✓	04b	Blue
3	✓	✓	04spike	Blue
4	✓	✓	07a	Blue
5	✓	✓	07b	Blue
6	✓	✓	07spike	Blue
7	✓	✓	sildenafil1	Blue
8	✓	✓	sildenafil2	Blue
9	✓	✓	11a	Blue
10	✓	✓	11b	Blue
11	✓	✓	11spike	Blue

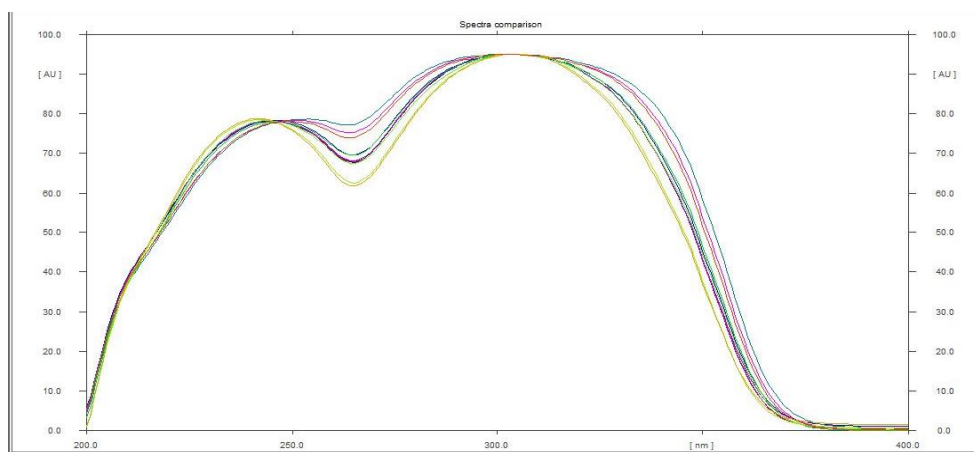
Gambar 3. Profil Scan Position sampel, spike sampel kode 04, 07,11 dan baku sildenafil pada instrumen Camag TLC 4

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display
1	0.56	sildenafil	958 AU @ 303 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
2	0.56	sildenafil	959 AU @ 302 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
3	0.57	sildenafil	961 AU @ 303 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
4	0.56	sildenafil	958 AU @ 304 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.55	sildenafil	959 AU @ 303 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.55	sildenafil	960 AU @ 300 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.55	sildenafil	956 AU @ 305 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.55	sildenafil	950 AU @ 304 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.55	sildenafil	950 AU @ 303 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.56	sildenafil	946 AU @ 303 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.58	sildenafil	962 AU @ 301 nm	<input checked="" type="checkbox"/>

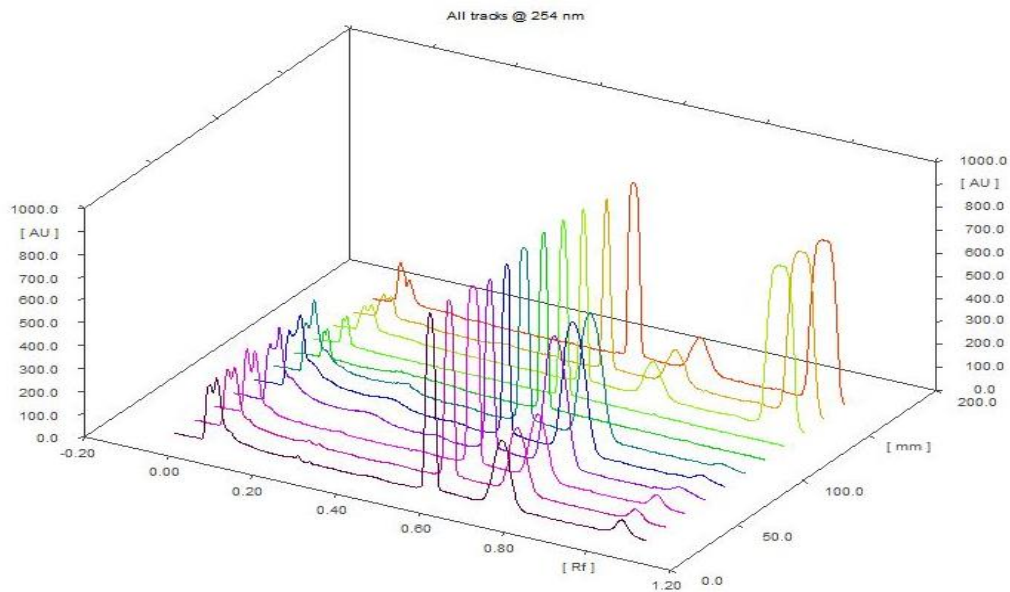
Gambar 4. Hasil scanning sampel, spike sampel kode 04,07,11 dan baku sildenafil eluen Etilasetat : asetonitril : Amonia 25%

Penelitian dilakukan terhadap 20 sampel kopi yang disampling secara acak di area Kota Palu dipreparasi dengan metode ekstraksi menggunakan etil asetat dilanjutkan dengan ekstaksi menggunakan SPE dimana penggunaan metode SPE bertujuan untuk mengeliminasi analit-analit pengganggu yang masih lolos melalui ekstraksi dengan etil asetat (Pusat Pengembangan Metode Analisis Obat dan Makanan, 2013), identifikasi hasil ekstaksi dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT)

yang dapat memisahkan komponen-komponen berdasarkan perbedaan tingkat interaksi dalam 2 fasa material pemisah (Pusat Pengembangan Metode Analisis Obat dan Makanan, 2017). Penelitian ini menggunakan fase diam berupa silika gel F₂₅₄ yang memiliki sifat relatif polar, mengandung silika dengan gipsum sebagai agen pengikat, dan indikator fluoresen yang dapat berfluorosensi. Pembentukan warna dapat diamati di bawah sinar UV.



Gambar 5. Profil Spektrum sampel kopi nomor 04, 07 dan sampel nomor 11 dengan eluen Etilasetat : asetonitril : Amonia 25%



Gambar 6. Profil 2 dimensi sampel, spike sampel nomor 04, 07, 11 dan baku sildenafil sitrat dengan eluen Etilasetat : asetonitril : Amonia 25%

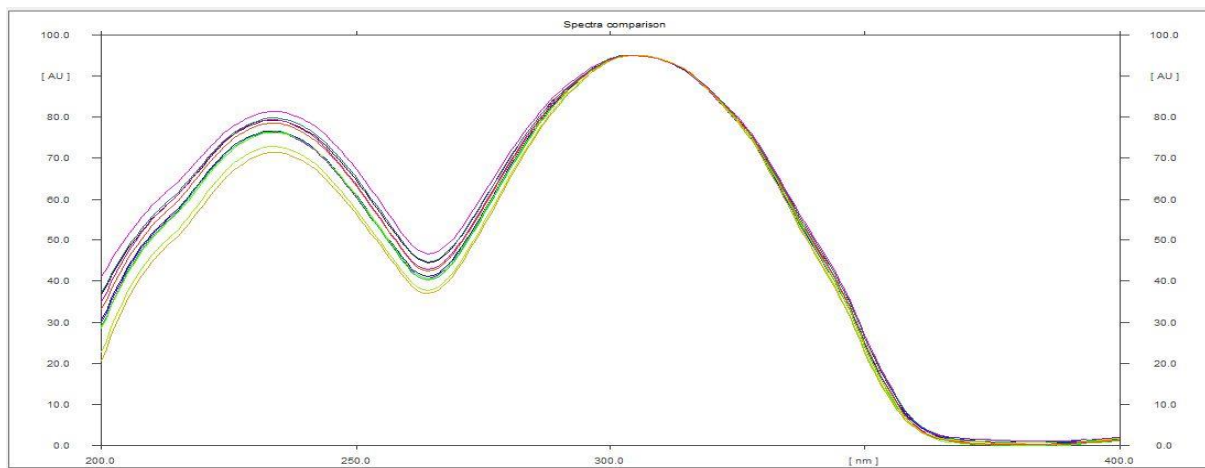
Hasil ekstraksi melalui SPE ditotolkan ke atas lempeng silika silika gel F_{254} dengan urutan sampel, spike dan baku perbandingan dengan menggunakan perangkat *Camag linomat 5* masing masing sebanyak sesuai dengan langkah kerja pada metode analisis Badan POM nomor 66/PA/11, selanjutnya lempeng silika gel F_{254} dielusi dengan 2 fase gerak yaitu etilasetat : asetonitril : amonia 25% dengan perbandingan 85:10:5 dan aseton : kloroform : eter dengan perbandingan 40:35:25, elusi sampel dilakukan dengan menggunakan alat

camag automatic developing chamber. Pada tahap elusi fase gerak yang bersifat nonpolar akan menahan senyawa yang polar di fasa diam (silika gel) yang bersifat polar dan akan membawa senyawa yang kurang polar naik ke atas (Rohmah dan Rini, 2020). Penelitian dengan metode KLT ini dilakukan dengan membandingkan antara nilai Rf sampel terhadap Rf spike dan Rf Baku dengan menggunakan *Camag Visualizer* dapat dilihat pada Tabel 1.

Show all of selected substance Clear all

Track	Rf	Assigned Substance	Max. Signal	Display
1	0.29	sildenafil	835 AU @ 304 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
2	0.29	sildenafil	824 AU @ 304 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
3	0.30	sildenafil	884 AU @ 304 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
4	0.27	sildenafil	761 AU @ 304 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.26	sildenafil	769 AU @ 304 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.28	sildenafil	848 AU @ 303 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.29	sildenafil	764 AU @ 306 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.28	sildenafil	762 AU @ 304 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.24	sildenafil	689 AU @ 305 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.24	sildenafil	668 AU @ 306 nm	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.26	sildenafil	813 AU @ 304 nm	<input checked="" type="checkbox"/>

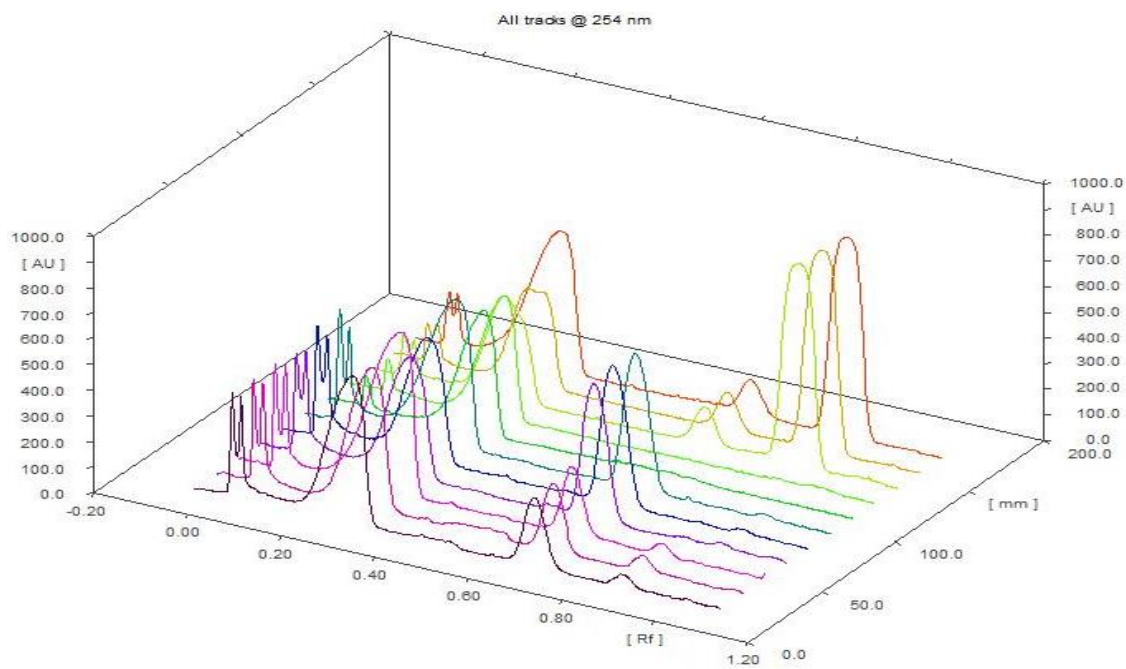
Gambar 7. Hasil scanning sampel, spike sampel kode 04,07,11 dan baku sildenafil eluen Aseton : Kloroform : eter



Gambar 8. Profil Spektrum sampel kopi nomor 04, 07 dan sampel nomor 11 dengan eluen Aseton : Kloroform : eter

Hasil identifikasi dengan menggunakan Metode KLT yang diamati dan dihitung nilai Rf-nya terlihat adanya 3 sampel yang teridentifikasi positif yaitu sampel nomor 04, 07 dan 11 hal ini ditandai dengan nilai Rf sampel sama dengan nilai Rf pada spike dan baku sehingga perlu dilakukan uji kembali terhadap sampel nomor 04, 07 dan 11 yang teridentifikasi positif tersebut, identifikasi terhadap ketiga nomor sampel tersebut tersaji pada Tabel 2.

Dari pengulangan identifikasi terhadap sampel nomor 04, 07 dan 11 menggunakan eluen etilasetat : asetonitril : amonia 25% (85 :10 : 5) terlihat bahwa noda sampel, noda spike dan noda baku memiliki Rf yang mirip, dan jika diamati menggunakan *Camag Visualizer* pada panjang gelombang 254 nm terlihat bahwa noda dari sampel spike dan baku memadamkan fluoresensi seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 9. Profil 2 dimensi kandungan sildenafil pada sampel kopi nomor 04, 07 dan sampel nomor 11 dengan eluen aseton : Kloroform : eter

Pada pengulangan identifikasi terhadap sampel nomor 04, 07 dan 11 menggunakan eluen kedua yaitu aseton : kloroform : eter (40 : 35 : 25) terlihat bahwa noda sampel, noda spike dan noda baku memiliki Rf yang mirip, dan jika diamati menggunakan *Camag Visualizer* pada panjang gelombang 254 nm terlihat bahwa noda dari sampel spike dan baku memadamkan fluoresensi seperti terlihat pada Gambar 2.

Untuk menegaskan hasil identifikasi menggunakan KLT, dilanjutkan penetapan Rf dan serapan maksimum menggunakan instrumen *Camag TLC 4*. Pelat KLT yang telah ditetapkan nilai Rf-nya menggunakan *Camag Visualizer* dimasukkan kedalam *Camag TLC 4* untuk diukur serapan gelombang maksimumnya (Pusat Pengembangan Metode Analisis Obat dan Makanan, 2017), penetapan nilai Rf dan serapan maksimum noda pada pelat KLT menggunakan *Camag TLC 4* dengan perlakuan *Slit dimensions* :4.00 x 0.30 mm micro; *Scanning speed* : 20 mm/s; *data resolution* : 100 µm/step; lamp: D2; *wavelength*: 20 – 400 nm. Urutan scan position dilakukan dengan urutan seperti pada Gambar 3.

Penetapan panjang gelombang sampel kode 04, 07 ,11, spike sampel dan baku sildenafil sitrat pada lempeng KLT dengan eluen etilasetat : asetonitril : amonia 25% memberikan hasil serapan gelombang maksimum antara 301- 305 nm dan nilai Rf berkisar antara 55 – 56 seperti pada Gambar 4.

Dari hasil scanning menggunakan *Camag TLC 4* terhadap sampel, spike sampel kode 04, 07, 11 dan baku sildenafil eluen etilasetat : asetonitril : amonia 25% menghasilkan spektrum seperti pada Gambar 5.

Serapan maksimum noda pada pelat KLT menggunakan *Camag TLC 4* dengan perlakuan *Slit dimensions* :4.00 x 0.30 mm Micro; *Scanning speed* : 20 mm/s; *Data resolution* : 100 µm/step; Lamp: D2; *Wavelength*: 20 – 400 nm dengan eluen eluen Etilasetat : asetonitril : Amonia 25% menghasilkan profil 2 dimensi pada Gambar 6.

Selain penetapan *retention factor* (Rf) dan serapan gelombang maksimum pada lempeng

KLT yang diekspansi menggunakan eluen etilasetat : asetonitril : amonia 25% penetapan juga dilakukan pada lempeng KLT dengan eluen aseton : kloroform : eter

Pada penetapan panjang gelombang sampel dan nilai Rf kode sampel 04, 07 ,11, spike sampel dan baku sildenafil sitrat pada lempeng KLT dengan eluen Aseton : Kloroform : eter. dihasilkan serapan gelombang maksimum antara 304- 306 nm dengan nilai *retention factor* berkisar antara 24– 30 seperti pada Gambar 7.

Dari hasil scanning menggunakan *Camag TLC 4* terhadap sampel, spike sampel kode 04, 07, 11, dan baku sildenafil aseton : kloroform : eter dihasilkan spektrum serapan maksimum seperti pada Gambar 8.

Serapan maksimum noda pada Lempeng KLT menggunakan *Camag TLC 4* dengan perlakuan *Slit dimensions* :4.00 x 0.30 mm Micro; *Scanning speed* : 20 mm/s; *Data resolution* : 100 µm/step; Lamp: D2; *Wavelength*: 20 – 400 nm dengan eluen eluen Etilasetat : asetonitril : Amonia 25% menghasilkan profil 2 dimensi pada Gambar 9.

Identifikasi kandungan bahan kimia Obat (BKO) terhadap 20 sampel kopi dengan menggunakan metode analisis BPOM 66/PA/11, metode analisis BPOM 45/OT/13, metode analisis BPOM 29/OTPK/17 dan metode analisis BPOM nomor 31/OTPK/17. Pada metode tersebut dilakukan 2 tahap preparasi sampel yaitu dengan menggunakan etil asetat (Pusat Pengembangan Metode Analisis Obat dan Makanan, 2017) dilanjutkan dengan menggunakan SPE (Pusat Pengembangan Metode Analisis Obat dan Makanan, 2013), penggunaan SPE bertujuan untuk mengeliminasi analit pengganggu pada lempeng KLT (Simpson, 2000). Penggunaan SPE memperlihatkan berkurangnya noda pengganggu pada lempeng KLT sehingga sampel dapat dianalisis dengan sempurna. Pada identifikasi BKO sildenafil sitrat digunakan dua eluen yaitu etilasetat : asetonitril : amonia 25% dan aseton : kloroform : eter. Penggunaan dua eluen tersebut menghasilkan pemisahan noda yang cukup sempurna pada jarak rambat

7,5 cm dengan menggunakan instrumen *Automatic Developing Chamber*.

Dari identifikasi yang dilakukan terhadap 20 sampel kopi di ditemukan 3 sampel positif mengandung sildenafil sitrat yaitu sampel nomor 04, 07, dan nomor 11. Identifikasi kandungan sildenafil sitrat dalam ke 20 sampel kopi tersebut diawali dengan tahap *Scening* dilanjutkan dengan identifikasi terhadap sampel yang memiliki nilai *retention factor* (Rf) sama dengan nilai Rf baku sildenafil sitrat serta serapan gelombang maksimum menggunakan instrumen Spektrofotodensitometri *Camag TLC*.

Penetapan panjang gelombang sampel kode 04, 07, 11, spike sampel, dan baku sildenafil sitrat pada lempeng KLT dengan eluen etilasetat : asetonitril : amonia 25% memberikan hasil serapan gelombang maksimum antara 301- 305 nm dan nilai Rf berkisar antara 55 – 56 (Gambar 4), sedangkan penetapan panjang gelombang sampel dan nilai Rf kode sampel 04, 07, 11, spike sampel, dan baku sildenafil sitrat pada lempeng KLT dengan eluen aseton : kloroform : eter dihasilkan serapan gelombang maksimum antara 304- 306 nm dengan nilai *retention factor* berkisar antara 24– 30 (Gambar 7). Dari hasil scanning menggunakan *Camag TLC 4* terhadap sampel, spike sampel kode 04, 07, 11 dan baku sildenafil dihasilkan spektrum serapan maksimum sampel, spike sampel sama dengan spektrum baku sildenafil (Gambar 5&8), selain itu juga Profil 2 dimensi sampel,spike sampel nomor 04, 07, 11 menunjukkan puncak gelombang yang sama dengan puncak gelombang pada baku sildenafil sitrat (Gambar 6 & 9)

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari identifikasi yang dilakukan terhadap 20 sampel kopi di ditemukan 3 sampel positif mengandung sildenafil sitrat yaitu sampel nomor 04,07 dan nomor 11. Dari data-data penelitian yang telah dilakukan menunjukan nilai *retention factor* (Rf) sampel pada lempeng KLT dan densitometri sama dengan Rf baku sildenafil sitrat, spektrum serapan gelombang

maksimum sampel juga identik dengan spektrum serapan gelombang maksimum baku sildenafil sitrat sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel kode 04, 07, dan sampel kode 11 mengandung sildenafil sitrat. Dari data penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan Bahan Kimia Obat (BKO) sildenafil sitrat kedalam produk kopi bubuk juga terjadi di Kota Palu.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan (2011). *Metode analisis nomor 66/PA/11 : Identifikasi sildenafil sitrat, Tadalafil sitrat dan vardenafil klorida dalam kopi bubuk dan produk olahannya secara Thin layer Cromatography(TLC) dan Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS)*. Jakarta, Badan Pengawas Obat dan Makanan.,
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (2013). *Metode analisis nomor 29/OTPK/17 Identifikasi sildenafil sitrat, tadalafil dan vardenafil hidroklorida dalam obat tradisional dan suplemen kesehatan sediaan cair secara kromatografi lapis tipis, spektrofotodensitometri dan kromatografi cair kinerja tinggi detektor photo diode array(PDA)*. Jakarta, Badan Pengawas Obat dan Makanan
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (2013). *Metode analisis nomor 45/OT/13 : Identifikasi Dan Penetapan Kadar Norasetildenafil, Vardenafil Hidroklorida, Sildenafil Sitrat, Thiosildenafil, Thiodimetil Sildenafil, dan tadalafil dalam obat tradisional sediaan padat melalui pemisahan dengan SPE secara LC-MS/MS*. Jakarta, Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (2016). *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor 21 Tahun 2016 Tentang Kategori Pangan*. Jakarta, Badan Pengawas Obat dan Makanan

- Badan Pengawas Obat dan Makanan (2017). Metode analisis nomor 31/OTPK/17: Identifikasi Sildenafil Sitrat, Tadalafil, Vardenafil, Hidroklorida, Thiosildenafil, Aminotadalafil, Norasetildenafil, Thiodime tilsildenafil, Hidroksihomosildeafil, Hidroksithiohomosildenafil, Propoksifenil Hidroksihomosildenafil, Metil Testosteron, Dan Yohimbin Hidroklorida Dalam Obat Tradisional Dan Suplemen Kesehatan Sediaan Padat Dan Cair Secara Kromatografi Lapis Tipis Dan Spektrofotodensitometri. Jakarta, Badan Pengawas Obat dan Makanan
- Corporation, Restek (2022). *The Fundamentals of Solid Phase Extraction (SPE)* Restek Corporation
- Dachriyanus, Meri Susanti. (2019) *Kromatografi cair kerja Tinggi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi Universitas Andalas
- Husna, F. Ranawulan. Mita, S. (2020). Identifikasi Bahan Kimia Obat Dalam Obat Tradisional Stamina Pria Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka* (18) 2
- Jamilatur Rohmah & Chylen Setiyo Rini (2020) *Buku ajar kimia analisis*. Universitas muhammadiyah sidoarjo
- K, Simpson, M Wells, Martha J. Nigel J. K. (2000). *Introduction to Solid-Phase Extraction The Sample Preparation Problem Solid-Phase Extraction*. Taylor & Francis Group LLC
- Kementerian Perindustrian Republik Indonesia (2016) *Pemberlakuan Standar Nasional Indonesia (SNI) Kopi Instan Secara Wajib*. Jakarta Menteri Perindustrian Republik Indonesia
- Kulsum, I. Suryana, S. Soni, D. (2022) Review: Molecularly Imprinted Polymer Solid Phase Extraction (MIP-SPE) untuk Pengujian Glibenklamid dalam Cairan Biologis. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 4(2) 205-2013
- Kurnia S, Henry, Marcella K, Neysa S, Emil (2018). *Validasi Metode Identifikasi Sildenafil Sitrat, Tadalafil dan Fenilbutazon dalam Jamu Obat Kuat Secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri*. *Journal of pharmacy science and practice*, 7(1) 1 - 7
- Nugroho, Agung (2017). *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*. Lambung Mangkurat University Press
- Nur Patria Tjahjani, (2021) *Analisis Perbedaan Kadar Kafein Pada Kopi Bubuk Hitam dan Kopi Bubuk Putih Instan Secara Spektrofotometri UV-Vis*. *Cendikia jurnal Pharmacy* 5(1), 52-62
- Rahmatia, T. (2016) *Metode SPE (Solid Phase Extraction) Sebagai Alternatif Terbaru Dalam Analisis Dan Pemurnian Senyawa Obat*. *Farmaka Suplemen*, 14(2), 151-171.
- Reni Septiani, (2021) *Validasi Metode Identifikasi Kafein, Parasetamol, Sildenafil Sitrat, Tadalafil dan Vardenafil HCl Secara Simultan Dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri*. 1(1), 1-7.
- Savitri, Asri. Megantara, Sandra (2019). *Metode KLT-Densitometri Sebagai Penetapan Kadar Bahan Aktif Sediaan Farmasi*. *Farmaka* 17(2), 1-14
- Simpson, Nigel J. K. (2000). *Solid-phase extraction : principles, techniques, and applications*. Marcel Dekker, Inc.
- Standar Nasional Indonesia (2014). *SNI 2983:2014-Kopi Instan*. Jakarta. Badan Standarisasi Nasional
- Utama, Q. D., Zainuri, Z., Paramartha, D. N. A., Widyasari, R., & Aini, N. (2022). Dekafeinasi Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Lombok Menggunakan Sari Labu Siam (*Sechium edule*). *Pro Food*, 8(1), 77-87. <https://doi.org/10.29303/profood.v8i1.253>
- Waris, R. Kadir, A. Akbar, C (2013). *Identifikasi Dan Penetapan Kadar Sildenafil Sitrat Pada Jamu Kuat Lelaki Yang Beredar Di*

Kota Makassar. Jurnal As-Syifaa 05(01),
95-102