

**ANALISIS SILDENAFIL SITRAT DALAM KOPI BUBUK
YANG DI PEROLEH DARI PASAR TRADISIONAL MAKASSAR
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



**MUTMAINNAH
N011201073**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ANALISIS SILDENAFIL SITRAT DALAM KOPI BUBUK
YANG DI PEROLEH DARI PASAR TRADISIONAL MAKASSAR
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**MUTMAINNAH
N011201073**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ANALISIS SILDENAFIL SITRAT DALAM KOPI BUBUK
YANG DI PEROLEH DARI PASAR TRADISIONAL MAKASSAR
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

MUTMAINNAH
N011201073

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada

**PROGRAM STUDI FARMASI
DEPARTEMEN FARMASI SAINS DAN TEKNOLOGI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

**ANALISIS SILDENAFIL SITRAT DALAM KOPI BUBUK
YANG DI PEROLEH DARI PASAR TRADISIONAL MAKASSAR
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

MUTMAINNAH
N011201073

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi
pada 03 Oktober 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing utama,




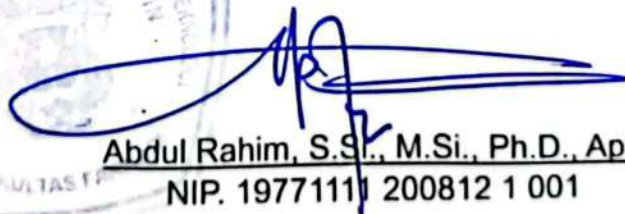
Aminullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt.
NIP. 19820210 200912 1 004

Mengetahui:
Pembimbing pendamping,



Dr. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt.
NIP. 19630801 199003 1 001

Mengetahui
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan,



Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19771111 200812 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Analisis Sildenafil Sitrat dalam Kopi Bubuk yang di Peroleh dari Pasar Tradisional Makassar menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Aminullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt dan Dr. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt.). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 9 Oktober 2024



MUTMAINNAH
N011201073

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabbil'alamin, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas segala rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Analisis Sildenafil Sitrat Dalam Kopi Bubuk yang diperoleh dari Pasar Tradisional Makassar menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis". Shalawat serta salam selalu tercurahkan pada junjungan Nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi wassalam yang telah menuntun umat manusia ke zaman penuh peradaban dan keberkahan.

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana hingga selesai dan skripsi ini dapat dirampungkan atas bimbingan, diskusi, dan arahan Bapak Aminullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt sebagai pembimbing utama dan Bapak Dr. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. sebagai pembimbing pendamping. Saya mengucapkan terima kasih kepada Bapak atas bimbingan dan dukungan yang luar biasa dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih telah memberikan ilmu dan waktu Bapak yang berharga selama proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih kepada Dekan Fakultas Farmasi Prof.Dr.rer.nat. Marianti A. Manggau, Apt. serta Prof. Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. dan Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt, selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan, kritik, dan saran yang bermanfaat bagi penulis. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada seluruh pihak yang telah mengizinkan saya untuk melaksanakan penelitian dan menggunakan fasilitas serta peralatan di Laboratorium Biofarmaka. Terima kasih saya sampaikan kepada Ibu Dewi Primayanti Laela, S.Si, atas bantuan yang diberikan selama proses penelitian.

Tak lupa pula, rasa terima kasih saya sampaikan kepada teman-teman saya (Dini, Nurul, Ica, Tiara, Nining, Dwita, Hikmah, Ilmi, dan Dwi Darul) atas motivasi dan dukungan yang diberikan selama proses penelitian saya serta kepada seluruh teman-teman angkatan 2020 terima kasih atas dukungannya.

Akhirnya, terima kasih yang sebesar-sebesarannya kepada kedua orang tua tercinta saya mengucapkan terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Terima kasih telah mempercayai saya selama berproses dan tidak menuntut apapun, membuat saya bisa bertahan dan melangkah dengan lebih ringan. Terima kasih banyak atas segala dukungan baik moral dan material yang telah diberikan yang takkan pernah bisa saya gantikan. Terima kasih Mama, Papa, dan Adik saya atas kasih sayang dan dukungan tanpa batas yang diberikan.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan masukan dan saran dari berbagai pihak yang bersifat membangun. Penulis juga berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan masyarakat.

Penulis,

Mutmainnah

ABSTRAK

MUTMAINNAH. Analisis Sildenafil Sitrat dalam Kopi Bubuk yang di peroleh dari Pasar Tradisional Makassar menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis (dibimbing oleh Aminullah dan Syaharuddin Kasim).

Latar Belakang. Kopi merupakan minuman yang sangat disukai oleh masyarakat Indonesia. Sesuai peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) tahun 2023, produk kopi tidak boleh mengandung zat kimia tertentu yang mengancam kesehatan manusia. Namun, banyak produsen kopi yang melanggar aturan, yaitu memproduksi kopi dengan menambahkan Bahan Kimia Obat (BKO) salah satunya Sildenafil Sitrat yang dikenal sebagai obat kuat pria. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui validitas metode analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis, mengetahui adanya kandungan serta jumlah kadar sildenafil sitrat dalam sampel kopi bubuk yang diteliti. **Metode.** Uji kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan validasi metode analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan parameter linearitas, batas deteksi, batas kuantitasi, akurasi, presisi, dan selektivitas. Setelah dinyatakan validitasnya, dilakukan penetapan kadar sildenafil sitrat dalam sampel kopi bubuk. **Hasil.** Uji kualitatif dengan metode KLT, didapatkan hasil dari 12 sampel kopi bubuk, 3 diantaranya memiliki nilai Rf yang sama dengan nilai Rf baku sildenafil sitrat yaitu 0,71. Berdasarkan hasil validasi metode analisis diperoleh panjang gelombang maksimum sildenafil sitrat 292,6 nm, uji linearitas dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,9986, batas deteksi 1,4850 µg/mL; batas kuantitasi sebesar 4,5001 µg/mL, uji akurasi diperoleh %recovery ialah 92,36% - 93,15% dan uji presisi diperoleh %RSD ialah 0,0077% serta spesifisitas, terbentuk puncak dengan λ_{maks} yang tidak jauh berbeda dengan standar. Konsentrasi sildenafil sitrat yang ditemukan dalam 3 sampel kopi bubuk adalah 2,276%; 2,693%; dan 3,209% dalam 10 mg. **Kesimpulan.** Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan telah valid sehingga metode ini dapat digunakan dalam analisis sildenafil sitrat dan sampel kopi bubuk yang diteliti positif mengandung Bahan Kimia Obat (BKO) sildenafil sitrat.

Kata kunci: kopi bubuk; sildenafil sitrat; spektrofotometri UV-Vis; validasi metode analisis

ABSTRACT

MUTMAINNAH. **Sildenafil Citrate Analysis in Coffee Powder obtained from Traditional Makassar Market using UV-Vis Spectrophotometry Method** (supervised by Aminullah and Syaharuddin Kasim).

Background. Coffee is a very popular drink among Indonesians. According to the Food and Drug Administration (BPOM) 2016 regulations, coffee products must not contain certain chemicals that threaten human health. However, many coffee producers are breaking the rules, namely, producing coffee by adding Drug Chemicals (BKO) one of them is Sildenafil Citrate known as a male potent drug. **Aims.** The study aims to determine the validity of the analysis method using UV-Vis spectrophotometry, as well as the content and quantity of sildenafil citrate in the sample of coffee powder studied. **Methods.** Qualitative testing with Thin Layer Chromatography (TLC) method and validation of analysis methods using UV-Vis spectrophotometry with linearity parameters, LOD, LOQ, accuracy, precision, and selectivity. After the validity was declared, the determination of sildenafil citrate content in the coffee was performed **Results.** Qualitative test with KLT method, obtained the results of 12 ground coffee samples, 3 of which have the same R_f value as the standard R_f value of sildenafil citrate which is 0.71. Based on the validation results of the analytical method, the maximum wavelength of sildenafil citrate was 292.6 nm, linearity test with a correlation coefficient (r) value of 0.9986, detection limit of 1.4850 µg/mL; limit of quantitation of 4.5001 µg/mL, accuracy test obtained %recovery is 92.36% - 93.15% and precision test obtained %RSD is 0.0077% and specificity, formed a peak with λ_{max} which is not much different from the standard. The concentration of sildenafil citrate found in 3 ground coffee samples were 2.276%; 2.693%; and 3.209% in 10 mg. **Conclusion.** The results show that the method used has been valid so that this method can be used in the analysis of sildenafil citrate and coffee powder samples tested positively containing the Medicinal Chemicals (BKO).

Keywords: coffee powder; sildenafil citrate; spectrophotometry UV-Vis; validation of method

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
BAB II. METODE PENELITIAN	4
2.1 Alat dan Bahan.....	4
2.2 Metode Penelitian.....	4
2.2.1 Pengambilan Sampel	4
2.2.2 Preparasi Sampel.....	4
2.2.3 Pembuatan Larutan Sampel	4
2.2.4 Analisis Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis	4
2.2.5 Validasi Metode Analisis	5
2.2.6 Analisis Data dan Penetapan Kadar Sildenafil Sitrat	7
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	8
3.1 Analisis Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis	8
3.2 Validasi Metode Analisis	9
3.3 Penetapan Kadar Sildenafil Sitrat	17
BAB IV. PENUTUP	19
4.1 Kesimpulan	19
4.2 Saran.....	19
DAFTAR PUSTAKA.....	20
LAMPIRAN.....	22

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data hasil uji kualitatif.....	8
2. Data hasil uji linearitas	11
3. Data hasil uji akurasi (<i>%recovery</i>).....	12
4. Data hasil uji presisi	12
5. Data hasil uji LOD (<i>Limit of Detection</i>) dan LOQ (<i>Limit of Quantitation</i>)	13
6. Data hasil penetapan kadar	18

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur kimia sildenafil sitrat.....	1
2. Hasil uji kualitatif dengan lempeng KLT pada standar sildenafil sitrat dan 12 sampel kopi bubuk	9
3. Spektrum panjang gelombang maksimum sildenafil sitrat	10
4. Kurva kalibrasi larutan standar sildenafil sitrat.....	11
5. Spektrum baku sildenafil sitrat	14
6. Spektrum sampel K	14
7. Spektrum sampel M	15
8. Spektrum sampel P	15
9. Spektrum sampel K <i>spike</i>	16
10. Spektrum sampel M <i>spike</i>	16
11. Spektrum sampel P <i>spike</i>	17
12. Hasil elusi 1 dengan eluen kloroform:metanol (1:4) pada UV 254 nm	34
13. Hasil elusi 1 dengan eluen kloroform:metanol (1:4) pada UV 366 nm	34
14. Hasil elusi 2 dengan eluen etil asetat:kloroform:ammonia (9:1:0,2) pada UV 254 nm	34
15. Hasil elusi 2 dengan eluen etil asetat:kloroform:ammonia (9:1:0,2) pada UV 366 nm	35
16. Proses penimbangan baku sildenafil sitrat.....	36
17. Proses penimbangan sampel.....	36
18. Preparasi sampel	36
19. Proses sonikasi sampel.....	36
20. Proses penyaringan sampel.....	36
21. Proses penguapan sampel.....	36
22. Proses kurva baku, uji linearitas, LOD dan LOQ	37
23. Larutan sampel.....	37
24. Uji kualitatif dengan KLT	37
25. Pengujian akurasi, presisi, dan selektivitas.....	37
26. Analisis dengan Spektrofotometri UV-Vis	37
27. Alat Spektrofotometri UV-Vis.....	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja penelitian	22
2. Perhitungan Data	27
3. Hasil Analisis Spektrofotometri UV-Vis	32
4. Hasil Uji Penegasan KLT Dua Dimensi	34
5. Dokumentasi.....	36
6. <i>Curriculum Vitae</i>	38

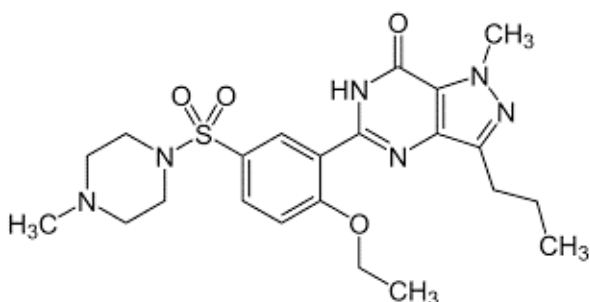
BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan produsen kopi terbesar keempat di dunia setelah Brazil, Vietnam, dan Kolombia (Amaluddin dan Malik, 2018). Masyarakat Indonesia sangat menyukai meminum kopi. Hasil Survei Sosial Ekonomi Nasional mengungkap bahwa sebagian besar konsumsi kopi rumah tangga ialah kopi bubuk. Di Indonesia, kebiasaan minum kopi sudah menjadi bagian dari gaya hidup banyak orang. Perilaku ini erat kaitannya dengan kemunculan media sosial, internet, dan bentuk periklanan lainnya, serta lingkungan keluarga. Masyarakat dari semua kelas sosial ekonomi kini mengonsumsi kopi. Minum kopi sudah menjadi kebiasaan dan budaya masyarakat (Solikatun et al., 2015).

Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) tahun 2016 menyatakan bahwa produk kopi tidak boleh mengandung zat kimia tertentu yang mengancam kesehatan manusia. Salah satu permasalahan yang banyak terjadi di industri kopi adalah penyertaan Bahan Kimia Obat (BKO) pada produk kopi. Data BPOM menemukan kopi yang beredar di masyarakat seperti Kopi Rempah Grenk, Kopi Cethot, Greeng Jos Kopi Bapak, Kopi Stamina SB, Kopi Jantan, Kopi Cleng, dan Kopi Bapak yang mengandung zat berbahaya seperti parasetamol dan sildenafil sitrat. Seharusnya, kedua zat tersebut tidak berada dalam sebuah produk minuman (BPOM RI, 2022).



Gambar 1. Struktur kimia sildenafil sitrat

Menurut Mbealo dan Utama (2022), sildenafil sitrat merupakan salah satu BKO yang sering dilaporkan ditambahkan pada produk kopi. Sildenafil sitrat merupakan obat yang biasa diresepkan untuk pria dengan disfungsi ereksi. Selain itu, digunakan untuk meningkatkan kemampuan fisik individu dewasa

yang telah didiagnosis menderita *Pulmonary Arterial Hypertension*. Sildenafil termasuk dalam kelas obat yang disebut inhibitor fosfodiesterase. Perlu diketahui bahwa dosis sildenafil yang tidak tepat dapat menyebabkan efek samping yang lebih serius seperti kejang, detak jantung tidak teratur, penglihatan kabur atau kebutaan mendadak, bahkan kematian (Fridayangga & Kongres, 2022). Sildenafil sitrat ini adalah salah satu dari jenis obat baru dipasarkan di kalangan masyarakat sebagai suatu produk paten berupa viagra dan revatio. Sildenafil Sitrat termasuk pada golongan obat keras, sehingga dalam memperoleh obat tersebut dibutuhkan resep dari dokter dan tidak dapat ditebus bebas tanpa disesuaikan dengan takaran komposisi obat yang memang sesuai dengan penggunaan pada masing-masing tubuh pasien (Prawitasari et al., 2022).

Maraknya kasus penambahan BKO ke dalam produk kopi, sehingga sangat penting melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi sildenafil sitrat pada produk kopi. Terdapat banyak kopi bubuk yang beredar di pasar tradisional Kota Makassar, kurangnya

pengetahuan konsumen mengenai kopi bubuk yang mengandung Bahan Kimia Obat (BKO) terutama sildenafil sitrat menjadi hal yang sangat membahayakan jika dikonsumsi secara tidak tepat. Penelitian terkait sildenafil sitrat telah dilakukan sebelumnya dengan sampel jamu kuat lelaki yang beredar di Kota Makassar. Namun, pada sampel kopi bubuk yang beredar di Makassar terutama yang diperoleh dari pasar tradisional belum pernah di laporkan.

Berbagai teknik analisis telah digunakan untuk penentuan sildenafil sitrat. Analisis kualitatif sildenafil sitrat menggunakan metode KLT, strip dan reaksi warna, sedangkan analisis kuantitatif dengan metode KCKT, LCMS dan Densitometri (Kurniaty, Khairan and Lelifajri, 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mbealo dan Utama (2022) menggunakan metode *Solid Phase Extraction* (SPE), Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan Spektrofotodensitometri menemukan bahwa terdapat 3 sampel kopi dari 20 sampel kopi yang di analisis yang beredar di Kota Palu positif mengandung sildenafil sitrat. Pada penelitian Hakim et al., (2022) menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) didapatkan hasil dari 7 sampel jamu yang diujikan semuanya positif mengandung sildenafil sitrat. Lalu pada penelitian Setiawan et al., (2020) menggunakan metode KLT-Densitometri didapatkan hasil 14 dari 22 sampel jamu, positif mengandung sildenafil sitrat.

Salah satu metode lain yang bisa digunakan untuk analisis sildenafil sitrat yaitu spektrofotometri UV-Vis. Secara umum, metode analisis berbasis instrumen memiliki beberapa kelebihan, yaitu menghasilkan pengukuran yang lebih cepat, akurat, dan konsisten. Spektrofotometri UV-Vis memiliki beberapa keunggulan seperti harga spektrometer terjangkau, tersedia di banyak laboratorium standar, dan mudah dalam pengoperasian alat (Yulia et al., 2021). Sildenafil sitrat dapat dianalisis dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis karena mempunyai gugus kromofor, karena kromofor merupakan system yang bertanggung jawab terhadap absorpsi cahaya (Hardjono, 2018). Oleh sebab itu, peneliti tertarik untuk melakukan pengujian analisis terhadap kadar sildenafil sitrat yang mungkin terkandung dalam kopi bubuk yang beredar di pasar tradisional Kota Makassar menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka masalah yang dapat dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Apakah kopi bubuk yang beredar di pasar tradisional Kota Makassar mengandung sildenafil sitrat?
2. Apakah metode spektrofotometri UV-Vis valid untuk digunakan dalam analisis sildenafil sitrat pada sampel kopi bubuk yang beredar di pasar tradisional Kota Makassar?
3. Berapa kadar sildenafil sitrat dalam kopi bubuk yang beredar di pasar tradisional Kota Makassar menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengidentifikasi kandungan sildenafil sitrat pada kopi bubuk yang beredar di pasar tradisional Kota Makassar.
2. Untuk validasi metode spektrofotometri UV-Vis dalam penetapan kadar sildenafil sitrat pada sampel kopi bubuk yang beredar di pasar tradisional Kota Makassar.
3. Untuk menentukan kadar sildenafil sitrat yang terdapat dalam kopi bubuk yang beredar di pasar tradisional Kota Makassar menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex®), cawan porselen, mikropipet (Biohit®), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu®), timbangan analitik (Denver® SI-234), *waterbath* (Memmert®), dan sonikator (VWR®).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *aquadest*, kertas saring, kloroform, metanol PA, sampel kopi bubuk, sildenafil sitrat, silika gel 60 GF₂₅₄.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kopi bubuk yang beredar di Kota Makassar. Adapun jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu sebanyak 12 sampel. Pemilihan sampel ini dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu salah satu cara menentukan sampel dengan pertimbangan tertentu sesuai dengan kriteria yang diinginkan (Sugiyono, 2018). Pemilihan sampel kopi bubuk dilakukan pembelian di beberapa pasar tradisional yang berada di wilayah Makassar dengan kriteria seperti 6 sampel kopi yaitu hanya kopi bubuk murni (original) dengan pengemasan yang sederhana berupa kantong plastik biasa, dan 6 kopi yang memiliki atau tidak memiliki nomor izin edar BPOM atau tidak terdaftar di BPOM, tetapi mencantumkan nomor izin edar fiktif pada kemasan, kopi mempunyai kandungan herbal, kopi sebagai penambah stamina dan/atau solusi keperkasaan, serta produk yang paling banyak dibeli atau terjual.

2.2.2 Preparasi Sampel

Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 10 mg lalu dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 100 mL dan dilarutkan dalam 50 mL metanol PA. Kemudian campuran disonikasi pada sonikator selama 30 menit, dan disaring dengan kertas saring untuk selanjutnya diuapkan di *waterbath* pada suhu 50°C sampai kering (Noviardi et al., 2016).

2.2.3 Pembuatan Larutan Sampel

Larutan stok sampel dibuat dengan menimbang hasil ekstraksi sampel sebanyak 10 mg, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, kemudian cukupkan dengan metanol PA hingga tanda batas dan diperoleh larutan sampel konsentrasi 1000 ppm. Campuran disonikasi selama 15 menit (Setiawan et al., 2020).

2.2.4 Analisis Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Sampel ditotolkan pada lempeng KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian dibiarkan beberapa saat hingga mengering. Lempeng KLT yang telah mengandung totolan sampel dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan sebelumnya dengan fase gerak berupa metanol:kloroform (4:1). Lempeng dibiarkan hingga terelusi

sempurna, selanjutnya lempeng KLT diangkat dan dikeringkan. Diamati warna secara visual dan dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm (Setiawan et al., 2020).

2.2.5 Validasi Metode Analisis

2.2.5.1 Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok 1000 ppm dilakukan dengan cara menimbang baku sildenafil sitrat sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, lalu dilarutkan dengan 10 mL metanol hingga tanda batas. Larutan stok disonikasi hingga diperoleh larutan bening. Selanjutnya, larutan stok diencerkan dalam konsentrasi 500 ppm dan 100 ppm (Noviardi et al., 2016).

2.2.5.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum sildenafil sitrat dilakukan dengan cara mengukur serapan larutan sildenafil sitrat dari larutan stok konsentrasi 500 ppm. Pengukuran dilakukan pada rentang panjang gelombang 200-400 nm (Noviardi et al., 2016).

2.2.5.3 Pembuatan Larutan Baku Sildenafil Sitrat dan Uji Linearitas

Larutan baku sildenafil sitrat dibuat sebanyak 7 konsentrasi dengan cara dipipet larutan stok 500 ppm masing-masing sebanyak 0,1 mL; 0,15 mL; 0,2 mL; 0,25 mL; 0,3 mL; 0,35 mL; dan 0,4 mL ke dalam masing-masing labu tentukur 5 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi sebesar 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm, 35 ppm, dan 40 ppm. Selanjutnya, masing-masing seri konsentrasi larutan dicukupkan dengan metanol hingga mencapai tanda batas dan larutan dihomogenkan. Kemudian masing-masing larutan di analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 292,60 nm (Maghfiroh et al., 2022).

2.2.5.4 Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan 6 kali pengukuran dari konsentrasi 40 ppm. Larutan seri baku sildenafil sitrat dibuat dengan cara dipipet larutan stok 100 ppm sebanyak 2 mL ke dalam labu tentukur 5 mL dan dicukupkan dengan metanol hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 40 ppm. Campuran dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis menggunakan panjang gelombang 292,60 nm.

Untuk akurasi dihitung *%recovery* dengan rumus (Riyanto, 2017):

$$\%recovery = \frac{\text{konsentrasi yang diperoleh}}{\text{konsentrasi yang sebenarnya}} \times 100\%$$

2.2.5.5 Presisi

Uji presisi dilakukan dengan metode repeabilitas (keterulangan). Presisi ditentukan dengan dibuat larutan sildenafil sitrat dengan konsentrasi 40 ppm. Larutan dipipet sebanyak 2 mL dari larutan stok 100 ppm kemudian dimasukkan dalam labu tentukur 5 mL, uji dilakukan 6 kali replikasi untuk repeabilitas (keterulangan). Kemudian dilakukan analisis dan dihitung nilai SD, dan RSD. Nilai %RSD yang baik adalah $\leq 2\%$ (Riyanto,

2017).

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan:

SD = Standar Deviasi

\bar{x} = slope (b pada persamaan garis $y = bx + a$)

2.2.5.6 LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantitation*)

Batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dihitung melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Catat absorbansi larutan terukur (y) lalu ditentukan absorbansi larutan yang seharusnya (y') dengan cara diplot konsentrasi larutan pada persamaan regresi yang didapatkan. Setelah itu dicari selisih nilai y dan y' masing-masing seri konsentrasi, kemudian hasilnya dikuadratkan. Selanjutnya dijumlahkan hasil kuadrat dari selisih y dan y' dari ke-tujuh seri konsentrasi. Kemudian dicari simpangan baku blanko atau simpangan baku dengan rumus (Riyanto, 2017):

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y - y')^2}{N - 2}}$$

Setelah diperoleh simpangan baku, dihitung nilai LOD dan LOQ dengan rumus:

Batas deteksi:

$$LOD = \frac{3,3 \times S_{y/x}}{Sl}$$

Batas kuantitasi:

$$LOQ = \frac{10 \times S_{y/x}}{Sl}$$

Keterangan:

$S_{y/x}$ = simpangan baku blanko

Sl = slope (b pada persamaan garis $y = bx + a$)

2.2.5.7 Selektivitas

Uji spesifitas dilakukan dengan membuat larutan baku sildenafil sitrat dengan konsentrasi 100 ppm, larutan sampel kopi bubuk 100 ppm, dan larutan sampel *spike* (larutan sampel yang ditambahkan dengan larutan baku sildenafil sitrat). Selanjutnya, masing-masing larutan diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Harmita, 2004).

2.2.6 Analisis Data dan Penetapan Kadar Sildenafil Sitrat

Larutan sampel yang telah dibuat dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 292,60 nm. Data hasil yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan dianalisis. Penetapan kadar sildenafil sitrat dalam sampel kopi bubuk dapat ditentukan dengan persamaan regresi linearitas deret larutan standar $y = bx + a$. Nilai absorbansi sampel dimasukkan ke dalam rumus tersebut sebagai nilai y , sehingga didapatkan nilai konsentrasi (x) dan kadar sildenafil sitrat dalam sampel kopi bubuk yang diteliti (Noviardi et al., 2016).