

BBPOM DI BANDUNG INSTRUKSI KERJA LAB OBAT TRADISIONAL	No Dokumen	: IKLOT 02-24/BBPOM BDG/06
	Terbitan/Revisi	: 3/2
	Tanggal terbit	: 10 Oktober 2012
IDENTIFIKASI KOFEIN	Halaman	: 1 dari 3
	Setuju diterbitkan	: Manajer Mutu

ASLI

1. Tujuan

Mengidentifikasi kafein dalam sediaan obat tradisional

2. Ruang Lingkup

Prosedur ini digunakan untuk mengidentifikasi Kafein dalam obat tradisional sediaan padat secara KLT, spektrofotometri, KCKT dan Kromatografi Gas

3. Acuan

MA PPOM 15/OT/01, 16/OT/01, 29/OT/91

4. Prosedur

4.1. Pereaksi

- Kloroform
- Metanol
- Etil asetat
- Amonia
- Asetat
- Sikloheksan
- Asam asetat glasial
- Dapar fosfat 0,05 M

4.2. Peralatan

- Spektrofotometer UV
- Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
- Kromatografi Gas

4.3. Penyiapan Larutan Uji Sediaan Padat

Satu dosis cuplikan yang telah diserbuk haluskan dimasukkan ke dalam labu alas bulat 250 mL, ditambahkan 50 mL kloroform, beberapa batu didih dan direfluks selama 30 menit. Cairan disaring, filtrat diuapkan menggunakan penguap rotasi, sisa penguapan ditambah 50 mL metanol dan direfluks selama 30 menit kemudian disaring. Filtratnya dikeringkan menggunakan penguapan rotasi, sisa dilarutkan dalam metanol sampai 5 mL (larutan A).

Dengan cara yang sama diekstraksi satu dosis cuplikan yang telah ditambahkan Kafein BPFI 5 mg (larutan B).

Disiapkan oleh:  Wieke Nurwathoni	Diverifikasi oleh :  Dra. Ami Damilah, Apt Deputi manajer teknis	Disahkan oleh :  Dra. Budi Astuti, Apt Manajer Teknis
--	--	---

\\pusatdata\File_Bidang_I\Ami\Akreditasi - wieke\IKRevisi\Obat tradisional\02-24 kofein.doc

BBPOM DI BANDUNG INSTRUKSI KERJA LAB OBAT TRADISIONAL	No Dokumen	: IKLOT 02-24/BBPOM BDG/06
	Terbitan/Revisi	: 3/2
	Tanggal terbit	: 10 Oktober 2012
IDENTIFIKASI KOFEIN	Halaman	: 2 dari 3
	Setuju diterbitkan	: Manajer Mutu

ASLI

4.4. Penyiapan Larutan Baku

Dibuat larutan baku Kofein BPFI 0,1% b/v dalam metanol (larutan C).

4.5. Cara Penetapan Secara Kromatografi Lapis Tipis

Larutan A, B, dan C masing-masing ditotolkan secara terpisah dan dilakukan kromatografi lapis tipis sebagai berikut:

- Fase Diam : Silika gel 60F 254
- Fase Gerak : i. Etil asetat – metanol – amonia (85:10:5)
ii. Kloroform – aseton (4:1)
iii. Sikloheksan – kloroform – metanol – asam asetat glasial (60:30:5:5)
- Penjenuhan : Kertas saring
- Jarak rambat : 15 cm
- Volume penotolan : Larutan A, B dan C masing-masing $\pm 25 \mu\text{L}$
- Penampak bercak : Cahaya ultraviolet 254 nm, terjadi peredaman fluorescensi

4.6. Cara Penetapan Secara Spektrofotometri UV

Larutan A, B dan C (volume penotolan disesuaikan hingga diperoleh bercak setara dengan 100 μg kofein) dilakukan kromatografi lapis tipis seperti tersebut di atas. Bercak baku dan senyawa yang mempunyai harga R_f sama ditandai dan dikerok. Hasil kerokan dikocok secara terpisah dalam 5 mL etanol dan disaring. Serapan filtrat diukur pada panjang gelombang antara 200 nm dan 380 nm. Kofein akan memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 272,4 nm.

4.7. Cara Penetapan Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Larutan A, B dan C (volume penotolan disesuaikan hingga diperoleh bercak setara dengan 100 μg kofein) dilakukan kromatografi lapis tipis seperti tersebut di atas. Bercak baku dan senyawa yang mempunyai harga R_f sama ditandai dan dikerok. Hasil kerokan dikocok secara terpisah dalam 5 mL etanol dan disaring dengan penyaring membran berukuran 0,45 μm . Sejumlah 20 μL larutan A, B, dan C masing-masing disuntikkan ke dalam alat kromatografi cair kinerja tinggi dengan kondisi sebagai berikut :

\\pusatdata\File_Bidang_I\Ami\Akreditasi - wieke\IKRevisi\Obat tradisional\02-24 kofein.doc

BBPOM DI BANDUNG INSTRUKSI KERJA LAB OBAT TRADISIONAL	No Dokumen	: IKLOT 02-24/BBPOM BDG/06
	Terbitan/Revisi	: 3/2
	Tanggal terbit	: 10 Oktober 2012
IDENTIFIKASI KOFEIN	Halaman	: 3 dari 3
	Setuju diterbitkan	: Manajer Mutu

ASLI

Kolom : Baja tahan karat, panjang 250 mm, diameter dalam 4 mm, isi oktadesilsilana ukuran partikel isi 5 μ m

Suhu : Ruang

Fase Gerak : Metanol – Dapar fosfat 0,05 M pH 3,1 (30:70)

Laju aliran : 0,8 mL per menit

Detektor : Ultraviolet pada 255 nm

4.8. Cara Penetapan Secara Kromatografi Gas

Sejumlah 2 μ L larutan A, B, dan C masing-masing disuntikkan ke dalam alat kromatografi gas dengan kondisi sebagai berikut :

Kolom : Kapiler, isi DB-5, panjang 25 m, diameter 0,32 mm, film 0,52 μ m

Suhu : Kolom 230°, injektor 240°, dan detektor 250°

Detektor : Ionisasi nyala

Aliran gas : 39 mL per menit

Gas : Nitrogen 50 kPa, hidrogen 70 kPa dan udara 50 kPa

Split ratio : 10

Make up gas : Helium 50 kPa

Persyaratan

Obat tradisional tidak mengandung Kofein

5. Dokumen Terkait

POB 01-09/BBPOM BDG/07

POB 01-12/BBPOM BDG/11

POB 01 - 10/BBPOM BDG/09

Form K 02

Form K 13

Form K 16

\\pusatdata\File_Bidang_I\Ami\Akreditasi - wieke\IKRevisi\Obat tradisional\02-24 kofein.doc