



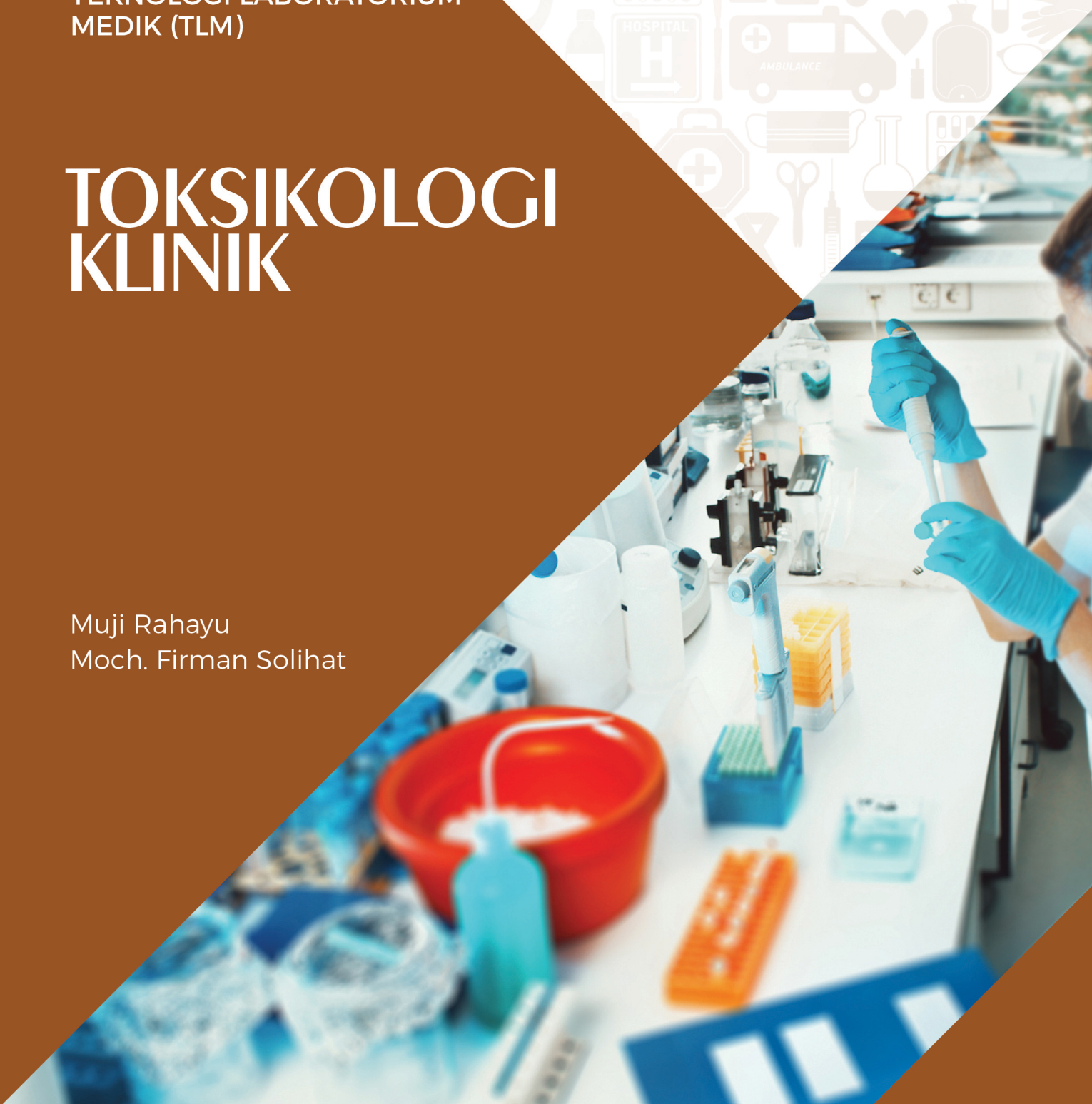
KEMENTERIAN
KESEHATAN
REPUBLIK
INDONESIA

PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
EDISI TAHUN 2018

BAHAN AJAR
TEKNOLOGI LABORATORIUM
MEDIK (TLM)

TOKSIKOLOGI KLINIK

Muji Rahayu
Moch. Firman Solihat



PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
EDISI TAHUN 2018

BAHAN AJAR
TEKNOLOGI LABORATORIUM
MEDIK (TLM)

TOKSIKOLOGI KLINIK

Muji Rahayu
Moch. Firman Solihat

Hak Cipta © dan Hak Penerbitan dilindungi Undang-undang

Cetakan pertama, Agustus 2018

Penulis : Muji Rahayu, S.Si, M.Sc, Apt
Drs.Moch Firman Solihat, M.T

Pengembang Desain Instruksional : Heny Kurniawati, S.ST., M.Kes.

Desain oleh Tim P2M2

Kover & Ilustrasi : Bangun Asmo Darmanto, S.Des.
Tata Letak : Fahreis Hertansyah Pohan, S. Sn

Jumlah Halaman : 447

DAFTAR ISI

	Halaman
BAB I: PENGANTAR TOKSIKOLOGI KLINIK	1
Topik 1.	
Peristilahan dalam Toksikologi	2
Latihan	12
Ringkasan	12
Tes 1	13
Topik 2.	
Undang-Undang Narkotika dan Psikotropika.....	15
Latihan	27
Ringkasan	28
Tes 2	28
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	30
GLOSARIUM	31
DAFTAR PUSTAKA	32
BAB 2: TOKSOKINETIKA DAN TOKSODINAMIKA	45
Topik 1.	
Toksokinetika.....	47
Latihan	69
Ringkasan	70
Tes 1	70
Topik 2.	
Toksodinamika.....	72
Latihan	85
Ringkasan	85
Tes 2	85
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	87

GLOSARIUM	88
DAFTAR PUSTAKA	89
 BAB 3: TEKNIK PENGAMBILAN DAN PREPARASI SAMPEL TOKSIKOLOGIS	 90
Topik 1.	
Jenis-jenis Sampel Toksikologis.....	91
Latihan	118
Ringkasan	119
Tes 1	119
 Topik 2.	
Teknik Preparasi Sampel	121
Latihan	130
Ringkasan	131
Tes 2	131
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	133
GLOSARIUM	134
DAFTAR PUSTAKA	135
 BAB 4: PROSEDUR ANALISIS TOKSIKOLOGI	 136
Topik 1.	
Metode Analisis Toksikologi Konvensional	137
Latihan	161
Ringkasan	162
Tes 1	162
 Topik 2.	
Metode Analisis Toksikologi Modern.....	164
Latihan	185
Ringkasan	186
Tes 2	187
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	189
DAFTAR PUSTAKA	190

BAB 5: NAPZA (NARKOTIKA, PSIKOTROPIKA DAN ZAT ADIKTIF)	191
Topik 1.	
Analisis Narkotika.....	192
Latihan	219
Ringkasan	220
Tes 1	220
Topik 2.	
Psikotropika.....	222
Latihan	236
Ringkasan	237
Tes 2	237
Topik 3.	
Zat Adiktif	239
Latihan	248
Ringkasan	248
Tes 3	249
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	251
DAFTAR PUSTAKA	252
BAB 6: ANALISIS ARSEN DAN TIMBAL	253
Topik 1.	
Senyawa Arsen sebagai bahan toksik	255
Latihan	268
Ringkasan	269
Tes 1	270
Topik 2.	
Senyawa Timbal sebagai bahan toksik.....	272
Latihan	277
Ringkasan	277

Tes 1	277
Topik 2.	
Penjaminan Mutu	282
Latihan	291
Ringkasan	291
Tes 2	292
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	294
DAFTAR PUSTAKA	295
 BAB 7: ANALISIS SIANIDA DAN KARBON MONOKSIDA.....	 297
Topik 1.	
Sianida	298
Latihan	332
Ringkasan	332
Tes 1	333
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	335
DAFTAR PUSTAKA	336
 BAB 8: ANALISIS SIANIDA DAN KARBON MONOKSIDA.....	 338
Topik 1.	
Bahan Tambahan Pangan	339
Latihan	368
Ringkasan	368
Tes 1	369
Topik 2.	
Parasetamol	371
Latihan	387
Ringkasan	387
Tes 2	388
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	390
GLOSARIUM	390
DAFTAR PUSTAKA	391

BAB 9: ANALISIS PESTISIDA ORGANOFOSFAT DAN ORGANOKLORIN	394
Topik 1.	
Pestisida Organofosfat	395
Latihan	418
Ringkasan	419
Tes 1	419
Topik 2.	
Pestisida Organoklorin	421
Latihan	432
Ringkasan	432
Tes 2	433
KUNCI JAWABAN TES FORMATIF	435
GLOSARIUM	436
DAFTAR PUSTAKA	437

Bab 1

PENGANTAR TOKSIKOLOGI KLINIK

Muji Rahayu, S.Si., Apt., M.Sc.

Pendahuluan

Toksikologi adalah salah satu mata kuliah terapan yang membutuhkan dukungan mata kuliah yang lain. Dalam bidang Toksikologi, kita menggunakan istilah-istilah khusus yang akan sering dijumpai pada bab-bab berikutnya. Oleh karena itu, seorang teknisi laboratorium medik perlu mengenal beberapa istilah yang berkaitan dengan toksikologi sehingga memudahkan dalam mempelajari materi. Peristilahan bidang toksikologi ini akan dipaparkan dalam topik 1. Selain itu Saudara juga akan mempelajari tentang perundang-undangan yang berhubungan dengan NAPZA yaitu Undang-undang Narkotika dan Psikotropika, terutama kaitannya dengan penggolongan kedua zat tersebut yang akan dipaparkan dalam topik 2. Selain itu, Saudara juga perlu mengenal tentang precursor yang berkaitan dengan produksi narkotika dan psikotropika.

Tujuan mempelajari bab ini agar Saudara dapat mengenal peristilahan dalam bidang toksikologi dan perundang-undangan yang terkait dengan narkotika dan psikotropika, khususnya penggolongan narkotika dan psikotropika.

Sesuai dengan bidang pekerjaan seorang teknisi laboratorium medik, dan seringkali bidang toksikologi sering berkaitan dengan kasus hukum, terutama terkait penyalahgunaan obat, maka materi perundang-undangan bidang narkotika dan psikotropika dalam bab ini tidak membahas tentang sisi pidananya, tetapi hanya dipaparkan mengenai klasifikasi atau penggolongan narkotika dan psikotropika. Jenis-jenis narkotika maupun psikotropika yang dimaksud dalam perundang-undangan terkait tidak dicantumkan keseluruhannya dalam bagian dari bab ini, akan tetapi Anda bisa membaca secara keseluruhan dalam lampiran bab ini.

Topik 1

Peristilahan dalam Toksikologi

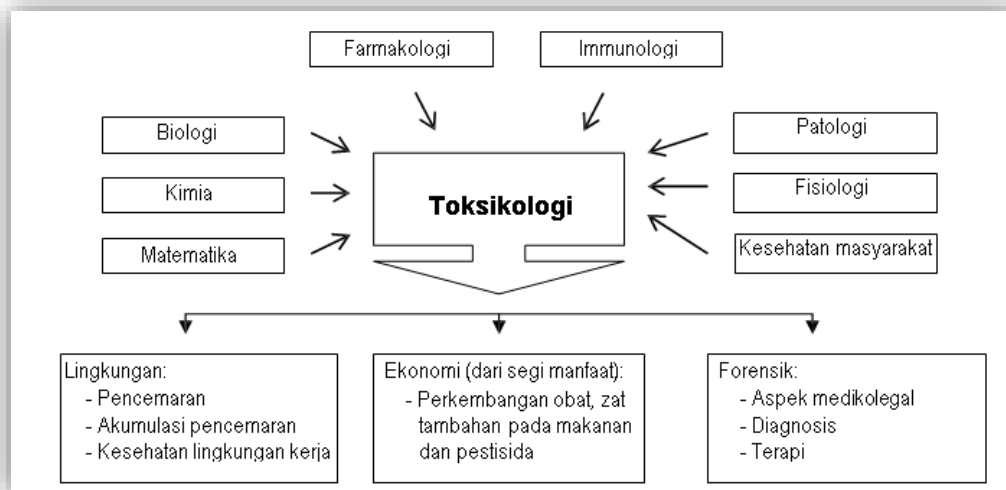
A. SEJARAH PERKEMBANGAN ILMU

Toksikologi analitis berkaitan dengan deteksi, identifikasi dan pengukuran obat-obatan dan senyawa asing lainnya (xenobiotik) dan metabolitnya pada spesimen biologis dan yang terkait. Metode analisis tersedia untuk berbagai senyawa yang sangat beragam: dapat berupa bahan kimia, pestisida, obat-obatan, penyalahgunaan obat-obatan (*drugs abuse*) dan racun alami.

Toksikologi analitik dapat membantu dalam diagnosis, manajemen dan dalam beberapa kasus pencegahan keracunan. Selain itu, laboratorium toksikologi analitik dapat dilibatkan dalam berbagai kegiatan lain seperti penilaian paparan setelah kejadian kimia, pemantauan obat terapeutik, analisis forensik, dan pemantauan penyalahgunaan obat-obatan. Mereka mungkin juga terlibat dalam penelitian, misalnya dalam menentukan sifat farmakokinetik dan toksinokinetik zat atau keefektifan rejimen pengobatan baru.

Sehubungan dengan hal itu, pengetahuan dasar tentang toksikologi klinis dan forensik sangat penting. Terlebih seorang analis laboratorium harus bisa berkomunikasi secara efektif dengan klinisi, ahli patologi, petugas pemadam kebakaran, polisi dan, mungkin juga orang lain. Selain itu, pemahaman yang baik tentang kimia klinis, farmakologi dan farmakokinetik sangat diharapkan.

Toksikologi modern merupakan bidang yang didasari oleh multi disiplin ilmu, ia dengan dapat dengan bebas meminjam beberapa ilmu dasar, guna mempelajari interaksi antara toksin dan mekanisme biologi yang ditimbulkan (lihat gambar 1.1). Ilmu toksikologi ditunjang oleh berbagai ilmu dasar, seperti kimia, biologi, fisika, matematika. Kimia analisis dibutuhkan untuk mengetahui jumlah toksin yang melakukan ikatan dengan reseptor sehingga dapat memberikan efek toksik. Bidang ilmu biokimia diperlukan guna mengetahui informasi penyimpangan reaksi kimia pada organisme yang diakibatkan oleh xenobiotika. Perubahan biologis yang diakibatkan oleh xenobiotika dapat diungkap melalui bantuan ilmu patologi, imunologi, dan fisiologi. Untuk mengetahui efek berbahaya dari suatu zat kimia pada suatu sel, jaringan atau organisme memerlukan dukungan ilmu patologi, yaitu dalam menunjukkan perubahan wujud atau perubahan makroskopi, mikroskopi, atau submikroskopi dari normalnya. Perubahan biologi akibat paparan toksin dapat termanifestasi dalam bentuk perubahan sistem kekebalan (imun) tubuh, untuk itu diperlukan bidang ilmu imunologi guna lebih dalam mengungkap efek toksik pada sistem kekebalan organisme.



Gambar 1.1 Kedudukan Ilmu Toksikologi
(Sumber: Wirasuta, 2004)

Analisis toksikologi meliputi: (1) toksikologi darurat dan rumah sakit umum, termasuk pemeriksaan “bisa” dan (2) kategori khusus: toksikologi forensik, skrining untuk penyalahgunaan obat (*drugs abuse*), pemantauan obat terapeutik (*therapeutic drugs monitoring=TDM*) dan toksikologi lingkungan serta yang terkait dengan pekerjaan (*occupational toxicology*), meskipun ada banyak tumpang tindih antara semua area ini.

Metode analisis yang digunakan dalam melakukan analisis toksikologi pada sampel biologis terkait dari studi toksikologi itu sendiri, terutama toksikologi klinis dan forensik. Laboratorium tidak dapat melakukan apapun untuk membantu proses diagnostik kecuali seseorang, baik itu klinisi, ahli patologi, atau orang lain, mencurigai penyebab keracunan dan memastikan spesimen dikumpulkan dan dikirim untuk dianalisis. Namun, pengumpulan dan penanganan sampel yang tepat tidak selalu mudah dan memang merupakan subjek tersendiri.

B. PERISTILAHAN DALAM BIDANG TOKSIKOLOGI

Dalam lingkup toksikologi sering digunakan beberapa istilah yang mirip yaitu, racun, toksin, toksikan yang memiliki arti yang mirip tetapi berbeda. Berikut beberapa definisi yang perlu dipahami.

1. Racun

Menurut Taylor, “Racun adalah setiap bahan atau zat yang dalam jumlah tertentu bila masuk ke dalam tubuh akan menimbulkan reaksi kimiawi yang akan menyebabkan penyakit dan kematian”.

Menurut *Dorland Dictionary*: Racun adalah setiap zat yang bila dalam jumlah sedikit ditelan atau dihirup atau diserap atau dioleskan atau disuntikkan ke dalam tubuh atau

dihasilkan dalam tubuh, memiliki aksi kimiawi dan menyebabkan kerusakan pada struktur atau gangguan fungsi yang menimbulkan gejala, penyakit atau kematian.

2. Toksin

Racun (*poison*) adalah zat yang memiliki efek berbahaya pada organisme hidup. Sedangkan toksin adalah racun yang diproduksi oleh organisme hidup. “Bisa”(venom) adalah racun yang disuntikkan dari organisme hidup ke makhluk lain. “Bisa” (venom) adalah toksin dan toksin adalah racun, tidak semua racun adalah toksin, tidak semua toksin adalah venom.

3. Venom atau “bisa”

Racun dan “bisa” (venom) adalah toksin, karena toksin didiskripsikan secara sederhana sebagai bahan kimia yang diproduksi secara biologis yang mengubah fungsi normal organisme lain.

4. Toksikan

Apa perbedaan toksin dan *toxicant*? Toksin adalah produk alami seperti yang ditemukan pada jamur beracun, atau racun ular. Toksikan adalah produk buatan manusia, produk buatan yang dipaparkan ke lingkungan karena aktivitas manusia; Contohnya adalah produk limbah industri dan pestisida.

5. Toksoid

Toksoid adalah toksin yang tidak aktif atau dilemahkan. Toksin adalah racun yang dibuat oleh organisme lain yang bisa membuat kita sakit atau membunuh kita. Dengan kata lain, toksin beracun. Toksoid tidak lagi beracun tetapi masih sebagai imunogenik sebagai toksin dari mana ia berasal.

6. Xenobiotik

Xenobiotik berasal dari bahasa Yunani: *Xenos* yang artinya asing. Xenobiotik adalah zat asing yang secara alami tidak terdapat dalam tubuh manusia. Contoh: obat-obatan, insektisida, zat kimia.

C. Klasifikasi Bahan Toksik

1. Berdasarkan sumbernya, bahan toksik dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

- a. Toksin tanaman
- b. Toksin hewan
- c. Toksin lingkungan (air, tanah, udara)

2. Berdasarkan senyawanya:

- a. Logam berat
- b. Senyawa organik
- c. Racun gas

3. Berdasarkan penggunaannya:

- a. Obat-obatan

- b. Pestisida
- c. Pelarut organik
- d. Logam berat

D. Toksisitas

Dalam bidang toksikologi sudah dikenal adanya Postulat Paracelcus: *"All substances are poisons; there is none which is not a poison. The right dose differentiates a poison from a remedy"*, "Semua zat adalah racun, tidak ada yang bukan racun. Dosis yang tepat yang membedakan racun dari obat."

Apabila zat kimia dikatakan berracun (toksik), maka kebanyakan diartikan sebagai zat yang berpotensi memberikan efek berbahaya terhadap mekanisme biologi tertentu pada suatu organisme. Sifat toksik dari suatu senyawa ditentukan oleh: dosis, konsentrasi racun di reseptor "tempat kerja", sifat zat tersebut, kondisi bioorganisme atau sistem bioorganisme, paparan terhadap organisme dan bentuk efek yang ditimbulkan. Sehingga apabila menggunakan istilah toksik atau toksisitas, maka perlu untuk mengidentifikasi mekanisme biologi di mana efek berbahaya itu timbul. Sedangkan toksisitas merupakan sifat relatif dari suatu zat kimia, dalam kemampuannya menimbulkan efek berbahaya atau penyimpangan mekanisme biologi pada suatu organisme.

Toksisitas merupakan istilah relatif yang biasa dipergunakan dalam memperbandingkan satu zat kimia dengan lainnya. Adalah biasa untuk mengatakan bahwa satu zat kimia lebih toksik daripada zat kimia lain. Perbandingan sangat kurang informatif, kecuali jika pernyataan tersebut melibatkan informasi tentang mekanisme biologi yang sedang dipermasalahkan dan juga dalam kondisi bagaimana zat kimia tersebut berbahaya. Oleh sebab itu, pendekatan toksikologi seharusnya dari sudut telaah tentang berbagai efek zat kimia atas berbagai sistem biologi, dengan penekanan pada mekanisme efek berbahaya zat kimia itu dan berbagai kondisi di mana efek berbahaya itu terjadi.

Pada umumnya efek berbahaya atau efek farmakologik timbul apabila terjadi interaksi antara zat kimia (tokson atau zat aktif biologis) dengan reseptor. Terdapat dua aspek yang harus diperhatikan dalam mempelajari interaksi antara zat kimia dengan organisme hidup, yaitu kerja farmakon pada suatu organisme (aspek farmakodinamik atau toksodinamik) dan pengaruh organisme terhadap zat aktif (aspek farmakokinetik atau toksokinetik) aspek ini akan lebih detail dibahas pada sub bahasan kerja toksik.

Telah dipostulatkan oleh Paracelcus, bahwa sifat toksik suatu tokson sangat ditentukan oleh dosis (konsentrasi tokson pada reseptornya). Artinya kehadiran suatu zat yang berpotensi toksik di dalam suatu organisme belum tentu menghasilkan juga keracunan. Misal insektisida rumah tangga (DDT) dalam dosis tertentu tidak akan

menimbulkan efek yang berbahaya bagi manusia, namun pada dosis tersebut memberikan efek yang mematikan bagi serangga. Hal ini disebabkan karena konsentrasi tersebut berada jauh dibawah konsentrasi minimal efek pada manusia. Namun sebaliknya apabila kita terpejan oleh DDT dalam waktu yang relatif lama, dimana telah diketahui bahwa sifat DDT yang sangat sukar terurai dilingkungan dan sangat lipofil, akan terjadi penyerapan DDT dari lingkungan ke dalam tubuh dalam waktu relatif lama. Karena sifat fisiko kimia dari DDT, mengakibatkan DDT akan terakumulasi (tertimbun) dalam waktu yang lama di jaringan lemak. Sehingga apabila batas konsentrasi toksiknya terlampaui, barulah akan muncul efek toksik. Efek atau kerja toksik seperti ini lebih dikenal dengan efek toksik yang bersifat kronis.

Toksin *Clostridium botulinum*, adalah salah satu contoh toksin, dimana dalam konsentrasi yang sangat rendah (10^{-9} mg/kg berat badan), sudah dapat mengakibatkan efek kematian. Berbeda dengan metanol, baru bekerja toksik pada dosis yang melebihi 10 g. Pengobatan parasetamol yang direkomendasikan dalam satu periode 24 jam adalah 4 g untuk orang dewasa dan 90 mg/kg untuk anak-anak. Namun pada penggunaan lebih dari 7 g pada orang dewasa dan 150 mg/kg pada anak-anak akan menimbulkan efek toksik. Dengan demikian, resiko keracunan tidak hanya tergantung pada sifat zatnya sendiri, tetapi juga pada kemungkinan untuk berkontak dengannya dan pada jumlah yang masuk dan diabsorpsi. Dengan lain kata tergantung dengan cara kerja, frekuensi kerja dan waktu kerja. Antara kerja (atau mekanisme kerja) sesuatu obat dan sesuatu toksin tidak terdapat perbedaan yang prinsipil, ia hanya relatif. Semua kerja dari suatu obat yang tidak mempunyai sangkut paut dengan indikasi obat yang sebenarnya, dapat dinyatakan sebagai kerja toksik.

Kerja mediatik (pelebaran pupil), dari sudut pandangan ahli mata merupakan efek terapi yang diinginkan, namun kerja hambatan sekresi, dilihat sebagai kerja samping yang tidak diinginkan. Bila seorang ahli penyakit dalam menggunakan zat yang sama untuk terapi, lazimnya keadaan ini menjadi terbalik. Pada seorang anak yang tanpa menyadarinya telah memakan buah *Atropa belladonna*, maka mediatoris maupun mulut kering harus dilihat sebagai gejala keracunan. Oleh sebab itu ungkapan kerja terapi maupun kerja toksik tidak pernah dinilai secara mutlak. Hanya tujuan penggunaan suatu zat yang mempunyai kerja farmakologi dan dengan demikian sekaligus berpotensi toksik, memungkinkan untuk membedakan apakah kerjanya sebagai obat atau sebagai zat racun.

Tidak jarang dari hasil penelitian toksikologi, justru diperoleh senyawa obat baru. Seperti penelitian racun (glikosida digitalis) dari tanaman *Digitalis purpurea* dan *lanata*, yaitu diperoleh antikoagulan yang bekerja tidak langsung, yang diturunkan dari zat racun yang terdapat di dalam semanggi yang busuk. Inhibitor asetilkolinesterase jenis ester

fosfat, pada mulanya dikembangkan sebagai zat kimia untuk perang, kemudian digunakan sebagai insektisida dan kini juga dipakai untuk menangani glaukoma.

Toksisitas adalah pernyataan kemampuan racun menyebabkan timbulnya gejala keracunan. Toksisitas ditetapkan di laboratorium, umumnya menggunakan hewan coba dengan cara ingesti, pemaparan pada kulit, inhalasi, gavage, atau meletakkan bahan dalam air, atau udara pada lingkungan hewan coba

Toksisitas dapat dinyatakan dengan ukuran sebagai berikut:

- a. LD₅₀ yaitu jumlah (dosis) efektif senyawa kimia yang mampu menyebabkan kematian 50% populasi hewan coba yang terpapar dengan berbagai cara, dinyatakan dengan satuan mg/kg berat badan. Semakin tinggi LD₅₀, semakin rendah adalah toksisitas.

Tabel 1.1 Toksisitas menurut kategori LD₅₀

<i>Kategori</i>	<i>LD₅₀</i>
<i>Supertoksik</i>	<i>< 5 mg/kg</i>
<i>Amat sangat toksik</i>	<i>5 – 50 mg/kg</i>
<i>Sangat toksik</i>	<i>50 – 500 mg/kg</i>
<i>Toksik sedang</i>	<i>0,5 – 5 g/kg</i>
<i>Toksik ringan</i>	<i>5 – 15 g/kg</i>
<i>Praktis tidak toksik</i>	<i>> 15 g /kg</i>

LC₅₀ yaitu konsentrasi senyawa kimia dalam lingkungan (air dan udara) yang menyebabkan kematian 50% populasi hewan coba dalam jangka waktu tertentu. Dinyatakan dengan satuan **mg/L (part per million=ppm)**

- b. ED₅₀ (dosis efektif) adalah dosis yang menyebabkan efek spesifik selain mematikan pada 50% hewan.
- c. Ambang dosis adalah tingkat dosis rendah ini dimana tidak ada efek yang dapat diamati. Ambang batas diperkirakan ada untuk efek tertentu, seperti efek toksik akut; tapi tidak untuk yang lain, seperti efek karsinogenik.

Toksisitas dapat dinyatakan dengan peristilahan sebagai berikut:

- a. Karsinogen

Zat karsinogenik dikaitkan dengan penyebab atau peningkatan kanker pada manusia dan hewan. Contoh: benzena, vinil klorida, formaldehid, dioksan, dan akrilamida.

- b. Mutagen

Mutagen adalah zat yang mengubah informasi genetik suatu organisme, biasanya dengan mengubah DNA. Mutagen biasanya juga karsinogen karena mutasi sering

menyebabkan kanker. Contoh mutagen termasuk etidium bromida, formaldehid, dioksan, dan nikotin.

c. Teratogen

Teratogen adalah zat yang menyebabkan kerusakan pada janin atau embrio selama kehamilan, yang menyebabkan cacat lahir sementara ibu tidak menunjukkan tanda toksisitas. Teratogen umum meliputi etanol, senyawa merkuri, senyawa timbal, fenol, karbon disulfida, toluena dan xilena.

Toksisitas juga dapat dinyatakan berdasarkan waktu hingga timbulnya gejala keracunan (onset), yaitu:

- a. Toksisitas akut, jika efek timbul segera atau paparan durasi pendek dalam hitungan jam sampai hari setelah terpapar bahan toksik. Efek akut dapat reversibel atau tidak dapat dipulihkan.
- b. Toksisitas sub akut, jika gejala keracunan timbul dalam jangka waktu setelah sedang (minggu sampai bulan) setelah terpapar bahan toksik dalam dosis tunggal
- c. Toksisitas kronis, jika akibat keracunan baru timbul setelah terpapar bahan toksik secara berulang-ulang dalam jangka waktu yang panjang (dalam hitungan tahun) atau bahkan dekade. Efek kronis terjadi setelah terpapar dalam waktu lama (bulan, tahun, dekade) dan bertahan setelah paparan telah berhenti.

Selain istilah toksisitas, obat–obat narkotika dan psikotropika, juga senyawa adiktif dapat mengakibatkan ketagihan. Berkaitan dengan hal ini dikenal istilah toleransi, habituasi dan adiksi.

Pada orang-orang yang memulai penggunaan obat karena ada gangguan medis/psikis sebelumnya, penyalahgunaan obat terutama untuk obat-obat psikotropika, dapat berangkat dari terjadinya **toleransi**, dan akhirnya **ketergantungan**. Menurut konsep neurobiologi, istilah ketergantungan (*dependence*) lebih mengacu kepada ketergantungan fisik, sedangkan untuk ketergantungan secara psikis istilahnya adalah ketagihan (*addiction*). Pada bagian ini akan dipaparkan secara singkat tentang toleransi obat.

Toleransi obat sendiri dapat dibedakan menjadi 3 jenis, yaitu : toleransi farmakokinetik, toleransi farmakodinamik, dan toleransi yang dipelajari (*learned tolerance*).

Toleransi farmakokinetika adalah perubahan distribusi atau metabolisme suatu obat setelah pemberian berulang, yang membuat dosis obat yang diberikan menghasilkan kadar dalam darah yang semakin berkurang dibandingkan dengan dosis yang sama pada pemberian pertama kali. Mekanisme yang paling umum adalah peningkatan kecepatan metabolisme obat tersebut. Contohnya adalah obat golongan barbiturat. Obat ini menstimulasi produksi enzim sitokrom P450 yang memetabolisir obat, sehingga

metabolisme atau degradasinya sendiri ditingkatkan. Karenanya, seseorang akan membutuhkan dosis obat yang semakin meningkat untuk mendapatkan kadar obat yang sama dalam darah atau efek terapeutik yang sama. Sebagai tambahan informasi, penggunaan barbiturat dengan obat lain juga akan meningkatkan metabolisme obat lain yang digunakan bersama, sehingga membutuhkan dosis yang meningkat pula.

Toleransi farmakodinamika merujuk pada perubahan adaptif yang terjadi di dalam sistem tubuh yang dipengaruhi oleh obat, sehingga respon tubuh terhadap obat berkurang pada pemberian berulang. Hal ini misalnya terjadi pada penggunaan obat golongan benzodiazepine, di mana reseptor obat dalam tubuh mengalami desensitisasi, sehingga memerlukan dosis yang makin meningkat pada pemberian berulang untuk mencapai efek terapeutik yang sama.

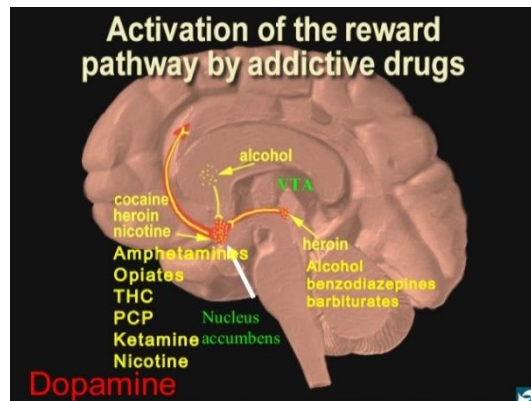
Toleransi yang dipelajari (*learned tolerance*) artinya pengurangan efek obat dengan mekanisme yang diperoleh karena adanya pengalaman terakhir.

Kebutuhan dosis obat yang makin meningkat dapat menyebabkan ketergantungan fisik, di mana tubuh telah beradaptasi dengan adanya obat, dan akan menunjukkan gejala putus obat (*withdrawal symptom*) jika penggunaan obat dihentikan. Ketergantungan obat tidak selalu berkaitan dengan obat-obat psikotropika, namun dapat juga terjadi pada obat-obat non-psikotropika, seperti obat-obat simpatomimetik dan golongan vasodilator nitrat.

Di sisi lain, **adiksi** atau **ketagihan** obat ditandai dengan adanya dorongan, keinginan untuk menggunakan obat walaupun tahu konsekuensi negatifnya. Obat-obat yang bersifat adiktif umumnya menghasilkan perasaan euphoria yang kuat dan reward, yang membuat orang ingin menggunakan dan menggunakan obat lagi. Adiksi obat lama kelamaan akan membawa orang pada ketergantungan fisik juga.

Mekanisme terjadinya adiksi

Untuk menjelaskan tentang adiksi, perlu dipahami dulu istilah *system reward* pada manusia. Manusia, umumnya akan suka mengulangi perilaku yang menghasilkan sesuatu yang menyenangkan. Sesuatu yang menyebabkan rasa menyenangkan tadi dikatakan memiliki efek *reinforcement* positif. Reward bisa berasal secara alami, seperti makanan, air, sex, kasih sayang, yang membuat orang merasakan senang ketika makan, minum, disayang, dll. Bisa juga berasal dari obat-obatan. Pengaturan perasaan dan perilaku ini ada pada jalur tertentu di otak, yang disebut *reward pathway* (Gambar 1.2). Perilaku-perilaku yang didorong oleh *reward* alami ini dibutuhkan oleh makhluk hidup untuk *survived* (mempertahankan kehidupan).



Gambar 1.2 Jalur *reward* pada otak dan lokasi pengaruh obat
(Sumber: The Brain, from Top to Bottom)

Bagian penting dari *reward pathway* adalah bagian otak yang disebut : *ventral tegmental area (VTA)*, *nucleus accumbens*, dan *prefrontal cortex*. VTA terhubung dengan nucleus accumbens dan prefrontal cortex melalui jalur *reward* ini yang akan mengirim informasi melalui saraf. Saraf di VTA mengandung neurotransmitter **dopamin**, yang akan dilepaskan menuju nucleus accumbens dan prefrontal cortex. Jalur *reward* ini akan teraktivasi jika ada stimulus yang memicu pelepasan dopamin, yang kemudian akan bekerja pada system *reward*.

Obat-obat yang dikenal menyebabkan adiksi/ketagihan seperti **kokain**, misalnya, bekerja menghambat *re-uptake* dopamin, sedangkan **amfetamin**, bekerja meningkatkan pelepasan dopamin dari saraf dan menghambat *re-uptake*-nya, sehingga menyebabkan kadar dopamin meningkat.

Mekanisme adiksi obat-obat golongan opiat

Reseptor opiat terdapat sekitar *reward pathway* (VTA, nucleus accumbens dan cortex), dan juga pada *pain pathway* (jalur nyeri) yang meliputi *thalamus*, *brainstem*, dan *spinal cord*. Ketika seseorang menggunakan obat-obat golongan opiat seperti morfin, heroin, kodein, dll, maka obat akan mengikat reseptornya di jalur *reward*, dan juga jalur nyeri. Pada jalur nyeri, obat-obat opiat akan memberikan efek analgesia, sedangkan pada jalur *reward* akan memberikan reinforcement positif (rasa senang, euphoria), yang menyebabkan orang ingin menggunakan lagi. Hal ini karena ikatan obat opiat dengan reseptornya di nucleus accumbens akan menyebabkan pelepasan dopamin yang terlibat dalam system *reward*.

International Classification Disease 10 (Revisi ke 10 dari Klasifikasi Penyakit dan Masalah Kesehatan Internasional), yang dikembangkan oleh WHO mendefinisikan sindrom ketergantungan sebagai sekelompok fenomena fisiologis, perilaku dan kognitif dimana penggunaan zat atau kelompok zat memperoleh “rasa” yang jauh lebih tinggi pada seseorang daripada yang diperoleh sebelumnya. ICD 10 tidak mengacu pada obat-obatan atau obat-

obatan terlarang, tetapi untuk zat psikoaktif yang digunakan sendiri karena sifat penguatnya, dan juga zat non-terapeutik yang digunakan (WHO).

Konsep saat ini tentang ketergantungan obat

Ketergantungan obat biasanya melibatkan hal-hal berikut:

- a. Ketergantungan psikologis adalah gangguan kontrol psikologis terhadap penggunaan narkoba; Ini adalah hasil interaksi satu set farmakologis (faktor pengkondisian potensial), faktor psikologis (faktor pengkondisian primer) dan faktor sosial (pengaruh kelompok atau akseptabilitas sosial obat)
- b. Ketergantungan fisik, termasuk dalam sindrom *withdrawal* pada gangguan konsumsi kronis, dalam waktu lama atau pada pengurangan dosis.
- c. Toleransi adalah menurunnya kepekaan terhadap zat setelah pemberian berulang; diwujudkan dengan kebutuhan untuk meningkatkan dosis untuk mencapai efek yang sama

Penyalahgunaan obat dan ketergantungan

Psikotoksisitas adalah perubahan perilaku yang serius, tingkat psikotik, setelah penggunaan dosis tinggi yang berkepanjangan (terlihat jelas pada penggunaan alkohol, barbiturat, kokain, LSD, amfetamin).

Ketergantungan adalah kelainan otak pada orang akibat penggunaan yang kemudian telah mengubah struktur dan fungsi otak. Ketergantungan diekspresikan dalam bentuk perilaku kompulsif, namun perilaku ini sangat terkait dengan perubahan otak yang terjadi seiring berjalannya waktu, dengan penggunaan narkoba berulang kali. Dalam beberapa tahun terakhir, secara genetik ditemukan ada keterkaitan dengan predisposisi individu untuk kurang atau lebih rentan terkena ketergantungan obat.

Ketergantungan obat sulit dikendalikan karena keinginan penggunaan obat yang kompulsif, yang menyebabkan pengguna berusaha mendapatkan obat untuk penggunaan berulang, bahkan meskipun harus menghadapi konsekuensi kesehatan dan sosial yang negatif. Begitu tergantung, individu sering gagal dalam usahanya untuk berhenti.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Jelaskan perbedaan racun, toksin dan xenobiotik!
2. Bidang ilmu apakah yang diperlukan untuk mendukung toksikologi?
3. Apa yang dimaksud dengan LD₅₀?
4. Apa yang dimaksud dengan:
 - a. Karsinogen
 - b. Mutagen
 - c. Teratogen
5. Apa yang dimaksud dengan:
 - a. Adiksi
 - b. Toleransi

Petunjuk menjawab latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Definisi istilah racun, toksin, xenobiotik
2. Bidang ilmu pengetahuan yang terkait dengan Toksikologi, baik mekanisme toksisitas maupun analisis toksikologi
3. Ukuran toksisitas suatu bahan toksik
4. Batasan istilah efek toksik terhadap tubuh
5. Efek narkotika, psikotropika dan zat adiktif

Ringkasan

Toksikologi analitik adalah bidang kajian yang memerlukan dukungan ilmu lain terutama anatomi fisiologi, patofisiologi, biokimia dan kimia analitik. Dalam bidang toksikologi dibedakan antara istilah racun, toksin, dan toksikan Toksisitas suatu bahan toksik dapat dinyatakan dalam ukuran LD₅₀, atau dengan peristilahan misalnya: karsinogen, mutagen, teratogen. Toksisitas juga digolongkan menjadi toksisitas akut dan kronis. Penggunaan obat dapat mengakibatkan toleransi, habituasi, ketergantungan (dependensi) dan ketagihan (adiksi)

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Salah satu ukuran toksisitas dinyatakan dengan LD₅₀. Apakah yang dimaksud dengan istilah tersebut?
 - A. Dosis racun yang dapat meracuni 50 orang dewasa
 - B. Dosis racun yang dapat meracuni 50 ekor hewan coba
 - C. Dosis racun yang dapat mematikan 50 ekor hewan coba
 - D. Dosis racun yang dapat mematikan 50% hewan coba
 - E. Dosis racun yang dapat meracuni 50% hewan coba
2. Suatu senyawa toksik dapat menimbulkan efek keracunan yang bersifat kronis atau akut. Bilamana efek keracunan dinyatakan kronis?
 - A. Efek toksik terjadi setelah terpapar toksikan dosis yang kecil dalam jangka pendek
 - B. Efek toksik timbul terus menerus dalam jangka waktu lama
 - C. Efek toksik timbul setelah terpapar toksikan dalam jumlah besar
 - D. Efek toksik timbul setelah paparan berkali-kali dalam waktu singkat
 - E. Efek toksik timbul setelah paparan bertahun-tahun
3. Merkuri, adalah salah satu senyawa toksik yang dapat mengakibatkan gangguan pertumbuhan janin dan menyebabkan bayi lahir cacat. Disebut apakah efek toksik tersebut?
 - A. Toksigenik
 - B. Mutagenic
 - C. Teratogenik
 - D. Neurotoksik
 - E. Miotoksik
4. Toksisitas senyawa arsenik dinyatakan dengan LD₅₀ adalah 15 mg/kg. Disebut apakah toksisitas senyawa tersebut?
 - A. Supertoksik
 - B. Sangat toksik
 - C. Toksik
 - D. Relative tidak toksik

5. Pada pengguna narkotika cenderung mengalami kondisi yang ditandai dengan adanya dorongan, keinginan yang kuat untuk menggunakan obat tertentu lagi walaupun tahu konsekuensi negatifnya. Disebut apakah kondisi tersebut?
- A. Gejala putus obat
 - B. Toleransi
 - C. Adiksi
 - D. Habitulasi
 - E. depedensi

Topik 2

Undang-Undang Narkotika dan Psikotropika

A. SEJARAH PERKEMBANGAN PERUNDANG-UNDANGAN NARKOTIKA

Penggunaan obat-obatan jenis opium sudah lama dikenal di Indonesia, jauh sebelum pecahnya Perang Dunia ke-2 pada zaman penjajahan Belanda. Pada umumnya para pemakai candu (opium) tersebut adalah orang-orang Cina. Pemerintah Belanda memberikan izin pada tempat-tempat tertentu untuk menghisap candu dan pengadaan (*supply*) secara legal dibenarkan berdasarkan undang-undang. Orang-orang Cina pada waktu itu menggunakan candu dengan cara tradisional, yaitu dengan jalan menghisapnya melalui pipa panjang. Hal ini berlaku sampai tibanya Pemerintah Jepang di Indonesia. Pemerintah pendudukan Jepang menghapuskan Undang-Undang itu dan melarang pemakaian candu (*Brisbane Ordinance*).

Ganja (*Canabis sativa*) banyak tumbuh di Aceh dan daerah Sumatera lainnya dan telah sejak lama digunakan oleh penduduk sebagai ramuan makanan sehari-hari. Tanaman *Erythroxylon coca* banyak tumbuh di Jawa Timur dan pada waktu itu hanya diperuntukkan bagi ekspor.

Untuk menghindari pemakaian dan akibat-akibat yang tidak diinginkan, Pemerintah Belanda membuat Undang-undang (*Verdovende Middelen Ordonantie*) yang mulai diberlakukan pada tahun 1927 (State Gazette No. 278 Juncto 536). Meskipun demikian obat-obatan sintetisnya dan juga beberapa obat lain yang mempunyai efek serupa (menimbulkan kecanduan) tidak dimasukkan dalam perundang-undangan tersebut.

Setelah kemerdekaan, pemerintah Republik Indonesia membuat perundang-undangan menyangkut produksi, penggunaan dan distribusi dari obat-obatan berbahaya (*Dangerous Drugs Ordinance*) dimana wewenang di berikan kepada Menteri Kesehatan untuk pengaturannya (State Gaette No. 419, 1949). Baru pada tahun 1970, masalah obat-obatan berbahaya jenis narkotika menjadi masalah besar dan sifatnya nasional.

Kemajuan teknologi dan perubahan sosial yang cepat, menyebabkan Undang-undang narkotika warisan Belanda (tahun 1927) sudah tidak memadai lagi. Maka pemerintah kemudian mengeluarkan Undang-undang No. 9 tahun 1976, tentang narkotika. Undang-undang tersebut mengatur antara lain tentang peredaran gelap (*illicit traffic*), terapi dan rehabilitasi korban narkotik dengan menyebutkan secara khusus peran dokter dan rumah sakit terdekat sesuai petunjuk menteri kesehatan.

Ketentuan yang ada di dalam UU No. 9 Tahun 1976 tentang Narkotika pada dasarnya berhubungan dengan perkembangan lalu-lintas dan adanya alat-alat perhubungan dan

pengangkutan modern yang menyebabkan cepatnya penyebaran atau pemasukan narkotika ke Indonesia, ditambah pula dengan kemajuan-kemajuan yang dicapai dalam bidang pembuatan obat-obatan, ternyata tidak cukup memadai untuk dapat mencapai hasil yang diharapkan.

Adapun narkotika merupakan salah satu obat yang diperlukan dalam dunia pengobatan, demikian juga dalam bidang penelitian, yaitu untuk tujuan pendidikan, pengembangan ilmu, dan penerapannya. Meskipun ada bahayanya, namun masih dapat dibenarkan penggunaan narkotika untuk kepentingan pengobatan, dan atau tujuan ilmu pengetahuan. Dengan demikian, untuk kepentingan pengobatan dan atau tujuan ilmu pengetahuan, maka dalam UU No. 9 Tahun 1976 tentang Narkotika, dibuka kemungkinan untuk mengimpor narkotika, mengekspor obat-obatan yang mengandung narkotika, menanam, memelihara papaver, koka dan ganja. Sehingga UU No. 9 Tahun 1976 tentang Narkotika tersebut tidak lagi sesuai dengan perkembangan zaman di waktu itu, karena yang diatur didalamnya hanyalah mengenai perdagangan dan penggunaan narkotika, yang ada di dalam peraturan yang dikenal dengan istilah *Verdoovende Middelen* atau obat bius, sedangkan tentang pemberian pelayanan kesehatan untuk usaha penyembuhan pecandunya tidak diatur.

Disamping manfaatnya tersebut, narkotika apabila disalahgunakan atau salah pemakaiannya, dapat menimbulkan akibat sampingan yang sangat merugikan bagi perorangan serta menimbulkan bahaya bagi kehidupan serta nilai-nilai kebudayaan. Karena itu penggunaan narkotika hanya dibatasi untuk kepentingan pengobatan dan atau tujuan ilmu pengetahuan.

Penyalahgunaan pemakaian narkotika dapat berakibat jauh dan fatal serta menyebabkan yang bersangkutan menjadi tergantung pada narkotika untuk kemudian berusaha agar senantiasa memperoleh narkotika itu dengan segala cara, tanpa mengindahkan norma-norma sosial, agama maupun hukum yang berlaku. Dalam hal ini, tidak mustahil kalau penyalahgunaan narkotika adalah merupakan salah satu sarana dalam rangka kegiatan subversi.

Dengan semakin merebaknya kasus penyalahgunaan narkoba di Indonesia, maka UU anti narkotika mulai direvisi, sehingga disusunlah UU Anti Narkotika nomor 22 tahun 1997, menyusul kemudian UU Psikotropika nomor 5 tahun 1997. Narkotika dalam undang-undang ini digolongkan menjadi 3, golongan I terdiri dari 26 jenis, golongan II terdiri 87 jenis, dan golongan III terdiri 14 jenis. Dalam undang-undang tersebut mulai diatur pasal-pasal ketentuan pidana terhadap pelaku kejahatan narkotika, dengan pemberian sanksi terberat berupa hukuman mati.

Undang-Undang Nomor 22 Tahun 1997 tentang Narkotika mengatur upaya pemberantasan terhadap tindak pidana Narkotika melalui ancaman pidana denda, pidana

penjara, pidana seumur hidup, dan pidana mati. Di samping itu, Undang-Undang Nomor 22 Tahun 1997 juga mengatur mengenai pemanfaatan Narkotika untuk kepentingan pengobatan dan kesehatan serta mengatur tentang rehabilitasi medis dan sosial. Namun, dalam kenyataannya tindak pidana narkotika di dalam masyarakat menunjukkan kecenderungan yang semakin meningkat baik secara kuantitatif maupun kualitatif dengan korban yang meluas, terutama di kalangan anak-anak, remaja, dan generasi muda pada umumnya.

Tindak pidana narkotika tidak lagi dilakukan secara perseorangan, melainkan melibatkan banyak orang yang secara bersama-sama, bahkan merupakan satu sindikat yang terorganisasi dengan jaringan yang luas yang bekerja secara rapi dan sangat rahasia baik di tingkat nasional maupun internasional. Berdasarkan hal tersebut guna peningkatan upaya pencegahan dan pemberantasan tindak pidana Narkotika perlu dilakukan pembaruan terhadap Undang-Undang Nomor 22 Tahun 1997 tentang Narkotika. Hal ini juga untuk mencegah adanya kecenderungan yang semakin meningkat baik secara kuantitatif maupun kualitatif dengan korban yang meluas, terutama di kalangan anak-anak, remaja, dan generasi muda pada umumnya.

Kemudian dalam perkembangannya, UU No. 22 Tahun 1997 tentang Narkotika diganti dengan UU No. 35 Tahun 2009 tentang narkotika, yang mendasarkan pada alasan bahwa narkotika merupakan zat atau obat yang sangat bermanfaat dan diperlukan untuk pengobatan penyakit tertentu. Namun, jika disalahgunakan atau digunakan tidak sesuai dengan standar pengobatan dapat menimbulkan akibat yang sangat merugikan bagi perseorangan atau masyarakat khususnya generasi muda. Hal ini akan lebih merugikan jika disertai dengan penyalahgunaan dan peredaran gelap narkotika yang dapat mengakibatkan bahaya yang lebih besar bagi kehidupan dan nilai-nilai budaya bangsa yang pada akhirnya akan dapat melemahkan ketahanan nasional.

Untuk mencegah dan memberantas penyalahgunaan dan peredaran gelap Narkotika yang sangat merugikan dan membahayakan kehidupan masyarakat, bangsa, dan negara, dan pada Sidang Umum Majelis Permusyawaratan Rakyat Republik Indonesia Tahun 2002 melalui Ketetapan Majelis Permusyawaratan Rakyat Republik Indonesia Nomor VI/MPR/2002 telah merekomendasikan kepada Dewan Perwakilan Rakyat Republik Indonesia dan Presiden Republik Indonesia untuk melakukan perubahan atas Undang-Undang Nomor 22 Tahun 1997 tentang Narkotika. Maka dibuatlah UU No. 35 Tahun 2009 tentang Narkotika, dengan alasan bahwa tindak pidana narkotika telah bersifat transnasional yang dilakukan dengan menggunakan modus operandi yang tinggi, teknologi canggih, didukung oleh jaringan organisasi yang luas, dan sudah banyak menimbulkan korban, terutama di kalangan generasi muda bangsa yang sangat membahayakan kehidupan masyarakat, bangsa, dan negara sehingga Undang-Undang Nomor 22 Tahun 1997 tentang Narkotika sudah tidak sesuai

lagi dengan perkembangan situasi dan kondisi yang berkembang dalam menanggulangi dan memberantas tindak pidana tersebut.

Narkotika dalam UU No. 35 tahun 2009 tetap digolongkan menjadi 3 golongan, tetapi terdapat perubahan yaitu golongan I terdiri 65 jenis, golongan II 86 jenis dan golongan III tetap 14 jenis. Selain itu, untuk melindungi masyarakat dari bahaya penyalahgunaan Narkotika dan mencegah serta memberantas peredaran gelap Narkotika, dalam Undang-Undang ini diatur juga mengenai Prekursor Narkotika karena Prekursor Narkotika merupakan zat atau bahan pemula atau bahan kimia yang dapat digunakan dalam pembuatan Narkotika. Dalam UU No. 35 Tahun 2009 tentang narkotika, juga dilampirkan mengenai Prekursor Narkotika dengan melakukan penggolongan terhadap jenis-jenis Prekursor Narkotika. Selain itu, diatur pula mengenai sanksi pidana bagi penyalahgunaan Prekursor Narkotika untuk pembuatan Narkotika. Untuk menimbulkan efek jera terhadap pelaku penyalahgunaan dan peredaran gelap Narkotika dan Prekursor Narkotika, diatur mengenai pemberatan sanksi pidana, baik dalam bentuk pidana minimum khusus, pidana penjara 20 (dua puluh) tahun, pidana penjara seumur hidup, maupun pidana mati. Pemberatan pidana tersebut dilakukan dengan mendasarkan pada golongan, jenis, ukuran, dan jumlah Narkotika.

Untuk lebih mengefektifkan pencegahan dan pemberantasan penyalahgunaan dan peredaran gelap Narkotika dan Prekursor Narkotika, diatur mengenai penguatan kelembagaan yang sudah ada yaitu Badan Narkotika Nasional (BNN). BNN tersebut didasarkan pada Peraturan Presiden Nomor 83 Tahun 2007 tentang Badan Narkotika Nasional, Badan Narkotika Provinsi, dan Badan Narkotika Kabupaten/Kota. BNN tersebut merupakan lembaga non struktural yang berkedudukan di bawah dan bertanggung jawab langsung kepada Presiden, yang hanya mempunyai tugas dan fungsi melakukan koordinasi. Dalam Undang-Undang No. 35 Tahun 2009 tentang Narkotika, peran BNN tersebut ditingkatkan menjadi lembaga pemerintah non kementerian (LPNK) dan diperkuat kewenangannya untuk melakukan penyelidikan dan penyidikan. BNN berkedudukan di bawah Presiden dan bertanggung jawab kepada Presiden. Selain itu, BNN juga mempunyai perwakilan di daerah provinsi dan kabupaten/kota sebagai instansi vertikal, yakni BNN provinsi dan BNN kabupaten/kota.

Untuk lebih memperkuat kelembagaan, diatur pula mengenai seluruh harta kekayaan atau harta benda yang merupakan hasil tindak pidana Narkotika dan Prekursor Narkotika dan tindak pidana pencucian uang dari tindak pidana Narkotika dan Prekursor Narkotika berdasarkan putusan pengadilan yang telah memperoleh kekuatan hukum tetap yang dirampas untuk negara dan digunakan untuk kepentingan pelaksanaan pencegahan dan pemberantasan penyalahgunaan peredaran gelap Narkotika dan Prekursor Narkotika dan upaya rehabilitasi medis dan sosial.

Penyalahgunaan dan peredaran gelap Narkotika dan Prekursor Narkotika yang modus operandinya semakin canggih, maka untuk mencegah dan memberantas hal itu, dalam Undang-Undang No. 35 Tahun 2009 tentang Narkotika juga diatur mengenai perluasan teknik penyidikan penyadapan (*wiretapping*), teknik pembelian terselubung (*under cover buy*), dan teknik penyerahan yang diawasi (*controlled delivery*), serta teknik penyidikan lainnya guna melacak dan mengungkap penyalahgunaan dan peredaran gelap Narkotika dan Prekursor Narkotika.

Pencegahan dan pemberantasan penyalahgunaan dan peredaran gelap narkotika dan prekursor narkotika yang dilakukan secara terorganisasi dan memiliki jaringan yang luas melampaui batas negara, dalam Undang-Undang No. 35 Tahun 2009 tentang Narkotika diatur mengenai kerja sama, baik bilateral, regional, maupun internasional.

Dalam Undang-Undang No. 35 Tahun 2009 tentang Narkotika diatur juga peran serta masyarakat dalam usaha pencegahan dan pemberantasan penyalahgunaan Narkotika dan Prekursor Narkotika termasuk pemberian penghargaan bagi anggota masyarakat yang berjasa dalam upaya pencegahan dan pemberantasan penyalahgunaan Narkotika dan Prekursor Narkotika. Penghargaan tersebut diberikan kepada penegak hukum dan masyarakat yang telah berjasa dalam upaya pencegahan dan pemberantasan penyalahgunaan dan peredaran gelap Narkotika dan Prekursor Narkotika.

Selain peran serta masyarakat dalam usaha pencegahan dan pemberantasan penyalahgunaan narkotika yang sudah dijelaskan di atas, perlu juga untuk diketahui beberapa jenis narkotika yang terbagi menjadi beberapa golongan menurut UU No. 35 Tahun 2009 tentang Narkotika, sebagai berikut:

Narkotika adalah zat atau obat yang berasal dari tanaman atau bukan tanaman baik sintetis maupun semisintetis yang dapat menyebabkan penurunan atau perubahan kesadaran, hilangnya rasa, mengurangi sampai menghilangkan rasa nyeri, dan dapat menimbulkan ketergantungan. Dalam undang-undang ini Narkotika dikelompokkan menjadi 3 golongan:

- 1) Golongan I: Narkotika yang hanya dapat digunakan untuk tujuan pengembangan ilmu pengetahuan dan tidak digunakan dalam terapi, serta mempunyai potensi sangat tinggi mengakibatkan ketergantungan. Contoh: heroin, kokain, ganja.
- 2) Golongan II: Narkotika yang berkhasiat pengobatan, digunakan sebagai pilihan terakhir dan dapat digunakan dalam terapi dan atau untuk tujuan pengembangan ilmu pengetahuan serta mempunyai potensi tinggi mengakibatkan ketergantungan. Contoh: Morfin, Petidin.
- 3) Golongan III: Narkotika yang berkhasiat pengobatan dan banyak digunakan dalam terapi dan / atau tujuan pengembangan ilmu pengetahuan serta mempunyai potensi ringan mengakibatkan ketergantungan. Contoh: Codein.

Mengingat terdapat peningkatan penggunaan zat baru yang berpotensi mengakibatkan ketergantungan, maka dilakukan perubahan penggolongan narkotika yang diatur dalam bentuk Peraturan Menteri Kesehatan, maka diterbitkan Peraturan Menteri Kesehatan nomor 13 tahun 2014. Dalam Permenkes ini ditambahkan jenis narkotika yang dimasukkan dalam Narkotika golongan I, yang semula 65 menjadi 82.

Dari tahun ke tahun selalu muncul zat baru yang disalahgunakan yang memiliki potensi sangat tinggi mengakibatkan ketergantungan yang belum termasuk dalam Golongan Narkotika sebagaimana diatur dalam Lampiran dan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor Undang-Undang Nomor 35 Tahun 2009 tentang Narkotika dan Peraturan Pemerintah nomor 13 Tahun 2014 tentang Perubahan Penggolongan Narkotika; maka ditetapkan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 2 Tahun 2017 tentang Perubahan Penggolongan Narkotika. Dalam Permenkes ini golongan I terdiri 114 jenis, golongan II terdiri 91 jenis dan golongan III terdiri 15 jenis.

Badan Narkotika Nasional menemukan adanya narkoba jenis baru di Indonesia sepanjang 2017 sebanyak 68 jenis beberapa diantaranya belum termasuk dalam undang-undang maupun Peraturan Menteri Kesehatan. Mengingat hal tersebut maka diterbitkan Peraturan Menteri Kesehatan tentang Perubahan Penggolongan Narkotika Nomor 41 tahun 2017. Dalam Permenkes ini golongan I bertambah menjadi 133 jenis, golongan II terdiri 91 jenis dan golongan III terdiri 15 jenis. (Daftar lengkapnya silahkan dibaca pada Lampiran 1, Lampiran Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 41 Tahun 2017 tentang Perubahan Penggolongan Narkotika, Lampiran 1).

B. UNDANG UNDANG PSIKOTROPIKA

Hal yang melatarbelakangi ditetapkan Undang-undang Psikotropika ini adalah bahwa psikotropika sangat bermanfaat dan diperlukan untuk kepentingan pelayanan kesehatan dan ilmu pengetahuan, maka ketersediaannya perlu dijamin. Akan tetapi karena tingginya penyalahgunaan psikotropika dapat merugikan kehidupan manusia dan kehidupan bangsa, sehingga pada gilirannya dapat mengancam ketahanan nasional; serta makin pesatnya kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi transformasi, komunikasi, dan informasi telah mengakibatkan gejala meningkatnya peredaran gelap psikotropika yang makin meluas serta berdimensi Internasional; maka ditetapkanlah peraturan tentang psikotropika ini dalam bentuk Undang-undang.

Tujuan pengaturan di bidang psikotropika adalah:

- a. menjamin ketersediaan psikotropika guna kepentingan pelayanan kesehatan dan ilmu pengetahuan;
- b. mencegah terjadinya penyalahgunaan psikotropika
- c. memberantas peredaran gelap psikotropika

Adapun ruang lingkup pengaturan dibidang psikotropika dalam undang-undang ini adalah kegiatan yang berhubungan dengan psikotropika yang mempunyai potensi mengakibatkan sindroma ketergantungan.

Undang-undang Psikotropika nomor 5 tahun 1997 ini mengatur tentang penggolongan, produksi, peredaran, tata cara ekspor dan impor. Berhubung obat-obat psikotropika dibutuhkan dalam pengobatan, maka dalam undang-undang ini juga diatur kebutuhan dan pelaporan penggunaan obat-obat psikotropika oleh lembaga yang berhak. Dalam undang undang ini juga diatur perlunya peran serta masyarakat dalam pengawasan peredaran dan penggunaan obat-obat psikotropika. Penyalahgunaan obat-obat psikotropika termasuk tindakan kejahatan, oleh karena itu dalam undang-undang ini juga diatur tentang pidananya

1. Pengertian Psikotropika

Menurut Undang-undang Psikotropika nomor 5 tahun 1997 tersebut, Psikotropika adalah zat atau obat, baik alamiah maupun sintetis bukan narkotika, yang berkhasiat psikoaktif melalui pengaruh selektif pada susunan saraf pusat yang menyebabkan perubahan khas pada aktivitas mental dan perilaku.

Selain narkotika, psikotropika juga memegang peranan penting dalam pelayanan kesehatan. Di samping itu, psikotropika juga digunakan untuk kepentingan ilmu pengetahuan meliputi penelitian, pengembangan, pendidikan, dan pengajaran sehingga ketersediaannya perlu dijamin melalui kegiatan produksi dan impor.

Penyalahgunaan psikotropika dapat mengakibatkan sindroma ketergantungan apabila penggunaannya tidak di bawah pengawasan dan petunjuk tenaga kesehatan yang mempunyai keahlian dan kewenangan untuk itu. Hal ini tidak saja merugikan bagi penyalah guna, tetapi juga berdampak sosial, ekonomi, dan keamanan nasional, sehingga hal ini merupakan ancaman bagi kehidupan bangsa dan negara. Penyalahgunaan psikotropika mendorong adanya peredaran gelap, sedangkan peredaran gelap psikotropika menyebabkan meningkatnya penyalahgunaan yang makin meluas dan berdimensi internasional. Oleh karena itu, diperlukan upaya pencegahan dan penanggulangan penyalahgunaan psikotropika dan upaya pemberantasan peredaran gelap. Di samping itu, upaya pemberantasan peredaran gelap psikotropika terlebih dalam era globalisasi komunikasi, informasi, dan transportasi sekarang ini sangat diperlukan.

Dalam hubungan ini dunia internasional telah mengambil langkah-langkah untuk mengawasi psikotropika melalui:

- a. *Convention on Psychotropic Substances 1971* (Konvensi Psikotropika 1971), dan
- b. *Convention Against Illicit Traffic in Narcotic Drugs and Psychotropic Substances 1988* (Konvensi Pemberantasan Peredaran Gelap Narkotika dan Psikotropika 1988).

Konvensi ini membuka kesempatan bagi negara-negara yang mengakui dan meratifikasinya untuk melakukan kerjasama dalam penanggulangan penyalahgunaan dan pemberantasan peredaran gelap psikotropika, baik secara bilateral maupun multilateral.

2. Undang – Undang tentang Psikotropika

Upaya untuk mengendalikan seluruh kegiatan yang berhubungan dengan psikotropika, maka disahkan UU Psikotropika nomor 5 tahun 1997. Undang-undang ini mengatur kegiatan yang berhubungan dengan psikotropika yang berada di bawah pengawasan internasional, yaitu yang mempunyai potensi mengakibatkan sindroma ketergantungan dan digolongkan menjadi:

- a. Psikotropika golongan I adalah psikotropika yang hanya dapat digunakan untuk tujuan ilmu pengetahuan dan tidak digunakan dalam terapi, serta mempunyai potensi amat kuat mengakibatkan sindroma ketergantungan. Contoh: katinon, LSD, psilosibin.
- b. Psikotropika golongan II adalah psikotropika yang berkhasiat pengobatan dan dapat digunakan dalam terapi dan/atau untuk tujuan ilmu pengetahuan serta mempunyai potensi kuat mengakibatkan sindroma ketergantungan. Contoh: amfetamin, metamfetamin, metakualon, metilfenidat.
- c. Psikotropika golongan III adalah psikotropika yang berkhasiat pengobatan dan banyak digunakan dalam terapi dan/atau untuk tujuan ilmu pengetahuan serta mempunyai potensi sedang mengakibatkan sindroma ketergantungan. Contoh: amobarbital, flunitrazepam, buprenofrin
- d. Psikotropika golongan IV adalah psikotropika yang berkhasiat pengobatan dan sangat luas digunakan dalam terapi dan/atau untuk tujuan ilmu pengetahuan serta mempunyai potensi ringan mengakibatkan sindroma ketergantungan. Contoh: diazepam, bromazepam, fenobarbital, alprazolam.

Penggolongan ini sejalan dengan Konvensi Psikotropika 1971, sekalipun pengaturan psikotropika dalam Undang-undang ini hanya meliputi psikotropika golongan I, psikotropika golongan II, psikotropika golongan III, dan psikotropika golongan IV, masih terdapat psikotropika lainnya yang tidak mempunyai potensi mengakibatkan sindroma ketergantungan, tetapi digolongkan sebagai obat keras. Oleh karena itu, pengaturan, pembinaan, dan pengawasannya tunduk kepada peraturan perundang-undangan yang berlaku di bidang obat keras.

Penggolongan psikotropika dalam Lampiran UU nomor 5 tahun 1997 tersebut telah mengalami perubahan yang dinyatakan dalam Peraturan Menteri Kesehatan nomor 9 tahun 2015, yaitu memasukkan zulpidem ke dalam Psikotropika golongan IV.

Undang-undang Psikotropika ini mengatur: produksi, peredaran, penyaluran, penyerahan, ekspor dan impor, pengangkutan, transit, pemeriksaan, label dan iklan, kebutuhan tahunan dan pelaporan, pengguna psikotropika dan rehabilitasi, pemantauan

prekursor, pembinaan dan pengawasan, pemusnahan, peran serta masyarakat, penyidikan dan ketentuan pidana.

Di Indonesia, UU Psikotropika berbeda dengan undang-undang narkoba, namun UU Narkoba yang terbaru sekarang mempengaruhi UU Psikotropika yang telah ada. Artinya walaupun berbeda hal yang diatur, dalam hal ini psikotropika dan narkoba, dengan adanya Undang-Undang Narkoba Nomor 35 tahun 2009, menjadikan pembaharuan pula terhadap UU tentang psikotropika. Psikotropika Golongan I dan Golongan II sebagaimana tercantum dalam Lampiran Undang-Undang Nomor 5 Tahun 1997 tentang Psikotropika (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1997 Nomor 10, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 3671) yang telah dipindahkan menjadi Narkoba Golongan I menurut Undang-Undang nomor 35 tahun 2009 tentang Narkoba.

Sekaitan dengan adanya perubahan pada penggolongan narkoba yang diatur dengan Permenkes nomor 2 tahun 2017, maka terkait juga dengan perubahan penggolongan psikotropika yang diatur dengan Permenkes nomor 3 tahun 2017. Pada Permenkes nomor 3 tahun 2017 ini mengubah jenis Psikotropika golongan II dan IV. (Daftar lengkapnya dapat dibaca pada Lampiran Permenkes Nomor 3 tahun 2017, tentang Psikotropika. Lampiran 2).

Penggolongan psikotropika juga bisa didasarkan pada penggunaannya, digolongkan menjadi:

- 1) Antipsikosis (major trankuilizer, neuroleptik);
- 2) Anti anxietas (antineurosis, minor tranquilizer)
- 3) Antidepresan
- 4) Psikotogenik (psikotomimetik, psikodisleptik, halusinogenik)

Antipsikotika disebut neuroleptika atau major tranquilizers yang bekerja sebagai antipsikotis dan sedatif :

- 1) Obat yang dapat menekan fungsi-fungsi psikis tertentu tanpa mempengaruhi fungsi-fungsi umum, seperti berpikir dan kelakuan normal
- 2) Obat-obat ini dapat meredakan emosi dan agresi dan dapat mengurangi gangguan jiwa seperti impian khayal (halusinasi) serta menormalkan perilaku. Oleh karena itu, antipsikotika terutama digunakan pada psikosis, penyakit jiwa hebat misalnya penyakit skizofrenia "gila" dan mania. Minor tranquilizers adalah ansiolitik yang digunakan pada gangguan kecemasan dan pada gangguan tidur, seperti hipnotika. Contoh: chlorpromazine, Haloperidol, Trifluoperazine

Antiansietas, untuk pengobatan simptomatik penyakit psikoneurosis dan sebagai obat tambahan pada terapi penyakit ansietas / cemas dan ketegangan mental. Penggunaan antiansietas dosis tinggi jangka lama, dapat menimbulkan ketergantungan psikis dan fisik. Contoh antara lain diazepam, bromazepam.

Antidepresi, adalah obat untuk mengatasi depresi mental, dapat menghilangkan / mengurangi depresi yang timbul pada beberapa jenis skizofi. Perbaikan depresi ditandai

dengan perbaikan alam perasaan, bertambahnya aktivitas fisik dan kewaspadaan mental, nafsu makan dan pola tidur yang lebih baik Contoh: amitriptilin

Psikotogenik, adalah obat yang dapat menimbulkan kelainan tingkah laku, disertai halusinasi, ilusi, gangguan cara berpikir dan perubahan alam perasaan, dapat menimbulkan psikosis. Istilah psikotogenik paling cocok untuk golongan obat yang dahulu disebut psikotomimetik (obat yang menimbulkan keadaan mirip Psikosis) kadang-kadang obat ini disebut obat halusinogenik yang berarti obat yang menimbulkan halusinasi. Contoh: Meskalin, dietilamid lisergad (LSD) dan mariyuana atau ganja. Narkotika dan psikotropika juga dapat digolongkan berdasarkan efek farmakologisnya, yaitu: depresan, stimulant, opiat dan halusinogen

- a. Depresan memperlambat fungsi otak normal. Karena efek ini, depresan sering digunakan untuk mengobati kegelisahan dan gangguan tidur. Meskipun obat depresi yang berbeda bekerja secara unik di otak, namun efeknya pada aktivitas GABA (*gamma amino butyric acid*= asam amino gamma butiric) yang menghasilkan efek mengantuk atau menenangkan. GABA bekerja untuk mengurangi aktivitas otak.

Meskipun resep mereka untuk pengobatan kegelisahan dan gangguan tidur, depresan juga membawa potensi adiktif tinggi. Efek *withdrawl* dari penggunaan depresan jangka panjang dapat mengancam jiwa dan menghasilkan beberapa konsekuensi terburuk dari klasifikasi obat lainnya. Perlu diingat: ini termasuk alkohol. Contohnya meliputi: Valium, Librium, dan barbiturat.

- b. Halusinogen adalah obat yang menyebabkan perubahan persepsi dan perasaan. Halusinogen memiliki efek pengubahan pikiran yang hebat dan dapat mengubah bagaimana otak merasakan waktu, realitas sehari-hari, dan lingkungan sekitar. Mereka mempengaruhi daerah otak yang bertanggung jawab untuk koordinasi, proses berpikir, pendengaran, dan penglihatan. Mereka bisa menyebabkan orang mendengar suara, melihat sesuatu, dan merasakan sensasi yang tidak ada.

Halusinogen mengubah cara kerja otak dengan mengubah cara sel saraf berkomunikasi satu sama lain sehingga memiliki efek mengubah pikiran yang kuat. Mereka bisa mengubah persepsi otak terhadap waktu, realitas sehari-hari, dan lingkungan sekitar. Halusinogen mempengaruhi daerah dan struktur di otak yang bertanggung jawab atas koordinasi, proses berpikir, pendengaran, dan penglihatan. Hal ini bisa menyebabkan orang yang menggunakannya mendengar suara, melihat gambar, dan merasakan sensasi yang sebenarnya tidak ada. Periset belum yakin bahwa kimia otak berubah secara permanen pada penggunaan halusinogen, namun beberapa orang yang menggunakannya tampaknya mengalami gangguan jiwa kronis.

Halusinogen memiliki potensi kecanduan moderat dengan potensi toleransi yang sangat tinggi, tingkat psikologis yang moderat, dan potensi ketergantungan fisik yang rendah.

Sebagian besar risiko yang terkait dengan penggunaan halusinogen dikaitkan dengan risiko cedera pribadi dan kecelakaan yang mengancam jiwa. Contohnya meliputi: LSD, PCP, MDMA (Ekstasi), ganja, mescaline, dan psilocybin.

- c. Opiat adalah obat penghilang rasa sakit yang sangat kuat. Opiat terbuat dari opium, getah putih pada tanaman opium. Opiat menghasilkan perasaan senang yang cepat dan intens diikuti oleh rasa nyaman dan tenang.

Penggunaan opiat jangka panjang mengubah cara kerja otak dengan mengubah cara sel saraf berkomunikasi satu sama lain. Jika opiat diambil dari sel otak yang bergantung opiat, banyak dari mereka akan menjadi terlalu aktif. Akhirnya, sel akan bekerja normal lagi jika orang tersebut sembuh, namun menyebabkan banyak gejala putus obat yang mempengaruhi pikiran dan tubuh. Seperti banyak obat lainnya, opiat memiliki potensi kecanduan yang sangat tinggi. Contohnya meliputi: heroin, morfin, kodein, dan Oxycontin.

- d. Stimulan adalah golongan obat yang meningkatkan mood, meningkatkan perasaan baik, dan meningkatkan energi dan kewaspadaan. Stimulan dapat menyebabkan jantung berdetak lebih cepat dan juga akan menyebabkan tekanan darah dan pernapasan meningkat. Penggunaan stimulan berulang dapat menyebabkan paranoid dan permusuhan.

Stimulan mengubah cara kerja otak dengan mengubah cara sel saraf berkomunikasi satu sama lain. Seperti banyak obat lain, stimulan memiliki potensi adiktif yang sangat tinggi. Contohnya meliputi: kokain, methamphetamine, amfetamin, MDMA (ekstasi). Nikotin dan kafein tidak termasuk golongan narkotika dan psikotropika, mempunyai efek stimulant.

C. PREKURSOR

Prekursor sebagai bahan pemula atau bahan kimia banyak digunakan dalam berbagai kegiatan baik pada industri farmasi, industri non farmasi, sektor pertanian maupun untuk kepentingan pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

Pengadaan prekursor untuk memenuhi kebutuhan industri farmasi, industri non farmasi dan kebutuhan pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi pada saat ini baru diatur dalam tingkat Peraturan Menteri. Kendatipun Prekursor sangat dibutuhkan di berbagai sektor apabila penggunaannya tidak sesuai dengan peruntukannya dan ketentuan peraturan perundang-undangan atau disalahgunakan dalam pembuatan Narkotika dan Psikotropika secara gelap akan sangat merugikan dan membahayakan kesehatan.

Meningkatnya penyalahgunaan narkotika dan psikotropika dewasa ini sangat erat kaitannya dengan penggunaan alat-alat yang berpotensi dalam penyalahgunaan

narkotika dan psikotropika maupun prekursor sebagai salah satu zat atau bahan pemula atau bahan kimia yang digunakan untuk memproduksi narkotika dan psikotropika secara gelap. Alat potensial yang dapat disalahgunakan untuk melakukan tindak pidana Narkotika dan Psikotropika adalah alat potensial yang diawasi dan ditetapkan sebagai barang di bawah pengawasan Pemerintah, antara lain: jarum suntik, semprit suntik (*syringe*), pipa pemadatan dan anhidrida asam asetat.

Peningkatan penyalahgunaan prekursor dalam pembuatan Narkotika dan Psikotropika telah menjadi ancaman yang sangat serius yang dapat menimbulkan gangguan bagi kesehatan, instabilitas ekonomi, gangguan keamanan, serta kejahatan internasional oleh karena itu perlu diawasi secara ketat agar dapat digunakan sesuai peruntukannya.

Pengendalian dan pengawasan sebagai upaya pencegahan dan memberantas penyalahgunaan dan peredaran gelap prekursor sangat membutuhkan langkah-langkah konkrit, terpadu dan terkoordinasi secara nasional, regional maupun internasional, karena kejahatan penyalahgunaan prekursor pada umumnya tidak dilakukan oleh perorangan secara sendiri melainkan dilakukan secara bersama-sama, bahkan oleh sindikat yang terorganisasi rapi dan sangat rahasia. Disamping itu kejahatan Prekursor bersifat transnasional dilakukan dengan menggunakan modus operandi dan teknologi canggih termasuk **pengamanan hasil-hasil kejahatan prekursor. Perkembangan kualitas** kejahatan prekursor tersebut sudah menjadi ancaman yang sangat serius bagi kehidupan umat manusia.

Adapun yang dimaksud precursor narkotika dalam Undang-Undang Nomor 35 Tahun 2009 tentang Narkotika adalah zat atau bahan pemula atau bahan kimia yang dapat digunakan dalam pembuatan narkotika, ditindaklanjuti dengan Peraturan Pemerintah (PP) nomor 44 tahun 2010 tentang Prekursor, bahwa yang dimaksud Prekursor adalah zat atau bahan pemula atau bahan kimia yang dapat digunakan dalam pembuatan Narkotika dan Psikotropika.

Pengaturan Prekursor ini bertujuan untuk:

- a. melindungi masyarakat dari bahaya penyalahgunaan Prekursor;
- b. mencegah dan memberantas peredaran gelap Prekursor;
- c. mencegah terjadinya kebocoran dan penyimpangan Prekursor; dan
- d. menjamin ketersediaan Prekursor untuk industri farmasi, industri non farmasi, dan pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

Dalam Peraturan Pemerintah nomor 44 tahun 2010 tersebut precursor digolongkan menjadi 2, sebagai berikut:

TABEL I

1. Acetic Anhydride.
2. N-Acetylanthranilic Acid.
3. Ephedrine.
4. Ergometrine.
5. Ergotamine.
6. Isosafrole.
7. Lysergic Acid.
8. 3,4-Methylenedioxyphenyl-2-propanone.
9. Norephedrine.
10. 1-Phenyl-2-Propanone.
11. Piperonal.
12. Potassium Permanganat.
13. Pseudoephedrine.
14. Safrole.

TABEL II

1. Acetone.
2. Anthranilic Acid.
3. Ethyl Ether.
4. Hydrochloric Acid.
5. Methyl Ethyl Ketone.
6. Phenylacetic Acid.
7. Piperidine.
8. Sulphuric Acid.
9. Toluene.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Sebutkan undang-undang yang mengatur tentang narkoba!
2. Apa yang dimaksud dengan narkoba golongan I, II dan III, berikan masing-masing contohnya!
3. Sebutkan peraturan penggolongan narkoba yang terbaru!
4. Apa yang dimaksud dengan psikotropika? Sebutkan 3 contoh

5. Apa yang dimaksud dengan precursor? Sebutkan 3 contoh

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Perkembangan perundang-undangan (Undang-undang, Peraturan Menteri Kesehatan) yang berkaitan dengan narkoba
2. Penggolongan narkoba berdasarkan perundang-undangan narkoba
3. Batasan narkoba dan psikotropika serta jenis senyawanya
4. Batasan precursor narkoba serta jenis bahannya

Ringkasan

Narkotika adalah zat atau obat yang berasal dari tanaman atau bukan tanaman baik sintetis maupun semisintetis yang dapat menyebabkan penurunan atau perubahan kesadaran, hilangnya rasa, mengurangi sampai menghilangkan rasa nyeri, dan dapat menimbulkan ketergantungan. Psikotropika adalah zat atau obat, baik alamiah maupun sintetis bukan narkotika, yang berkhasiat psikoaktif melalui pengaruh selektif pada susunan saraf pusat yang menyebabkan perubahan khas pada aktivitas mental dan perilaku. Prekursor adalah bahan kimia yang digunakan sebagai bahan pembuatan narkoba atau psikotropika. Penggolongan narkoba menurut perundang-undangan didasarkan pada kepentingan dan potensi ketergantungan yang ditimbulkan. Penggolongan narkoba dan psikotropika juga didasarkan pada efek farmakologinya yaitu: depresan, stimulant, halusinogen dan opiate.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Narkoba yang sangat kuat menyebabkan adiksi merupakan golongan yang dilarang penggunaannya untuk terapi, hanya diijinkan digunakan untuk keperluan penelitian. Manakah narkoba yang termasuk golongan tersebut?
 - A. Morfin, heroin, ganja
 - B. Heroin, ganja, cocain
 - C. Morfin, putaw, codein
 - D. Codein, ectasy, LSD
 - E. Luminal, diazepam, benzodiazepine

2. Psikotropika adalah obat yang banyak digunakan untuk terapi gangguan perilaku, tetapi menyebabkan ketergantungan yang potensinya ringan. Obat apakah yang termasuk dalam golongan ini?
- A. Diazepam
 - B. Luminal
 - C. Fenitoin
 - D. Benzodiazepine
 - E. Bromoheksan
3. Penggolongan narkotika dan psikotropika juga dapat didasarkan pada efek farmakologinya, salah satunya adalah bersifat deperesan. Manakah obat berikut yang bersifat depresan?
- A. Ganja
 - B. Amfetamin
 - C. Metamfetamin
 - D. Morfin
 - E. Barbitol
4. Salah satu tujuan disusunnya perundang-undangan dalam bidang narkotika dan psikotropika adalah
- A. Menjamin keamanan distribusi
 - B. Menjamin supaya tidak salah dosis
 - C. Menjamin keseragaman kualitas produk
 - D. Menjamin ketersediaannya untuk pelayanan kesehatan
 - E. Menjamin supaya tidak timbul efek samping pengobatan
5. Prekursor adalah bahan kimia yang digunakan sebagai bahan pembuatan narkotika atau psikotropika. Manakah zat berikut yang termasuk precursor table 1?
- A. Aseton
 - B. Ethyl ether
 - C. Kalium permanganat
 - D. Asam klorida
 - E. Asam sulfat

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

1. D
2. E
3. C
4. B
5. C

Test Formatif 2

1. B
2. A
3. E
4. D
5. C

Glosarium

- Withdrawal syndrome* : sindrom putus obat adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan sindrom dari efek yang disebabkan oleh penghentian pemberian obat. Hal ini merupakan hasil dari perubahan keseimbangan (neuro) fisiologis yang disebabkan oleh kehadiran obat. Putus obat juga merupakan seperangkat gejala yang terjadi ketika pecandu atau seorang individu melakukan penghentian penggunaan obat karena kecanduan atau ketergantungan yang sudah lama digunakan. Pecandu yang mengalami gejala putus obat akan merasakan sakit dan dapat menunjukkan banyak gejala, seperti sakit kepala, diare atau gemetar (tremor). Gejala putus obat dapat merupakan masalah yang serius dan bahkan bisa berakibat fatal.
- Re-uptake* : pengambilan kembali suatu senyawa (biasanya neurotransmitter) ke dalam ujung saraf.
- Neurotransmitter* : senyawa organik endogenus membawa sinyal di antara neuron. Neurotransmitter terbungkus oleh vesikel sinapsis, sebelum dilepaskan bertepatan dengan datangnya potensial aksi. Beberapa neurotransmitter utama, antara lain: Asam amino: asam glutamat, asam aspartat, serina, GABA, glisin.

Daftar Pustaka

Ganiswara, S., (1995), *Farmakologi dan Terapi*, edisi IV, 271-288 dan 800-810, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Ikawati, Z. 2009. Tinjauan farmakoterapi terhadap penyalahgunaan obat.
<https://zulliesikawati.wordpress.com/?s=penyalahgunaan+obat>

National Institute on Drug Abuse. (2015) *Drugs Classification*. National Institutes of Health; U.S. Department of Health and Human Services. Diunduh dari <https://www.drugabuse.gov/>

Peraturan Pemerintah (PP) nomor 44 tahun 2010 tentang Prekursor

Peraturan Menteri Kesehatan, nomor 13 tahun 2014 tentang Perubahan Penggolongan Narkotika

Peraturan Menteri Kesehatan, nomor 9 tahun 2015 tentang Perubahan Penggolongan Psikotropika

Peraturan Menteri Kesehatan, nomor 2 tahun 2017 tentang Perubahan Penggolongan Narkotika

Peraturan Menteri Kesehatan, nomor 3 tahun 2017 tentang Perubahan Penggolongan Psikotropika

Peraturan Menteri Kesehatan, nomor 41 tahun 2017 tentang Perubahan Penggolongan Narkotika

Canadian Institute of Health Research, (2015) *The Brain from Top to Bottom, The Pleasure Centers Affected by Drugs*, Institute of Neurosciences, Mental Health and Addiction. Diunduh http://thebrain.mcgill.ca/flash/i/i_03/i_03_cr/i_03_cr_par/i_03_cr_par.html

Undang-undang nomor 32 tahun 2009 tentang Narkotika

Undang-undang nomor 35 tahun 1997 tentang Narkotika

Undang-undang nomor 5 tahun 1997 tentang Psikotropika

Wirasuta, I.M.A.G & Niruri, R. (2007). *Buku Ajar Toksikologi Umum*. Bali: Fakultas Farmasi Udayana

Lampiran 1

LAMPIRAN
PERATURAN MENTERI KESEHATAN RI NOMOR 41 TAHUN 2017
TENTANG PERUBAHAN PENGGOLONGAN NARKOTIKA

DAFTAR NARKOTIKA GOLONGAN I

1. Tanaman *Papaver somniferum L* dan semua bagian-bagiannya termasuk buah dan jeraminya, kecuali bijinya.
2. Opium mentah, yaitu getah yang membeku sendiri, diperoleh dari buah tanaman *Papaver Somniferum L* yang hanya mengalami pengolahan sekedar untuk pembungkus dan pengangkutan tanpa memperhatikan kadar morfinnya.
3. Opium masak terdiri dari :
 - a. Candu, hasil yang diperoleh dari opium mentah melalui suatu rentetan pengolahan khususnya dengan pelarutan, pemanasan dan peragian dengan atau tanpa penambahan bahan-bahan lain, dengan maksud mengubahnya menjadi suatu ekstrak yang cocok untuk pemadatan.
 - b. jicing, sisa-sisa dari candu setelah dihisap, tanpa memperhatikan apakah candu itu dicampur dengan daun atau bahan lain.
 - c. jicingko, hasil yang diperoleh dari pengolahan jicing.
4. Tanaman koka, tanaman dari semua genus *Erythroxylon* dari keluarga *Erythroxylaceae* termasuk buah dan bijinya.
5. Daun koka, daun yang belum atau sudah dikeringkan atau dalam bentuk serbuk dari semua tanaman genus *Erythroxylon* dari keluarga *Erythroxylaceae* yang menghasilkan kokain secara langsung atau melalui perubahan kimia.
6. Kokain mentah, semua hasil-hasil yang diperoleh dari daun koka yang dapat diolah secara langsung untuk mendapatkan kokaina.
7. Kokaina, *metil ester-1-benzoil ekgonina*.
8. Tanaman ganja, semua tanaman genus *cannabis* dan semua bagian dari tanaman termasuk biji, buah, jerami, hasil olahan tanaman ganja atau bagian tanaman ganja termasuk damar ganja dan hasis.
9. *Tetrahydrocannabinol*, dan semua isomer serta semua bentuk stereo kimianya.
10. *Delta 9 tetrahydrocannabinol*, dan semua bentuk stereo kimianya.
11. ASETORFINA : 3-O-acetiltetrahidro-7 α -(1-hidroksi-1-metilbutil)-
12. ACETIL – ALFA – METIL : N-[1-(α -metilfenetil)-4-piperidil] asetanilida

13. ALFA-METILFENTANIL	: <i>N</i> -[1 (α -metilfenetil)-4-piperidil] propionanilida
14. ALFA-METILTIOFENTANIL	: <i>N</i> -[1-] 1-metil-2-(2-tienil) etil]-4-iperidil]
15. BETA-HIDROKSIFENTANIL	: <i>N</i> -[1-(beta-hidroksifenetil)-4-piperidil]
16. BETA-HIDROKSI-3-METIL-FENTANIL	: <i>N</i> -[1-(beta-hidroksifenetil)-3-metil-4 piperidil] propio-nanilida
17. DESMORFINA	: Dihidrodeoksimorfina
18. ETORFINA	: tetrahidro-7 α -(1-hidroksi-1-metilbutil)-6, 14-
19. HEROINA	: Diacetilmorfina
20. KETOBEMIDONA	: 4-meta-hidroksifenil-1-metil-4propionilpiperidina
21. 3-METILFENTANIL	: <i>N</i> -(3-metil-1-fenetil-4-piperidil) propionanilida
22. 3-METILTIOFENTANIL	: <i>N</i> -[3-metil-1-[2-(2-tienil) etil]-4-piperidil]
23. MPPP	: 1-metil-4-fenil-4-piperidinol propianat (ester)
24. PARA-FLUOROFENTANIL	: 4'-fluoro- <i>N</i> -(1-fenetil-4-piperidil) propionanilida
25. PEPAP	: 1-fenetil-4-fenil-4-piperidinolasetat (ester)
26. TIOFENTANIL	: <i>N</i> -[1-[2-(2-tienil)etil]-4-piperidil] propionanilida
27. BROLAMFETAMINA, nama lain DOB	: ($\pm$)-4-bromo-2,5-dimetoksi- α -metilfenetilamina
28. DET	: 3-[2-(dietilamino)etil] indol
29. DMA	: (+)-2,5-dimetoksi- α -metilfenetilamina
30. DMHP	: 3-(1 ,2-dimetilheptil)-7 ,8,9, 10-tetrahidro-6,6,9-dibenzo[b, d]piran-1-ol
31. DMT	: 3-[2-(dimetilamino)etil] indol
32. DOET	: ($\pm$)-4-etil-2,5-dimetoksi- α –metilfenetilamina
33. ETISIKLIDINA, nama lain PCE	: <i>N</i> -etil-1-fenilsikloheksilamina
34. ETRIPTAMINA	: 3-(2aminobutil) indole
35. KATINONA	: (-)-(S)- 2-aminopropiofenon
36. (+)-LISERGIDA, nama lain LSD, LSD-25	: 9,10-didehidro- <i>N</i> , <i>N</i> -dietil-6-metilergolina-8 6 – karboksamida
37. MDMA	: ($\pm$)- <i>N</i> , α -dimetil-3,4-(metilendioksi)fenetilamina
38. MESKALINA	: 3,4,5-trimetoksifenetilamina
39. METKATINONA	: 2-(metilamino)-1- fenilpropan-1-on
40. 4- METILAMINOREKS	: ($\pm$)-sis- 2-amino-4-metil- 5- fenil- 2-oksazolina
41. MMDA	: 5-metoksi- α -metil-3,4-
42. N-etil MDA	: ($\pm$)- <i>N</i> -etil- α -metil-3,4-(metilendioksi)fenetilamin
43. N-hidroksi MDA	: ($\pm$)- <i>N</i> -[α -metil-3,4-

44. PARAHEKSIL	: 3-heksil-7,8,9, 10-tetrahidro-6,6, 9-trimetil-6H-dibenzo
45. PMA	: p-metoksi- α -metilfenetilamina
46. PSILOSINA, PSILOTSIN	: 3-[2-(dimetilamino)etil]indol-4-ol
47. PSILOSIBINA	: 3-[2-(dimetilamino)etil]indol-4-il dihidrogen
48. ROLISIKLIDINA, nama lain PHP,PCPY	: 1-(1- fenilsikloheksil)pirolidina
49. STP, DOM	: 2,5-dimetoksi- α ,4-dimetilfenetilamina
50. TENAMFETAMINA, nama lain MDA	: α -metil-3,4-(metilendioksi)fenetilamina
51. TENOSIKLIDINA, nama lain TCP	: 1- [1-(2-tienil) sikloheksil]piperidina
52. TMA	: ($\pm$)-3,4,5-trimetoksi- α -metilfenetilamina
53. AMFETAMINA	: ($\pm$)- α -metilfenetilamina
54. DEKSAMFETAMINA	: (+)- α -metilfenetilamina
55. FENETILINA	: 7-[2-[(α -metilfenetil)amino]etil]teofilina
56. FENMETRAZINA	: 3- metil- 2 fenilmorfolin
57. FENSIKLIDINA, nama lain PCP	: 1-(1- fenilsikloheksil)piperidina
58. LEVAMFETAMINA, nama lain levamfetamina	: (-)-(R)- α -metilfenetilamina
59. LEVOMETAMFETAMINA	: (-)- N, α -dimetilfenetilamina
60. MEKLOKUALON	: 3-(o-klorofenil)- 2-metil-4(3H)- kuinazolinon
61. METAMFETAMINA	: (+)-(S)-N, α -dimetilfenetilamina
62. METAKUALON	: 2- metil- 3-o-to lil-4(3H)- kuinazolinon
63. ZIPEPPROL	: α - (α metoksibenzil)-4-(β -metoksifenetil)-1- piperazinetanol
64. Campuran atau sediaan opium obat dengan bahan lain bukan narkotika	
65. 5 – APB	: 1-(1-Benzofuran-5-il)propan-2-amina
66. 6 – APB	: 1-(1-Benzofuran-6-il)propan-2-amina
67. 25 – NBOMe	: 2-(4-Bromo-2,5-dimetoksifenil)-N-[(2- metoksifenil)metil]etanamina
68. 2 – CB	: 2-(4-Bromo-2,5-dimetoksifenil etanamina
69. 25C – NBOMe nama lain 2C-C NBOMe	: 2-(4-Kloro-2,5-dimetoksifenil)-N-[(2- metoksifenil)metil]etanamina
70. DIMETIMETAMFETAMINA nama lain DMA	: N,N-Dimetil-1-fenilpropan-2-amina

71	DOC	: 1-(4-Kloro-2,5-dimetoksifenil)propan-2-amina
72	ETKATINONA nama lain N - etilkatinona	: 2-(Etilamino)-1-fenilpropan-1-on
73	JWH – 018	: Naftalen-1-il(1-pentil-1H-indol-3- il) metanona
74	MDPV, nama lain 3,4-METILDIOKSIPIROVALERON	: (R/S)-1-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-2- (pirrolidin-1-il)pentan-1- on
75	MEFEDRON, nama lain 4-MC	: (RS)-2-Metilamino-1-(4-metilfenil)
76	METILON, nama lain MDMC	: (RS)-2-Metilamino-1-(3,4- metilendioksi fenil)propan-1-on
77	4-METILKATINONA, nama lain 4-MEC	: (R/S)-2-Etilamino-1-(4-metilfenil) propan-1-on
78	MPHP	: 1-(4-Metilfenil)-2-(pirrolidin-1-il)heksan-1-on
79	251-NBOMe, nama lain 2C-I-NBOMe	: 2-(4-Iodo-2,5-dimetoksifenil)-N-(2- metoksi benzil)etanamina
80	PENTEDRON	: (±)-2-(Metilamino)-1-fenilpentan-1-on
81	PMMA; p-METOKSIMETAM FETAMINA, nama lain, 4-MMA	: METOKSIMETILAMFETAMINA , propanamina
82	XLR-11 nama lain 5-FLUORO-UR-144	: (1-(5-Fluoropentil)-1H-indol-3- il)2,2,3,3-tetrametilsiklopropil)- metanona
83	5-FLUORO AKB 48, nama lain 5F-APINACA	: N-(Adamantan-1-il)-1-(5-fluoropentil)- 1H-indazol-3-karboksamida
84	MAM-2201	: [1-(5-Fluoropentil)-1H-indol-3-il](4- metilnaftalen-1-il)-metanona
85	FUB-144, nama lain FUB-UR-144	: (1-(4-Fluorobenzil)-1H-indol-3-il) (2,2,3,3-tetrametilsiklopropil) metanona
86	AB-CHMINACA	: N-[(1S)-1-(Aminokarbonil)-2- metilpropil]-1-(sikloheksilmetil)-1H- indazol-3-karboksamida
87	AB-FOBINACA	: N-(1-Amino-3-metil-1-oksobutan-2- il)-1(4-fluorobenzil)-1H-indazol-3-karboksamida
88	FUB-AMB nama lain AMB-FUBINACA	: Metil 2-({1-[(4-fluorofenil) metil]-1H- indazol-3-karbonil} amino)-3- metilbutanoat
89	AB-PINACA	: N-(1-Amino-3-metil-1-oksobutan-2- il)-1-pentil-1H-indazol-3- karboksamida
90	THJ-2201	: [1-(5-Fluoropentil)-1H-indazol-3-il] (naftalen-1-il) metanona

91	THJ-018	: 1-Naftalenil(1-pentil-1H-indazol-3-il)metanona
92	MAB-CHMINACA nama lain ADB-CHMINACA	: N-(1-Amino-3,3-dimetil-1-oksobutan-2-il)-1-(sikloheksilmetil)-1H-indazol-3-karboksamida
93	ADB-FUBINACA	: N-(1-Amino-3,3-dimetil-1-oksobutan-2-il)-1-(4-fluorobenzil)-1H-indazol-3-karboksamida
94	MDMB-CHMICA, nama lain MMB-CHMICA	: Metil 2-{{1-(sikloheksilmetil)indol-3-karbonil}amino}-3,3-dimetilbutanoat
95	5-FLUORO-ADB	: Metil 2-{{1-(5-fluoropentil)-1H-indazol-3-karbonil}amino}-3,3-dimetilbutanoat
96	AKB-48, nama lain APINACA	: N-(Adamantan-1-il)-1-pentil-1H-indazol-3-karboksamida
97	4-APB	: 1-(1-Benzofuran-4-il)propan-2-amina
98	ETILON, nama lain bk-MDEA, MDEC	: RS)-1-(1,3-Benzodioksol-5-il)-2-(etilamino)propan-1-on
99	TFMPP	: 1-(3-(Trifluorometil)fenil)piperazin
100	ALFA-METILTRIPTAMINA	: 2-(1H-Indol-3-il)-1-metil-etilamina
101	5-MeO-MiPT	: N-[2-(5-Metoksi-1H-indol-3-il)etil]-N-metilpropan-2-amina
102	METOKSETAMINA, nama lain MTE	: (RS)2-(3-Metoksifenil)-2-(etilamino)sikloheksanona
103	BUFEDRON, nama lain METILAMINO BUTIROFENON	: 2-(Metilamino)-1-fenilbutan-1-on
104	4-KLOROMEKATINONA nama lain 4-CMC, KLEFEDRON	: 1-(4-Klorofenil)-2-(metilamino)propan-1-on
105	AH-7921	: 3,4-Dikloro-N-{{1-(dimetilamino)sikloheksil}metil}benzamida
106	4-MTA	: 1-[4-(Metilsulfanil)fenil]propan-2-amina
107	AM-2201, nama lain JWH-2201	: 1-[(5-Fluoropentil)-1H-indol-3-il]-(naftalen-1-il)metanona
108	ASETILFENTANIL	: N-[1-(2-Feniletil)-4-piperidil]-N-fenilasetamida
109	MT-45	: 1-Sikloheksil-4-(1,2-difeniletil)piperazin
110	ALFA-PVP	: 1-Fenil-2-(pirrolidin-1-il)pentan-1-on
111	4,4'-DMAR, nama lain 4,4'- DIMETILAMINOREKS	: 4-Metil-5-(4-metilfenil)-4,5-dihidro-1,3-oksazol-2-amina
112	METAMFETAMINA RASEMAT	: (±)-N,α-Dimetilfenetilamina
113	Garam-garam narkotika dalam golongan tersebut di atas	

114	Tanaman KHAT (<i>Catha edulis</i>)	
115	JWH-073	: (1-Butil-1H-indol-3-il)(naftalen-1-il)metanon
116	JWH-122	: (4-Metilnaftalen-1-il)(1-pentil-1H-
117	5-KLORO AKB 48 nama lain 5-CIAPINACA	: N-(Adamantan-1-il)-1-(5- kloropentil)-1H-indazol-3-karboksamida
118	5-FLUORO AMB, 5-FLUORO AMP, 5F-AMB-PINACA	: Metil 2-([1-(5-fluoropentil)-1H-indazol-3-il] karbonil)amino)-3-metilbutanoat
119	SDB-005	: Naftalen-1-il 1-pentil-1H-indazol-
120	5-FLUORO-ADBICA	: N-(1-Amino-3,3-dimetil-1- oksobutan-2-il)-1-(5-
121	EMB-FUBINACA	: Etil 2-(1-(4-fluorobenzil)-1H-indazol-3-karboksamida)-3-metilbutanoat
122	MMB-CHMICA	: Metil 2-([1-(sikloheksilmetil)indol-3-karbonil]amino)-3,3-dimetilbutanoat
123	2C-I, nama lain 4-iodo-2,5-DMPEA	: 2-(4-Iodo-2,5-dimetoksifenil)etanamina
124	2C-C nama lain 2,5 DIMETOK SI-4- KLOROFENETILAMINA	: 2-(4-Kloro-2,5-dimetoksifenil)etanamina
125	2C-H	: 2-(2,5-Dimetoksifenil)etanamina
126	PMEA; p-METOKSIETILAMFET AMINA, nama lain PARA METOKSIETILAMFETAMINA	: N-Etil-1-(4-metoksifenil)propan-2- amina
127	Mexedron	: 3-Metoksi-2-(metilamino)-1-(4- metilfenil)propan-1-on
128	PENTILON nama lain bk-METIL-K, bk-MBDP	: 1-(1,3-Benzodioksol-5-il)-2- (metilamino)pentan-1-on
129	EPILON nama lain N-ETILPENTILON	: 1-(2H-1,3-Benzodioksol-5-il)-2-(etilamino)pentan-1-on
130	4-CEC, nama lain 4-KLOROETKATINON	: 1-(4-Klorofenil)-2- (etilamino)propan-1-on
131	BENZEDRON, nama lain 4-MBC	: (±)-1-(4-Metilfenil)-2-(benzilamino) propan-1-on
132	U-47700	: 3,4-dikloro-N-[(1R,2R)-2-(dimetilamino) sikloheksil]-N-metilbenzamida

133 METIOPROPAMINA nama lain : 1-(Tiofen-2-il)-2-metilaminopropan
MPA

DAFTAR NARKOTIKA GOLONGAN II

1.	ALFASETILMETADOL	: Alfa-3-asetoksi-6-dimetil amino-4,4-difenilheptana
2.	ALFAMEPRODINA	: Alfa-3-etil-1-metil-4-fenil-4-propionoksipiperidina
3.	ALFAMETADOL	: alfa-6-dimetilamino-4,4-difenil-3-heptanol
4.	ALFAPRODINA	: alfa-1, 3-dimetil-4-fenil-4-propionoksipiperidina
5.	ALFENTANIL	: N-[1-[2-(4-etil-4.5-dihidro-5-okso-1 H-tetrazol-1-il)etil]-4-(metoksimetil)-4-pipe ridinil]-N-fenilpropanamida
6.	ALLILPRODINA	: 3-allil-1-metil-4-fenil-4-propionoksipiperidina
7.	ANILERIDINA	: Asam 1-para-aminofenetil-4-fenilpiperidina)-4-karboksilat etil ester
8.	ASETILMETADOL	: 3-asetoksi-6-dimetilamino-4, 4-difenilheptana
9.	BENZETIDIN	: asam 1-(2-benziloksietil)-4-fenilpiperidina-4-karboksilat etil ester
10.	BENZILMORFINA	: 3-benzilmorfina
11.	BETAMEPRODINA	: beta-3-etil-1-metil-4-fenil-4-propionoksipiperidina
12.	BETAMETADOL	: beta-6-dimetilamino-4,4-difenil-3-heptanol
13.	BETAPRODINA	: beta-1,3-dimetil-4-fenil-4-propionoksipiperidina
14.	BETASETILMETADOL	: beta-3-asetoksi-6-dimetilamino-4, 4-difenilheptana
15.	BEZITRAMIDA	: 1-(3-siano-3,3-difenilpropil)-4-(2-okso-3-propionil-1-benzimidazolinil)-piperidina
16.	DEKSTROMORAMIDA	: (+)-4-[2-metil-4-okso-3,3-difenil-4-(1-pirolidinil)butil]-
17.	DIAMPROMIDA	: N-[2-(metilfenetilamino)-propil]propionanilida
18.	DIETILTAMIBUTENA	: 3-dietilamino-1,1-di(2'-tienil)-1-butena
19.	DIFENOKSILAT	: asam 1-(3-siano-3,3-difenilpropil)-4-fenilpiperidina-4-karboksilat etil ester
20.	DIFENOKSIN	: asam 1-(3-siano-3,3-difenilpropil)-4-fenilisonipekotik
21.	DIHIDROMORFINA	
22.	DIMEFHEPTANOL	: 6-dimetilamino-4,4-difenil-3-heptanol
23.	DIMENOKSADOL	: 2-dimetilaminoetil-1-etoksi-1,1-difenilasetat
24.	DIMETILTAMIBUTENA	: 3-dimetilamino-1,1-di(2'-tienil)-1-butena
25.	DIOKSAFETIL BUTIRAT	: etil-4-morfolino-2, 2-difenilbutirat
26.	DIPIANONA	: 4, 4-difenil-6-piperidina-3-heptanona
27.	DROTEBANOL	: 3,4-dimetoksi-17-metilmorfinan-6 β ,14-diol

28. Ekgonina, termasuk ester dan derivatnya yang setara dengan ekgonina dan kokaina.
29. ETILMETILTAMBUTEN : 3-etilmetilamino-1, 1-di-(2'-tienil)-1-butena
30. ETOKSERIDINA : asam 1-[2-(2-hidroksietoksi)-etil]-4-fenilpiperidina-4-karboksilat etil ester
31. ETONITAZENA : 1-dietilaminoetil-2-para-etoksibenzil-5-nitrobenzimidazol
32. FURETIDINA : asam 1-(2-tetrahidrofurfuriloksietil)-4-fenilpiperidina-4-karboksilat etil ester)
33. HIDROKODONA : dihidrokodeinona
34. HIDROKSIPETIDINA : asam 4-meta-hidroksifenil-1-metilpiperidina-4 karboksilat etil ester
35. HIDROMORFINOL : 14-hidroksidihidromorfina
36. HIDROMORFONA : dihidrimorfina
37. ISOMETADONA : 6-dimetilamino- 5 -metil-4, 4-difenil-3-heksanona
38. FENADOKSONA : 6-morfolino-4, 4-difenil-3-heptanona
39. FENAMPROMIDA : N-(1-metil-2-piperidinoetil)-propionanilida
40. FENAZOSINA : 2'-hidroksi-5,9-dimetil- 2-fenetil-6,7-benzomorfan
41. FENOMORFAN : 3-hidroksi-N-fenetilmorfinan
42. FENOPERIDINA : asam 1-(3-hidroksi-3-fenilpropil)-4-fenilpiperidina-4-karboksilat Etil ester
43. FENTANIL : 1-fenetil-4-N-propionilanilinopiperidina
44. KLONITAZENA : 2-para-klorbenzil-1-dietilaminoetil-5-nitrobenzimidazol
45. KODOKSIMA : dihidrokodeinona-6-karboksimetiloksima
46. LEVOFENASILMORFAN : (1)-3-hidroksi-N-fenasilmorfinan
47. LEVOMORAMIDA : (-)-4-[2-metil-4-okso-3,3-difenil-4-(1-pirolidinil)butil]
48. LEVOMETORFAN : (-)-3-metoksi-N-metilmorfinan
49. LEVORFANOL : (-)-3-hidroksi-N-metilmorfinan
50. METADONA : 6-dimetilamino-4, 4-difenil-3-heptanona
51. METADONA : 4-siano-2-dimetilamino-4, 4-difenilbutana
- INTERMEDIATE
52. METAZOSINA : 2'-hidroksi-2,5,9-trimetil-6, 7-benzomorfan
53. METILDESORFINA : 6-metil-delta-6-deoksimorfina
54. METILDIHIDROMORFI : 6-metildihidromorfina
55. METOPON : 5-metildihidromorfinona
56. MIROFINA : Miristilbenzilmorfina
57. MORAMIDA : asam (2-metil-3-morfolino-1, 1-difenilpropana karboksilat
58. MORFERIDINA : asam 1-(2-morfolinoetil)-4-fenilpiperidina-4-karboksilat
59. Morfina-N-oksida

- 60 Morfin metobromida dan turunan morfina nitrogen pentafalent lainnya termasuk bagian turunan morfina-N-oksida, salah satunya kodeina-N-oksida
62. NIKOMORFINA : *3,6-dinikotinilmorfina*
63. NORASIMETADOL : *(±)-alfa-3-asetoksi-6metilamino-4,4-difenilheptana*
64. NORLEVORFANOL : *(-)-3-hidroksimorfinan*
65. NORMETADONA : *6-dimetilamino-4,4-difenil-3-heksanona*
66. NORMORFINA : *dimetilmorfina atau N-demetilatedmorfina*
67. NORPIANONA : *4,4-difenil-6-piperidino-3-heksanona*
68. OKSIKODONA : *14-hidroksidihidrokodeinona*
69. OKSIMORFONA : *14-hidroksidihidromorfinona*
70. Petidina intermediat A : *4-siano-1-metil-4-fenilpiperidina*
71. Petidina intermediat B : *asam4-fenilpiperidina-4-karboksilat etil ester*
72. Petidina intermediat C : *Asam1-metil-4-fenilpiperidina-4-karboksilat*
73. PETIDINA : *Asam1-metil-4-fenilpiperidina-4-karboksilat etil ester*
74. PIMINODINA : *asam 4-fenil-1-(3-fenilaminopropil)- pipe ridina-4-karboksilat etil*
75. PIRITRAMIDA : *asam1-(3-siano-3,3-difenilpropil)-4(1-piperidino)piperidina-4- Karbosilat amida*
76. PROHEPTASINA : *1,3-dimetil-4-fenil-4-propionoksiazasikloheptana*
77. PROPERIDINA : *asam1-metil-4-fenilpiperidina-4-karboksilat isopropil ester*
78. RASEMETORFAN : *(±)-3-metoksi-N-metilmorfinan*
79. RASEMORAMIDA : *(±)-4-[2-metil-4-okso-3,3-difenil-4-(1-pirolidinil)-butil]-morfolina*
80. RASEMORFAN : *(±)-3-hidroksi-N-metilmorfinan*
81. SUFENTANIL : *N-[4-(metoksimetil)-1-[2-(2-tienil)-etil-4-piperidil]propionanilida*
82. TEBAINA
83. TEBAKON : *asetildihidrokodeinona*
84. TILIDINA : *(±)-etil-trans-2-(dimetilamino)-1-fenil-3-sikloheksena-1-karboksilat*
85. TRIMEPERIDINA : *1,2,5-trimetil-4-fenil-4-propionoksipiperidina*
86. BENZILPIPERAZIN (BZP), : *1-Benzilpiperazine*
N-BENZIL PIPERAZIN
87. META- KLOOR FENIL : *1-(3-Klorofenil)piperazine*
PIPERAZIN (MCPD)

- 88 DIHIDROETORFIN : *7,8-Dihidro-7 α -[1-(R)-hidroksi-1- metilbutil]-6,14-endo-etanotetrahidrooripavina*
- 89 ORIPAVIN : *3-O-Demetiltebain*
- 90 REMIFENTANIL : *Asam1-(2-Metoksikarboniletal)-4- (fenilpropionilamino)-*
- 91 Garam-garam dari narkotika dalam golongan tersebut di atas

DAFTAR NARKOTIKA GOLONGAN III

1. ASETILDIHIDROKODEINA
2. DEKSTROPROPOKSIFENA : *α -(+)-4-dimetilamino-1,2-difenil-3-metil-2-butanol*
3. DIHIDROKODEINA
4. ETILMORFINA : *3-etil morfina*
5. KODEINA : *3-metil morfina*
6. NIKODIKODINA : *6-nikotinildihidrokodeina*
7. NIKOKODINA : *6-nikotinilkodeina*
8. NORKODEINA : *N-demetilkodeina*
9. POLKODINA : *Morfoliniletilmorfina*
10. PROPIRAM : *N-(1-metil-2-piperidinoetil)-N-2-piridilpropionamida*
11. BUPRENORFINA : *21-siklopropil-7- α -[(S)-1-hidroksi-1,2,2-trimetilpropil]-6,14-endo-entano-6,7,8,14-tetrahidrooripavina*
- 12 CB 13, nama lain CRA : *Naftalen-1-il[4-(pentiloksi)naftalen-1-il]etanona*
atau SAB-378
- 13 Garam-garam dari Narkotika dalam golongan tersebut diatas
- 14 Campuran atau sediaan difenoksin dengan bahan lain bukan narkotika
- 15 Campuran atau sediaan difenoksilat dengan bahan lain bukan narkotika

Lampiran 2

DAFTAR GOLONGAN PSIKOTROPIKA

DAFTAR PSIKOTROPIKA GOLONGAN II (sesuai Lampiran Permenkes nomor 3 tahun 2017)

No.	Nama Lazim	Nama Kimia
1.	AMINEPTINA	Asam 7-[(10,11-dihidro-5H-dibenzo[a,d]-siklohepten-5-il)amino] heptanoat
2.	METILFENIDAT	Metil-alfa-fenil-2-piperidina asetat
3.	SEKOBARBITAL	Asam 5-alil-5-(1-metilbutil) barbiturat

DAFTAR PSIKOTROPIKA GOLONGAN IV (sesuai Lampiran Permenkes nomor 3 tahun 2017)

No.	Nama Lazim	Nama Kimia
1.	ALLOBARBITAL	Asam 5,5-dialilbarbiturat
2.	ALPRAZOLAM	8-Kloro-1-metil-6-fenil-4H-s-triazolo[4,3-a][1,4] benzodiazepina
3.	AMFEPRAMONA, nama lain Dietilnpronion	2-(Dietilamino)propiofenon
4.	AMINOREKS	2-Amino-5-fenil-2-oksazolina
5.	BARBITAL	Asam 5,5-dietilbarbiturat
6.	BENZFETAMINA	N-Benzil-N- α -dimetilfenetilamina
7.	BROMAZEPAM	7-Bromo-1,3-dihidro-5-(2-piridil)-2H-1,4-benzodiazepin-2-on
8.	BROTIZOLAM	2-Bromo-4-(o-klorofenil)-9-metil-6H-tieno[3,2-f]-s-triazolo[4,3-a][1,4]diazepina
9.	BUTOBARBITAL	Asam 5-butil-5-etilbarbiturat
10.	DELORAZEPAM	7-Kloro-5-(o-klorofenil)-1,3-dihidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on
11.	DIAZEPAM	7-Kloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-on

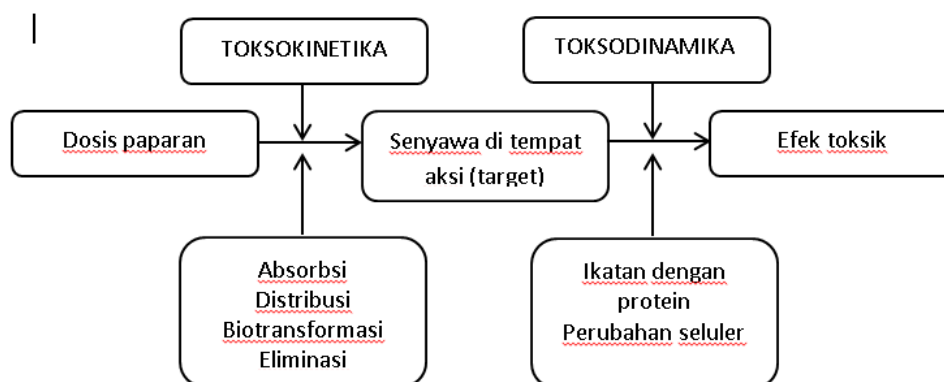
Bab 2

TOKSOKINETIKA DAN TOKSODINAMIKA

Muji Rahayu , SSi, Apt., M.Sc.

Pendahuluan

Setelah mempelajari Bab 1, maka Saudara dapat memahami bahwa senyawa toksik dalam kehidupan kita sehari-hari, masuk ke dalam tubuh bahkan tanpa kita sadari. Namun demikian hal itu tidak serta merta menimbulkan keracunan. Tubuh kita dibekali dengan mekanisme yang mampu mengatasi senyawa tersebut jika dalam jumlah sedikit. Urutan antara paparan bahan kimia dan efek buruk yang ditimbulkan dapat dibagi menjadi dua aspek yaitu; toksikokinetika atau penyampaian senyawa ke tempat kerjanya dan toksikodinamika atau toksodinamika yaitu respon di tempat aksi senyawa tersebut (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Hubungan antara paparan xenobiotik sampai menimbulkan efek.

Sumber : Renwick, A.G., 2006

Dalam bab ini, Saudara akan mempelajari Toksokinetika yaitu pengaruh tubuh terhadap senyawa toksik, meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme atau biotransformasi dan ekskresi. Dalam bab ini toksokinetika dibahas secara umum, sedangkan toksokinetika untuk masing-masing bahan toksik akan dipaparkan pada bab 5, 6, 7 dan 8.

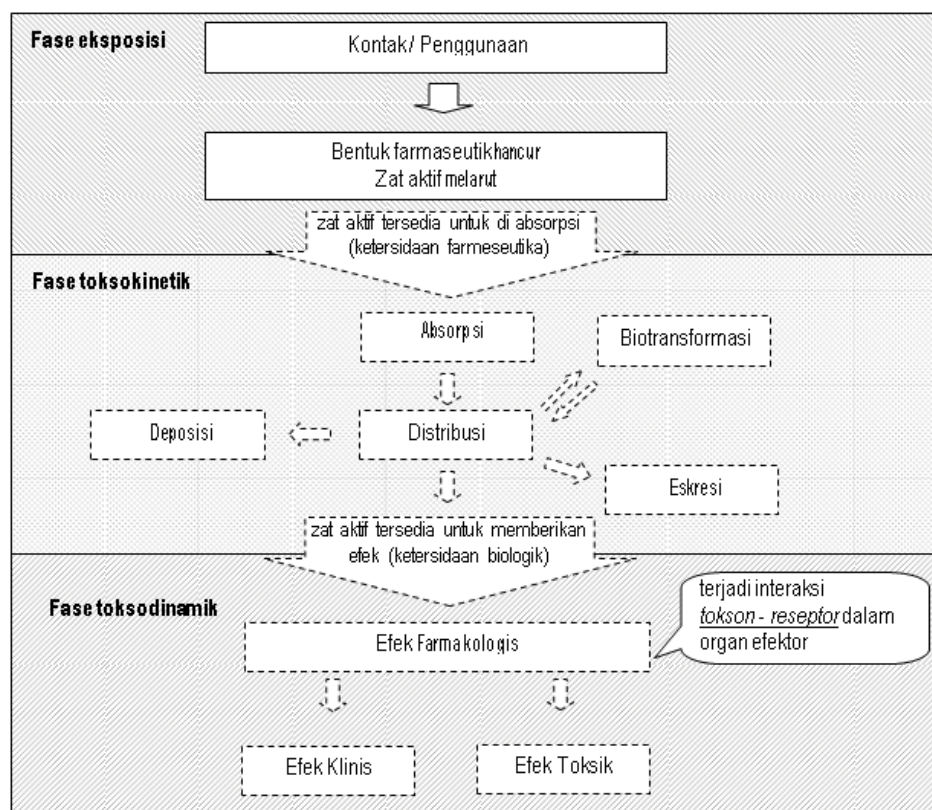
Pemahaman tentang absorpsi, distribusi, biotransformasi dan ekskresi akan membekali Saudara sebagai tenaga Teknologi Laboratorium Medik (TLM) untuk dapat menentukan sampel yang harus diambil untuk menemukan penyebab pada suatu kasus keracunan. Selain itu Saudara juga akan mempelajari akibat dari senyawa toksik yang masuk ke dalam tubuh dan diistilahkan sebagai toksodinamika. Toksikodinamika berhubungan dengan proses dan perubahan yang terjadi pada jaringan target, seperti bioaktivasi metabolik dan ikatan kovalen, dan menghasilkan efek samping. Toksodinamika ini mendasari tindakan untuk mengatasi keracunan yang bukan menjadi tugas utama seorang tenaga TLM, akan tetapi gejala yang ditimbulkan akibat keracunan dapat digunakan sebagai data pendukung untuk menegaskan diagnosis keracunan.

Topik 1

Toksokinetika

A. PENGANTAR TOKSOKINETIKA

Meskipun beberapa zat yang digunakan sebagai obat adalah senyawa alami, seperti noradrenalin (norepinephrine), atau molekul esensial, misalnya oksigen, kebanyakan obat dan racun lainnya asing bagi tubuh maka istilah umum xenobiotik (senyawa asing) sering digunakan. Hampir semua zat bisa beracun, yaitu dapat menyebabkan efek merusak pada fungsi tubuh, tidak hanya tergantung pada dosis, tapi juga pada berbagai faktor lain seperti cara paparan, apakah subjek sudah terpapar pada senyawa baru-baru ini, atau apakah racun lain masuk ke dalam pada waktu yang sama. Oleh karena itu, untuk memahami peran pengukuran xenobiotik dan pengukuran lainnya pada sampel klinis atau forensik dalam diagnosis, perawatan, prognosis dan pencegahan keracunan, penting untuk memahami proses dimana obat dan racun lainnya diserap, didistribusikan, dalam beberapa kasus, dimetabolisme, dan akhirnya diekskresikan dan dikeluarkan dari tubuh. Tidak semua xenobiotik melewati semua tahap ini (Flanagan, 2007).



Gambar 2.2 Rangkaian Fase Kerja Toksik

Sumber: Wirasuta, 2006

Studi tentang absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi sering disebut dengan akronim ADME; dalam bidang farmasi, pelepasan obat dari sediaan farmasi juga disertakan, sehingga menjadi LADME. Istilah disposisi dapat digunakan untuk merujuk pada berbagai proses yang terjadi setelah pemberian, atau pemaparan senyawa tertentu. Istilah farmakokinetik (untuk obat-obatan) dan toksikokinetik (untuk bahan toksik) digunakan untuk menggambarkan tingkat di mana berbagai proses ini terjadi, walaupun istilah farmakokinetik lebih disukai (Flanagan, 2007).

Dua aspek yang perlu diperhatikan dalam menelaah interaksi xenobiotika dengan organisme hidup yaitu: kerja xenobiotika pada organisme dan reaksi atau efek yang ditimbulkan. Kerja toksik pada umumnya merupakan hasil sejumlah besar proses fisika, biokimia dan biologi yang kompleks. Secara umum kerja toksik dapat digambarkan dalam rantai kerja yang terdiri dari: fase eksposisi, toksokinetik dan fase toksodinamik (Gambar 2.2).

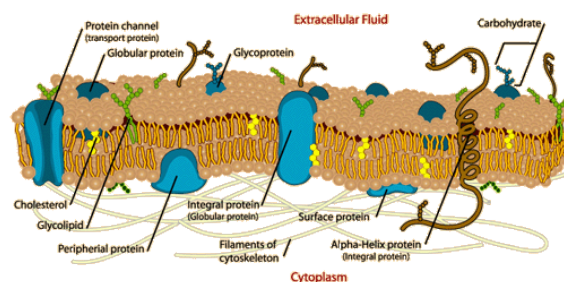
B. FASE EKSPOSISI

Fase eksposisi terjadi ketika ada kontak antara xenobiotika dengan organisme atau dengan kata lain, terjadi paparan xenobiotika pada organisme. Paparan ini dapat terjadi melalui kulit, oral, saluran pernafasan (inhalasi) atau penyampaian xenobiotika langsung ke dalam tubuh organisme (injeksi) (Wirasuta, 2006).

Jika suatu objek biologik terpapar oleh sesuatu xenobiotika, maka, kecuali senyawa radioaktif, efek biologik atau toksik akan muncul, jika xenobiotika tersebut telah terabsorpsi menuju sistem sistemik. Umumnya hanya xenobiotika yang terlarut, terdistribusi molekular, yang dapat diabsorpsi. Dalam hal ini akan terjadi pelepasan xenobiotika dari bentuk farmaseutikanya. Misalnya paparan xenobiotika melalui oral (misal sediaan dalam bentuk padat: tablet, kapsul, atau serbuk), maka terlebih dahulu kapsul/tablet akan terdistegrasi (hancur), sehingga xenobiotika akan terlarut di dalam cairan saluran pencernaan. Xenobiotika yang terlarut akan siap terabsorpsi secara normal dalam duodenal dari usus halus dan ditranspor melalui pembuluh kapiler mesenterika menuju vena porta hepatica menuju hati sebelum ke sirkulasi sistemik (Wirasuta, 2006).

Penyerapan xenobiotika sangat tergantung pada konsentrasi dan lamanya kontak antara xenobiotika dengan permukaan organisme yang berkemampuan untuk mengabsorpsi xenobiotika tersebut. Dalam hal ini laju absorpsi dan jumlah xenobiotika yang terabsorpsi akan menentukan potensi efek biologik atau toksik. Pada pemakaian obat, fase ini dikenal dengan fase farmaseutika, yaitu semua proses yang berkaitan dengan pelepasan senyawa obat dari bentuk farmasetikanya (tablet, kapsul, salep, dll). Bagian dosis dari senyawa obat, yang tersedia untuk diabsorpsi dikenal dengan ketersediaan farmaseutika. Pada kenyataannya sering dijumpai, bahwa sediaan tablet dengan kandungan zat aktif yang sama dan dibuat oleh pabrik farmasi yang berbeda, dapat

memberikan potensi efek farmakologik yang berbeda. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan ketersediaan farmaseutiknya. Perbedaan ketersediaan farmaseutika suatu sediaan ditentukan oleh sifat fisiko-kimia, umpaman ya ukuran dan bentuk kristal, demikian pula jenis zat pembantu (tambahan pada tablet) dan metode fabrikasi. Disamping bentuk farmaseutika yang berpengaruh jelas terhadap absorpsi dan demikian pula tingkat toksisitas, sifat fisiko-kimia dari xenobiotika (seperti bentuk dan ukuran kristal, kelarutan dalam air atau lemak, konstanta disosiasi) tidak boleh diabaikan dalam hal ini. Laju absorpsi suatu xenobiotika ditentukan juga oleh sifat membran biologi dan aliran kapiler darah tempat kontak (Wirasuta, 2006).



Gambar 2.3 Struktur membrane biologi

Sumber: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/Biology/celmem.html>

Suatu xenobiotika, agar dapat diserap/diabsorpsi di tempat kontak, maka harus melewati membran sel di tempat kontak. Suatu membran sel biasanya terdiri atas lapisan biomolekular yang dibentuk oleh molekul lipid dengan molekul protein yang tersebar diseluruh membran (lihat gambar 2.3).

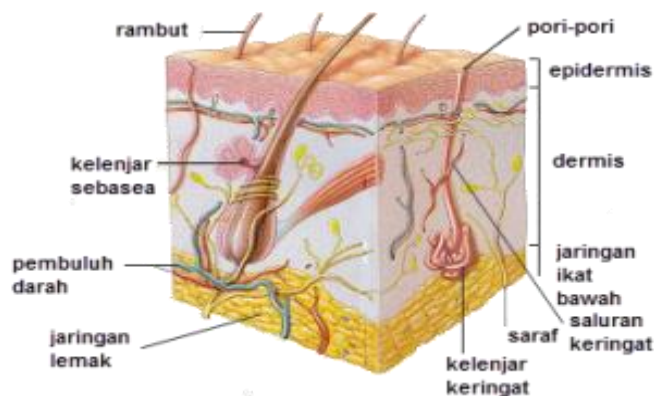
Jalur utama bagi penyerapan xenobiotika adalah saluran cerna, paru-paru, dan kulit. Namun pada keracunan aksidental, atau penelitian toksikologi, paparan xenobiotika dapat terjadi melalui jalur injeksi, seperti injeksi intravena, intramuskular, subkutan, intraperitoneal, dan jalur injeksi lainnya.

1. Melalui kulit

Eksposisi (pemejanan) yang paling mudah dan paling lazim terhadap manusia atau hewan dengan segala xenobiotika, seperti misalnya kosmetik, produk rumah tangga, obat topikal, cemaran lingkungan, atau cemaran industri di tempat kerja, ialah pemejanan sengaja atau tidak sengaja pada kulit. Kulit terdiri atas epidermis (bagian paling luar) dan dermis, yang terletak di atas jaringan subkutan. Tebal lapisan epidermis adalah relatif tipis, yaitu rata-rata sekitar 0,1-0,2 mm, sedangkan dermis sekitar 2 mm. Dua lapisan ini dipisahkan oleh suatu membran basal (lihat gambar 2.3).

Lapisan epidermis terdiri atas lapisan sel basal (stratum germinativum), yang memberikan sel baru bagi lapisan yang lebih luar. Sel baru ini menjadi sel duri (stratum spinosum) dan, nantinya menjadi sel granuler (stratum granulosum). Selain itu sel ini

juga menghasilkan keratohidrin yang nantinya menjadi keratin dalam stratum corneum terluar, yakni lapisan tanduk. Epidermis juga mengandung melanosit yang menghasilkan pigmen dan juga sel langerhans yang bertindak sebagai makrofag dan limfosit. Dua sel ini belakangan diketahui yang terlibat dalam berbagai respon imun dan mastosit. Di bawah dermis terdapat jaringan subkutan. Selain itu, ada beberapa struktur lain misalnya folikel rambut, kelenjar keringan, kelenjar sebacea, kapiler pembuluh darah dan unsur syaraf. Pejanan kulit terhadap xenobiotik sering mengakibatkan berbagai lesi (luka), namun tidak jarang xenobiotik dapat juga terabsorpsi dari permukaan kulit menuju sistem sistemik (Wirasuta, 2006).



Gambar 2.4 Struktur lapisan kulit

Sumber: <https://dosenbiologi.com/manusia/macam-macam-lapisan-kulit-manusia>

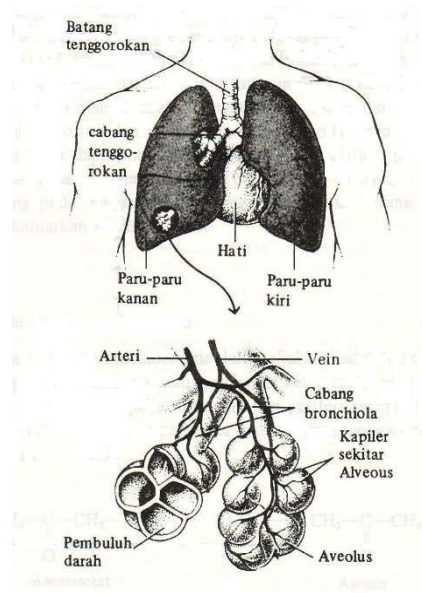
2. Eksposisi melalui jalur inhalasi

Pemejanan xenobiotika yang berada di udara dapat terjadi melalui penghirupan xenobiotika tersebut. Xenobiotik yang terdapat di udara berada dalam bentuk gas, uap, butiran cair, dan partikel padat dengan ukuran yang berbeda-beda. Disamping itu perlu diingat, bahwa saluran pernafasan merupakan sistem yang kompleks, yang secara alami dapat menseleksi partikel berdasarkan ukurannya. Oleh sebab itu ambilan dan efek toksik dari xenobiotik yang dihirup tidak saja tergantung pada sifat toksisitasnya tetapi juga pada sifat fisiknya.

Saluran pernafasan terdiri atas nasofaring, saluran trakea dan bronkus, serta acini paru-paru, yang terdiri atas bronkiol pernafasan, saluran alveolar, dan alveoli (lihat gambar 2.4). Nasofaring berfungsi membuang partikel besar dari udara yang dihirup, menambahkan uap air, dan mengatur suhu. Umumnya partikel besar ($>10\ \mu\text{m}$) tidak memasuki saluran napas, kalau masuk akan diendapkan di hidung dan dienyahkan dengan diusap, dihembuskan dan berbangkis. Saluran trakea dan bronkus berfungsi sebagai saluran udara yang menuju alveoli. Trakea dan bronki dibatasi oleh epitel bersilia dan dilapisi oleh lapisan tipis lendir yang disekresi dari sel tertentu

dalam lapisan epitel. Dengan silia dan lendirnya, lapisan ini dapat mendorong naik partikel yang mengendap pada permukaan menuju mulut. Partikel yang mengandung lendir tersebut kemudian dibuang dari saluran pernafasan dengan diludahkan atau ditelan. Namun, butiran cairan dan partikel padat yang kecil juga dapat diserap lewat difusi dan fagositosis. Fagosit yang berisi partikel-partikel akan diserap ke dalam sistem limfatik. Beberapa partikel bebas dapat juga masuk ke saluran limfatik. Partikel-partikel yang dapat terlarut mungkin diserap lewat epitel ke dalam darah (Wirasuta, 2006).

Alveoli merupakan tempat utama terjadinya absorpsi xenobiotika yang berbentuk gas, seperti carbon monoksida, oksida nitrogen, belerang dioksida atau uap cairan, seperti bensen dan karbontetraklorida. Kemudahan absorpsi ini berkaitan dengan luasnya permukaan alveoli, cepatnya aliran darah, dan dekatnya darah dengan udara alveoli. Laju absorpsi bergantung pada daya larut gas dalam darah. Semakin mudah larut akan semakin cepat diabsorpsi.



Gambar 2.5 Saluran pernafasan

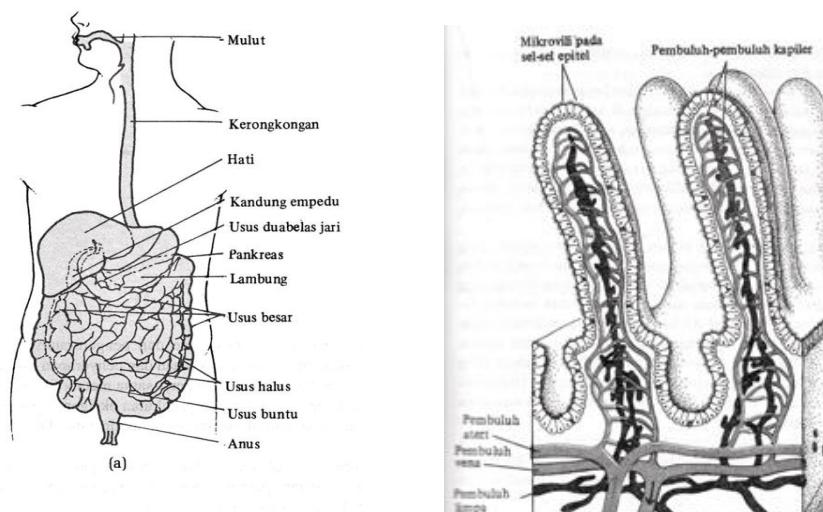
Sumber: Wirasuta, 2006

3. Eksposisi melalui jalur saluran cerna

Pemejanaan xenobiotik melalui saluran cerna dapat terjadi bersama makanan, minuman, atau secara sendiri baik sebagai obat maupun zat kimia murni. Pada jalur ini mungkin xenobiotik terserap dari rongga mulut (sub lingual), dari lambung sampai usus halus, atau eksposisi xenobiotik dengan sengaja melalui jalur rektal. Kecuali zat yang bersifat basa atau asam kuat, atau zat yang dapat merangsang mukosa, pada umumnya tidak akan memberikan efek toksik kalau tidak diserap.

Cairan getah lambung bersifat sangat asam, sehingga senyawa asam-asam lemah akan berada dalam bentuk non-ion yang lebih mudah larut dalam lipid dan mudah terdifusi, sehingga senyawa-senyawa tersebut akan mudah terserap di dalam lambung. Berbeda dengan senyawa basa lemah, pada cairan getah lambung akan terionkan oleh sebab itu akan lebih mudah larut dalam cairan lambung. Senyawa basa lemah, karena cairan usus yang bersifat basa, akan berada dalam bentuk non-ioniknya, sehingga senyawa basa lemah akan lebih mudah terserap melalui usus daripada lambung.

Pada umumnya xenobiotik melintasi membran saluran pencernaan menuju sistem sistemik dengan difusi pasif, yaitu transpor dengan perbedaan konsentrasi sebagai daya dorongnya. Namun disamping difusi pasif, juga dalam usus, terdapat juga transpor aktif, seperti transpor yang difasilitasi dengan zat pembawa (*carrier*), atau pinositosis (Wirasuta, 2006).



Gambar 2.6 Saluran pencernaan dan struktur usus halus

Sumber: Wirasuta, 2006

C. FASE TOKSOKINETIK

Efek toksik timbul jika xenobiotik terabsorpsi kemudian ditransfer bersama sistem peredaran darah menuju reseptor, hasil interaksi xenobiotik dengan reseptor akan menimbulkan efek. Untuk mengakhiri efek yang timbul, oleh tubuh xenobiotik akan dimetabolisme dan dieliminasi dari dalam tubuh. Proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan eliminasi (*ADME*) terangkum dalam fase toksokinetik.

Toksokinetik melibatkan proses invasi (masuknya xenobiotika ke tubuh), transportasi dan distribusi (pergerakan xenobiotika di dalam tubuh), serta proses eliminasi (proses hilangnya xenobiotika dari dalam tubuh). Proses ini semua menentukan efikasi (kemampuan

xenobiotika menghasilkan efek), efektifitas dari xenobiotika, konsentrasi xenobiotika pada reseptor, dan durasi dari efek farmakodinamiknya. Sifat-sifat farmakokinetik suatu xenobiotika digunakan oleh farmakolog, ilmuwan klinik dan toksikolog untuk mengembangkan pengobatan, untuk mengertikan faktor-faktor yang dapat mendorong penyalahgunaan xenobiotika tersebut, serta dijadikan dasar untuk mengetahui kapan dan dalam bentuk apa xenobiotika tersebut masih dapat dideteksi setelah selang waktu pemakaian dan menginterpretasikan efek-efek xenobiotika tersebut (Wirasuta, 2006).

1. Absorpsi (Proses Invasi)

Semua proses transfer xenobiotik dari lingkungan menuju sistem peredaran darah dirangkum kedalam proses invasi, proses ini juga digambarkan sebagai resorpsi. Xenobiotik dapat teresorpsi umumnya berada dalam bentuk terlarut atau terdispersi molekular. Laju resorpsi xenobiotik ditentukan oleh daerah paparan (topikal, oral, inhalasi atau injeksi), bentuk farmasetik xenobiotik (tablet, salep, sirup, aerosol, suspensi atau larutan), proses resorpsi, sifat fisikokimia xenobiotik dan konsentrasinya. Proses invasi disebut juga dengan absorpsi, yang ditandai oleh masuknya xenobiotika dari tempat kontak (paparan) menuju sirkulasi sistemik tubuh. Laju absorpsi xenobiotika ditentukan oleh sifat membran biologis dan aliran kapiler darah tempat kontak serta sifat fisiko kimia dari xenobiotika itu sendiri. Pada pemakaian oral (misal sediaan dalam bentuk padat), maka terlebih dahulu kapsul/tablet akan terdistegrasi, sehingga xenobiotika akan terlarut di dalam cairan saluran pencernaan. Xenobiotika yang terlarut ini akan terabsorpsi secara normal dalam duodenal dari usus halus dan ditransport melalui pembuluh kapiler mesenterika menuju vena porta hepatika menuju hati sebelum ke sirkulasi sistemik. Kelarutan xenobiotika akan sangat mempengaruhi laju absorpsinya, jika xenobiotika terlalu non polar, maka dia akan terlarut cukup kuat dalam lapisan lipofil dari membran sel. Demikian juga jika terlalu polar xenobiotika ini akan mudah terlarut di dalam saluran cerna namun transport melalui membran biologis akan terhambat (Wirasuta, 2006).

Paparan xenobiotika (rute administrasi) dapat melalui oral, inhalasi, topikal, rektal, atau vaginal. Sedangkan pemasukan xenobiotika langsung ke sirkulasi sistemik (injeksi), dapat dikatakan bahwa xenobiotika tidak mengalami proses absorpsi. Rute pemaparan akan mempengaruhi onset dari aksi, durasi efek, intensitas dan kualitas efek dari xenobiotik. Pada pemakaian intravenus obat dapat langsung ditranspor ke reseptor, rute pemakaian ini tentunya akan memberikan efek yang paling maksimum dan onset aksi yang singkat. Namun pemakaian intravena pada penyalahgunaan obat terlarang lebih banyak menimbulkan resiko yang berbahanya, oleh sebab itu pada kasus ini pemakaian melalui inhalasi dan merokok merupakan alternatif yang lebih populer dikalangan *junkies*. Jika drug dihisap melalui hidung atau bersamaan dengan rokok, maka drug akan sangat cepat terabsorpsi di alveoli paru- paru,

dan selanjutnya melalui pembuluh darah arteri dibawa ke otak. Oleh sebab itu efek akan lebih cepat timbul. Pemakaian "crack" (bentuk kokain yang digunakan secara merokok) dengan menghisap akan menimbulkan onset aksi yang sangat singkat, sehingga intensitas euforia akan cepat tercapai. Demikian juga pada pemakain heroin secara inhalasi, efek euforia akan relatif sama tercapainya dibandingkan dengan pemakaian secara intravena.

Heroin biasanya digunakan dengan cara menguapkan dan kemudian uap dihirup, dengan merokok, atau injeksi secara intravena. Setelah heroin sampai di sirkulasi sistemik, maka heroin sangat cepat menuju otak. Karena sangat cepatnya timbulnya efek pada pemakaian intravenus, maka rute pemakaian ini sangat digemari oleh para *junkis*. Namun pemakain ini sangat berisiko ketimbang pemakaian secara inhalasi atau merokok, karena sering ditemui muncul penyakit bawaan lain pada pemakaian injeksi, seperti infeksi HIV, hepatitis (Wirasuta, 2006).

Pada paparan melalui oral bentuk farmasetik (tablet, kapsul, dll) akan terdispersi dan melarut di dalam cairan saluran pencernaan. Bentuk terlarut melalui pembuluh kapiler pada saluran pencernaan akan terabsorpsi. Absorpsi ini sebageian besar berlangsung di pembuluh kapiler usus halus, kemudian melalui pembuluh kapiler mesenterika menuju vena porta hepatica menuju hati sebelum ke sirkulasi sistemik, dari sini akan terdistribusi ke seluruh tubuh.

2. Distribusi

Setelah xenobiotik mencapai sistem peredaran darah, bersama darah akan terdistribusi ke seluruh tubuh. Weiss (1990) membagi distribusi ke dalam konveksi (transport xenobiotik bersama peredaran darah) dan difusi (difusi xenobiotik di dalam sel atau jaringan). Transport xenobiotik intra dan inter organ di dalam tubuh diprasaranai oleh sistem peredaran darah. Difusi berperan penting dalam transport suatu xenobiotik diantara ekstra dan intra selular. Difusi xenobiotik melalui membran biologi dapat berlangsung melalui berbagai proses difusi, seperti: difusi pasif, difusi aktif (melalui sistem transport tertentu, "carrier", melalui pinocytosis, atau fagositosis) atau melalui poren. Laju difusi suatu xenobiotik sangat ditentukan oleh sifat fisikokimianya (lipofilik, ukuran molekul, derajat ionisasi, ikatan dengan protein plasma).

Sirkulasi sistemik sangat memegang peranan penting dalam transport xenobiotika antar organ dan jaringan di dalam tubuh. Sehingga laju peredaran darah di dalam organ atau jaringan juga akan menentukan kecepatan distribusi xenobiotika di dalam tubuh.

Organ tubuh seperti ginjal, hati, otak, paru-paru, jantung, lambung dan usus, adalah organ-organ yang memiliki laju aliran darah (perfusi) yang baik. Karena laju aliran darah dalam organ-organ ini sangat baik, maka xenobiotika akan sangat cepat terdistribusi homogen di dalam organ tersebut, jika dibandingkan pada organ-organ yang memiliki laju aliran darah relatif lambat.

Pada pemodelan farmakokinetik, tubuh dibagi menjadi berbagai ruang difusi (kompartemen). Pembagian ruang ini hanya didasarkan pada laju distribusi xenobiotika. Perlu ditegaskan di sini bahwa, pembagaian kompartimen ini hanya merupakan langkah abstraksi guna mempermudah pemahaman ruang distribusi (difusi) xenobiotika di dalam tubuh. Model yang paling sederhana untuk memahami jalu difusi xenobiotika di dalam tubuh adalah model kompartimen tunggal. Pada model ini tubuh dipandang seperti satu ember besar, dimana difusi xenobiotika hanya ditentukan oleh daya konveksi di dalam ember. Namun pada kenyataannya, agar xenobitika dapat ditransportasi dari saluran kapiler pembuluh darah menuju sel-sel pada jaringan tubuh, haruslah melewati membran biologis, yaitu membran yang menyelimuti sel-sel di dalam tubuh.

Laju penetrasi xenobiotika melewati membran biologis akan ditentukan oleh struktur membran basal dan juga sifat lipofilitasnya. Senyawa-senyawa lipofil akan dapat menembus membran biologis dengan baik, sedangkan senyawa yang polar (larut air) haruslah melewati lubang- lubang di membran biologis, yang dikenal dengan “poren”. Jumlah poren dalam membran biologis adalah terbatas, oleh sebab itu dapatlah dimengerti, bahwa senyawa lipofil akan terdistribusi lebih cepat dibandingkan senyawa hidrofil. Difusi xenobiotika melalui membran biologis dapat berlangsung melalui berbagai proses, seperti: difusi pasif, difusi aktif, melalui poren dan juga melalui jembatan intraseluler.

Ketika xenobiotika mencapai pembuluh darah, maka bersama darah melalui sirkulasi sistemik siap untuk didistribusikan ke reseptor dan ke seluruh tubuh. Untuk memudahkan memahami sejauh mana suatu xenobiotika terdistribusi di dalam tubuh, para ilmuwan farmakokinetik mengumpamakan bahwa xenobitika di dalam tubuh akan terdistribusi di dalam suatu ruang, yang memiliki sejumlah volume tertentu. Jadi kemampuan suatu xenobiotika untuk terdistribusi di dalam tubuh dinyatakan sebagian parameter yang disebut dengan **volume distribusi**.

Faktor yang mempengaruhi Distribusi

Terdapat banyak faktor yang dapat mempengaruhi proses distribusi dari suatu xenobiotika, dimana faktor-faktor tersebut dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu (Wirasuta, 2006):

- 1) faktor biologis, meliputi laju aliran darah dari organ dan jaringan, sifat membran biologis dan perbedaan pH antara plasma dan jaringan
- 2) faktor sifat molekul xenobiotika, meliputi ukuran molekul, ikatan antara protein plasma dan protein jaringan, kelarutan dan sifat kimia

Senyawa yang larut lemak akan lebih mudah terdistribusi ke seluruh jaringan tubuh, sehingga pada umumnya senyawa lipofil akan mempunyai volume distribusi yang jauh lebih besar daripada senyawa yang hidrofil. Tetra-hidro-cannabinol (THC) (zat halusinogen dari tanaman ganja) adalah sangat larut lemak.

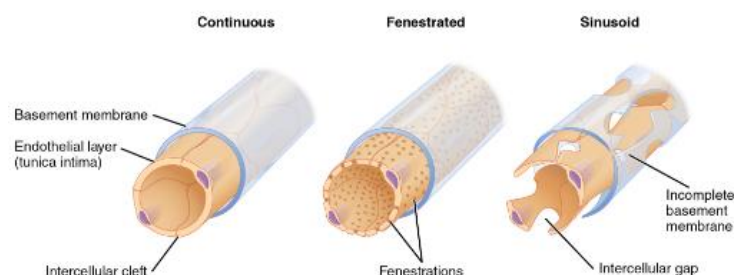
a) Laju aliran darah di organ dan jaringan

Sirkulasi sistemik sangat memegang peranan penting dalam transpor xenobiotika antar organ dan jaringan di dalam tubuh. Sebelum mencapai kesetimbangan distribusi, distribusi sebagian besar ditentukan oleh pasokan darah dari organ dan jaringan. Organ tubuh seperti ginjal, hati, otak, paru-paru, jantung, lambung dan usus, adalah organ-organ yang memiliki laju aliran darah (perfusi) yang baik. Akibat aliran darah yang cepat dan dengan demikian jangka waktu kontak yang sangat singkat dalam kapiler (sekitar 2 detik) maka mula-mula xenobiotika akan terdistribusi dengan cepat pada organ atau jaringan dengan perfusi yang baik. Ini berarti organ atau jaringan yang mempunyai banyak kapiler darah pada awal

b) Sifat membran biologis

Difusi berperan penting dalam transpor suatu xenobiotika diantara ekstra dan intra selular. Xenobiotika agar dapat ditransportasi dari saluran kapiler pembuluh darah menuju sel-sel pada jaringan tubuh, haruslah melewati membran biologis, yaitu membran yang menyeliputi sel-sel di dalam tubuh. Secara keseluruhan luas permukaan kapiler tubuh (orang dewasa) diperkirakan berkisar antara 6000-8000 m², dengan panjang keseluruhan diduga sekitar 95000 km. Di bagian luar kapiler-endotel ini diselubungi oleh membran basal yang sangat halus dan elastis. Struktur membran basal (Gambar 2.6) dapat dibedakan menjadi:

- (1) kapiler yang sangat tertutup (contoh: barrier/sawar darah otak = *blood brain barrier*)
- (2) kapiler yang berjendela (*fenestrata*), pada jendela ini terjadi pertukaran cairan yang sangat intensif, jarak jendela dalam kapiler ini adalah tidak beraturan (contoh: tubulus ginjal),
- (3) kapiler yang terbuka, tidak terdapat hubungan antar sel-sel endotel, sehingga pada kapiler ini terdapat lubang-lubang yang besar, yang dapat dilewati oleh plasma darah (contoh: hati)

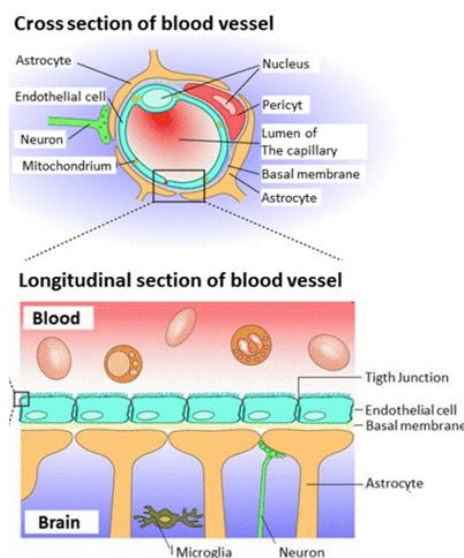


Gambar 2.7. Jenis-jenis pembuluh darah kapiler

Sumber: <https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/20-1-structure-and-function-of-blood-vessels/>

Laju penetrasi xenobiotika melewati membran biologis ditentukan oleh struktur membran basal dan juga sifat lipofilitasnya. Senyawa-senyawa lipofil akan dapat menembus membran biologis dengan baik, sedangkan senyawa yang polar (larut air) haruslah melewati lubang-lubang pada membran biologis, yang dikenal dengan “poren”. Jumlah poren dalam membran biologis adalah terbatas, oleh sebab itu dapatlah dimengerti, bahwa senyawa lipofil akan terdistribusi lebih cepat dibandingkan senyawa hidrofil.

Kapiler khusus yang memasok darah ke otak memiliki selaput yang terdiri dari sel endotel yang rapat yang diistilahkan dengan sawar darah otak (*blood brain barrier= BBB*) dan hanya senyawa lipofilik yang dapat menyebar di dinding sel, atau molekul yang merupakan substrat untuk sistem transportasi aktif yang ada, untuk mentransfer bahan endogen ke dalam otak, biasanya bisa masuk SSP (Gambar 2.7).



Gambar 2.8 Sawar darah otak (*blood brain barrier=BBB*)

Sumber: <https://www.emf.ethz.ch/en/knowledge/topics/health/blood-brain-barrier/>

c) Ikatan protein

Faktor lain yang berpengaruh pada distribusi ialah ikatan pada protein terutama protein plasma, protein jaringan dan sel darah merah. Ikatan xenobiotika pada protein umumnya relatif tidak khas. Sesuai dengan struktur kimia protein, ikatan xenobiotika pada protein terlibat ikatan ion, ikatan jembatan hidrogen dan ikatan dipol-dipol serta interaksi hidrofob. Beragamnya kemungkinan ikatan yang terlibat memungkinkan berbagai xenobiotika yang dapat terikat pada protein, oleh sebab itu ikatan xenobiotika pada protein dikatakan tidak khas. Ikatan protein adalah bolak-balik “*reversibel*”. Ikatan tak bolak-balik “*irreversibel*” (misal ikatan kovalen), misal ikatan reaksi sitostatika yang mengkilasi protein, tidak termasuk ke dalam ikatan protein.

Albumin adalah protein plasma yang paling banyak terlibat pada pembentukan ikatan pada protein plasma. Xenobiotika yang relatif lipofil, sedikit atau sedang kelarutannya dalam air, beredar di dalam plasma terutama terikat pada protein.

Kekuatan ikatan pada protein ditentukan oleh tetapan afinitas xenobiotika pada protein. Sejauh tetapan afinitas ini berbeda terhadap berbagai protein tubuh (protein plasma, protein jaringan, dll), maka akan mempengaruhi kesetimbangan distribusi dari xenobiotika tersebut. Umumnya xenobiotika akan terikat lebih kuat pada protein dengan tetapan afinitas yang lebih besar, sehingga kesetimbangan akan bergeser ke protein dengan tetapan afinitas yang lebih besar. Sebagai ilustrasi, apabila suatu xenobiotika mempunyai tetapan afinitas yang besar dengan protein plasma dibandingkan dengan protein jaringan, maka xenobiotika tersebut akan lebih banyak berada dalam cairan plasma dibandingkan di jaringan. Sebagai contoh, karbonmonoksida terikat hampir seluruhnya pada hemoglobin dan mioglobin oleh karena afinitas yang tinggi terhadap heme, sehingga pola distribusi dari karbonmonoksida sesuai dengan protein-protein tersebut. Beberapa turunan akridin terakumulasi dalam struktur jaringan basofil, terutama ke dalam inti sel. Arsen trioksida mempunyai afinitas yang tinggi terhadap jaringan yang menandung keratin (kulit, kuku dan rambut), karena banyak mempunyai gugus sulfhidril (-SH).

Ikatan protein berpengaruh juga pada intensitas kerja, lama kerja toksik dan eliminasi xenobiotika dari dalam tubuh. Umumnya xenobiotika yang terikat pada protein akan susah melewati membran sel, sehingga xenobiotika tersebut akan sulit dieliminasi (biotransformasi dan ekskresi) karena xenobiotika yang terikat tidak mampu menuju tempat metabolisme (umumnya di dalam sel hati) atau tidak dapat melewati filtrasi glomerulus di ginjal. Xenobiotika tersebut akan berada di dalam cairan plasma dalam waktu yang lebih lama. Hal ini akan berpengaruh pada lama kerja toksiknya (Wirasuta, 2006).

Jumlah xenobiotika yang terikat pada protein juga ditentukan oleh konsentrasi protein plasma. Seperti pada kelainan hati atau ginjal sering ditemukan terjadi penurunan kadar protein plasma, akibat penurunan sintesa protein. Pemakaian dosis yang sama, pada penderita hati atau ginjal, akan meningkatkan konsentrasi obat bebas di dalam darah, sehingga dengan sendirinya akan meningkatkan potensi toksik. Karena ketidak khasan ikatan xenobiotika pada protein, sering dijumpai kompetisi tempat ikatan baik antar xenobiotika maupun dengan senyawa endogen. Seperti pada bayi prematur apabila ditangani dengan kemoterapi tertentu, misal sulfonamida, muncullah situasi kompetisi antara obat dan bilirubin, yang akan mengakibatkan *ikterus neonatorum*. Penelitian menyatakan bahwa terjadi kematian yang tinggi pada bayi prematur yang ditangani dengan senyawa sulfonamida (umpamanya sulfisosazol). Disamping itu presentase

kernikterus di dalam kelompok ini mencolok tinggi sebagai akibat akumulasi bilirubin di dalam sel otak.

Disamping faktor di atas ikatan pada protein juga dipengaruhi oleh faktor lain, seperti sifat fisikokimia xenobiotika, pH cairan plasma, dan umur. Sebagai contoh pada pH plasma bersifat sangat asam (asidosis) bagian barbiturat yang terikat pada protein menurun. Pada bayi yang baru lahir mempunyai kemampuan ikatan protein yang lebih rendah daripada ikatan protein pada manusia dewasa. Faktor besar molekul, kelarutan, dan sifat kimia lainnya juga berpengaruh pada laju transpor melintasi suatu membran (Wirasuta, 2006).

3. Eliminasi

Metabolisme dan ekskresi dapat dirangkum ke dalam eliminasi, yaitu proses hilangnya xenobiotika dari dalam tubuh organisme. Eliminasi suatu xenobiotika dapat melalui reaksi biotransformasi (metabolisme) atau ekskresi xenobiotika melalui ginjal, empedu, saluran pencernaan, dan jalur ekskresi lainnya (kelenjar keringat, kelenjar mammae, kelenjar ludah, dan paru-paru). Jalur eliminasi yang paling penting adalah eliminasi melalui hati (reaksi metabolisme) dan ekskresi melalui ginjal (Wirasuta, 2006).

a. Biotransformasi

Xenobiotika yang masuk ke dalam tubuh akan diperlakukan oleh sistem enzim tubuh, sehingga senyawa tersebut akan mengalami perubahan struktur kimia dan pada akhirnya dapat diekskresi dari dalam tubuh. Proses biokimia yang dialami oleh xenobiotika dikenal dengan reaksi biotransformasi yang juga dikenal dengan reaksi metabolisme. Biotransformasi atau metabolisme pada umumnya berlangsung di hati dan sebagian kecil di organ-organ lain seperti: ginjal, paru-paru, saluran pencernaan, kelenjar mammae, otot, kulit atau di dalam darah.

Secara umum proses biotransformasi dapat dibagi menjadi dua fase, yaitu fase I (reaksi fungsionalisasi) dan fase II (reaksi konjugasi). Dalam fase pertama ini xenobiotik akan mengalami pemasukan gugus fungsi baru, pengubahan gugus fungsi yang ada atau reaksi penguraian melalui reaksi oksidasi (dehalogenasi, dealkilasi, deaminasi, desulfurisasi, pembentukan oksida, hidroksilasi, oksidasi alkohol dan oksidasi aldehida); reaksi reduksi (reduksi azo, reduksi nitro reduksi aldehid atau keton) dan hidrolisis (hidrolisis dari ester amida). Pada fase II ini xenobiotik yang telah siap atau termetabolisme melalui fase I akan terkopel (membentuk konjugat) atau melalui proses sintesis dengan senyawa endogen tubuh, seperti: Konjugasi dengan asam glukuronida asam amino, asam sulfat, metilasi, alkilasi, dan pembentukan asam merkaptofurat. Enzim-enzim yang terlibat dalam biotransformasi pada umumnya tidak spesifik terhadap substrat. Enzim ini (seperti monooksigenase, glukuronidase)

umumnya terikat pada membran dari retikulum endoplasmik dan sebagian terlokalisasi juga pada mitokondria, disamping itu ada bentuk terikat sebagai enzim terlarut (seperti esterase, amidase, sulfoterase). Sistem enzim yang terlibat pada reaksi fase I umumnya terdapat di dalam retikulum endoplasmik halus, sedangkan sistem enzim yang terlibat pada reaksi fase II sebagian besar ditemukan di sitosol. Disamping memetabolisme xenobiotika, sistem enzim ini juga terlibat dalam reaksi biotransformasi senyawa endogen (seperti: hormon steroid, bilirubin, asam urat, dll). Selain organ-organ tubuh, bakteri flora usus juga dapat melakukan reaksi metabolisme, khususnya reaksi reduksi dan hidrolisis (Wirasuta, 2006). Tidak bisa dihindari, bahwa setiap harinya manusia akan terpapar oleh berbagai xenobiotika, baik secara sengaja maupun tidak disengaja untuk tujuan tertentu. Beberapa xenobiotika tidak menimbulkan bahaya tetapi sebagian besar lagi dapat menimbulkan respon-respon biologis, baik yang menguntungkan atau merugikan bagi organisme tersebut. Respon biologis tersebut seringkali bergantung pada perubahan kimia yang dialami oleh xenobiotika di dalam tubuh organisme. Perubahan biokimia yang terjadi dapat mengakhiri respon biologis atau mungkin terjadi pengaktifan.

Pada umumnya reaksi biotransformasi merubah xenobiotika lipofil menjadi senyawa yang lebih polar sehingga akan lebih mudah diekskresi dari dalam tubuh organisme. Karena sel pada umumnya lebih lipofil dari pada lingkungannya, maka senyawa-senyawa lipofil akan cenderung terakumulasi di dalam sel. Bioakumulasi xenobiotika di dalam sel pada tingkat yang lebih tinggi yang dapat mengakibatkan keracunan sel (sitotoksik), namun melalui reaksi biotransformasi terjadi penurunan kepolaran xenobiotika sehingga akan lebih mudah diekskresi dari dalam sel, oleh sebab itu keracunan sel akan dapat dihindari.

Hampir semua senyawa aktif biologis adalah senyawa organik yang bersifat lipofil, yang umumnya sulit diekskresi melalui ginjal, jika tanpa mengalami perubahan biokimia di dalam tubuh. Senyawa-senyawa lipofil setelah terfiltrasi glomerulus umumnya akan dapat direabsorpsi melalui tubuli ginjal menuju sistem peredaran darah. Ekskresi senyawa ini akan berlangsung sangat lambat. Jika senyawa tersebut tidak mengalami perubahan kimia, kemungkinan akan menimbulkan bahaya yang sangat serius. Senyawa lipofil ini akan tinggal dalam waktu yang cukup lama di dalam tubuh, yaitu terdeplesi di jaringan lemak.

Pada prinsipnya senyawa yang hidrofil akan dengan mudah terekskresi melalui ginjal. Ekskresi ini adalah jalur utama eliminasi xenobiotika dari dalam tubuh, oleh sebab itu oleh tubuh sebagian besar senyawa-senyawa lipofil terlebih dahulu dirubah menjadi senyawa yang lebih bersifat hidrofil, agar dapat dibuang dari dalam tubuh.

Pada awalnya toksikolog berharap melalui berbagai proses reaksi biokimia tubuh akan terjadi penurunan atau pengilangan toksisitas suatu toksikan, sehingga pada awalnya reaksi biokimia ini diistilahkan dengan reaksi "detoksifikasi".

Kebanyakan toksikolog lebih mencurahkan perhatiannya kepada: bagaimana dan berapa banyak sistem enzim yang terlibat pada proses detoksifikasi dan metabolisme dari suatu "endotoksik". Endotoksik merupakan senyawa toksik hasil samping dari proses biokimia normal tubuh dalam mempertahankan kelangsungan hidup. Sebagai contoh beberapa enzim oksidatif yang terlibat reaksi oksigenase selama metabolisme aerob pada detoksifikasi suatu xenobiotik dapat mengakibatkan depresi oksidatif dan kerusakan pada jaringan. Seorang toksikolog seharusnya memiliki pengetahuan dasar dari suatu proses detoksifikasi guna memahami, memperkirakan, dan menentukan potensial toksisitas dari suatu senyawa.

Pada umumnya proses reaksi detoksifikasi atau metabolisme akan mengakhiri efek farmakologi dari xenobiotika (detoksifikasi atau inaktivasi). Namun pada kenyataannya terdapat beberapa xenobiotika, justru setelah mengalami reaksi metabolisme terjadi peningkatan aktivitasnya (bioaktivasi), seperti bromobenzen melalui oksidasi membentuk bromobenzen epoksid. Bromobenzen epoksid akan terikat secara kovalen pada makromolekul jaringan hati dan mengakibatkan nekrosis hati. Oleh sebab itu dalam hal ini istilah detoksifikasi kurang tepat digunakan. Para ahli menyatakan lebih tepat menggunakan istilah biotransformasi untuk menggambarkan reaksi biokimia yang dialami oleh xenobiotika di dalam tubuh.

Biotransformasi berlangsung dalam dua tahap, yaitu reaksi fase I dan fase II. Reaksi-reaksi pada fase I biasanya mengubah molekul xenobiotika menjadi metabolit yang lebih polar dengan menambahkan atau memfungsikan suatu kelompok fungsional (-OH, -NH₂, -SH, -COOH), melibatkan reaksi oksidasi, reduksi dan hidrolisis. Kalau metabolit fase I cukup terpolarkan, maka ia kemungkinannya akan mudah diekskresi. Namun, banyak produk reaksi fase I tidak segera dieliminasi dan mengalami reaksi berikutnya dengan suatu substrat endogen, seperti: asam glukuronida, asam sulfat, asam asetat, atau asam amino ditempelkan pada gugus polar tadi. Oleh sebab itu reaksi fase II disebut juga reaksi pengkopelan atau reaksi konjugasi (Flanagan, 2007).

Sistem enzim yang terlibat pada reaksi fase I umumnya terdapat di dalam retikulum endoplasmik halus, sedangkan sistem enzim yang terlibat pada reaksi fase II sebagian besar ditemukan di sitosol. Disamping memetabolisme xenobiotika, sistem enzim ini juga terlibat dalam reaksi biotransformasi senyawa endogen (seperti: hormon steroid, bilirubin, asam urat, dll). Selain organ-organ tubuh, bakteri flora usus juga dapat melakukan reaksi metabolisme, khususnya reaksi reduksi dan hidrolisis.

1) Reaksi Fase I

Reaksi fase I ini juga disebut dengan reaksi fungsionalisasi, sebab melalui reaksi fase ini (oksidasi, reduksi atau hidrolisis) menghasilkan suatu gugus fungsi, yang selanjutnya pada fase ke II akan terkonjugasi

a) Oksidasi biologis

(1) Sistem Monooksigenase yang tergantung pada Sitokrom P450

Sistem monooksigenase yang tergantung pada sitokrom P450 adalah inti dari metabolisme dari kebanyakan xenobiotika. Reaksi monooksigenase ini mempunyai peranan penting dalam reaksi biotransformasi, karena sistem ini tidak hanya merupakan sistem enzim dasar "primer" dalam metabolisme bagi berbagai xenobiotika, tetapi juga sebagai langkah fungsionalisasi awal bagi reaksi metabolisme selanjutnya. Sistem ini dikenal juga dengan nama lainnya seperti:

- oksidasi fungsi-campur (*mixed function oxidation*=MFO)
- sistem sitokrom P450 (*cytochrome-P450*=CYP-450)
- sistem monooksigenase yang bergantung pada sitokrom P450

Sekarang ini lebih banyak digunakan sistem monooksigenase yaitu untuk menggambarkan bahwa sistem memasukkan satu atom oksigen ke dalam molekul xenobiotika "substrat".

(a) Reaksi oksidasi

Reaksi oksidasi mempunyai peranan penting pada biotransformasi, khususnya reaksi-reaksi yang melibatkan sistem enzim oksidase, monooksigenase dan dioksigenase. Oksidase mengoksidasi melalui masuknya oksigen (elektron). Melalui mono-oksigenase akan dimasukkan satu atom oksigen ke dalam xenobiotika dan molekul oksigen yang lainnya akan direduksi menjadi air. Berbeda dengan dioksigenase, kedua atom oksigen akan dimasukkan ke dalam xenobiotika. Sistem enzim yang mengkatalisis reaksi oksidase ini memerlukan sistem sitokrom P-450 dan NADPH-sitokrom P-450 reduktase, NADPH dan molekul oksigen.

Oksidasi pada sitokrom P-450 sangat memegang peranan penting dalam biotransformasi xenobiotika. Sitokrom P-450 adalah hemoprotein dengan suatu ciri khas puncak absorpsi dari bentuk tereduksi CO-kompleknya pada panjang gelombang 450 nm. Enzim sitokrom P-450 terletak dalam retikulum endoplasmik dari beberapa jaringan. Sistem enzim yang mengkatalisis reaksi ini dikenal dengan mikrosomal oksidasi fungsi campur (MFO).

Substrat xenobiotika bereaksi dengan bentuk teroksidasi CYP-450Fe^{3+} membentuk kompleks enzim-substrat. Sitokrom P-450 reduktase mendapatkan satu elektron dari NADPH, yang akan mereduksi kompleks dari CYP-450Fe^{3+} — xenobiotika. Bentuk reduksi dari kompleks CYP-450Fe^{2+} —xenobiotika bereaksi dengan molekul oksigen dan kemudian mendapatkan elektron yang ke dua dari NADPH, yang diperoleh dari flavoprotein reduktase yang sama, membentuk spesies oksigen teraktivasi. Langkah terakhir satu atom oksigen terlepas sebagai H_2O dan atom oksigen yang lain ditransfer ke dalam substrat dan bentuk teroksidasi CYP-450-Fe^{3+} terregenerasi.

Sistem enzim CYP-450 monooksigenase mengkatalisis reaksi seperti berikut:

(I: inaktivasi efek toksik, A: aktivasi efek toksik) :

- i. **Hidroksilasi dari rantai karbon dan alkil:**
contoh:
I : Butan → Butanol
Etilbenzol → Fentilbenzol
Tetrahidrokanabinol (THC) → 11-OH-THC
A: Hexan → 2,6-Hexandiol (→ Hexandion)
- ii. **Hidroksilasi dari aromatik menjadi fenol**
I: Fenitoin → Hidroksifenitoin
- iii. **Hidroksilasi alkilamin**
I: Imipramin → Desimipramin
Diazepam → Nordiazepam
Lidokain → Monoetilglisinsilidid
Cocain → Norcocain
A: Dimetilnitroamin → Metilnitrosoamin
- iv. **Hidroksilasi dari alkileter, alkiltiol**
I : Papaverin → O-Desmetilpapaverin
A : kodein → morfin
- v. **Epoksidasi dari alifatis atau aromatis rantai ganda**
I : Karbamazepin → Karbamazepinepoksid
A: Trikloretilen → [Trikloretilenepoksid]
Benzo(a)piren-7,8-dihidridiol → Bezo(a)piren-7,8-dihidrodiol-9,10-epoksid
- vi. **Deaminasi Oksidatif**
I : Amfetamin → fenilaseton
- vii. **Desulfurasi Oksidatif**
A: Paration → Paraokson
- viii. **Dehalogenasi**
I: Benzilklorid → Benzaldehid
Lindan → Triklorfenol
- ix. **S-oksidatif membentuk sulfoksida dan sulfonat**
I : Fenotiasin → Solfoksid → Sulfon
A: Temefos → Temefos-S-oksida
- x. **N-oksidatif membentuk N-oksida atau Hidroksil-amin**
I : Amitriptilin → Amitriptilin-N-oksida
A: Naftilamin → Naftilaminhidroksilamin

(2) Flavinmonooksigenase

Disamping oksidatif yang dikatalisis oleh CYP-450 terdapat juga reaksi oksidatif yang tidak tergantung pada CYP-450, yaitu sistem enzim flavonmonooksigenase. Sistem enzim ini merubah amin sekunder menjadi hidroksilamin dan amin tersier menjadi N-oksida.

(3) Sistem enzim oksidatif lainnya

Sistem enzim oksidatif selain dua sistem di atas adalah:

- (a) Alkoholdehidrogenase, khususnya mendehidrasi etanol menjadi aldehid.
- (b) Aldehid oksidase, merubah aldehid menjadi asam karboksilat
- (c) Monoaminoksidase, mengoksidasi amin-biogen (seperti: Catekolamin)

(b) Reduksi

Dibandingkan dengan reaksi oksidasi, reaksi reduksi mempunyai peran minor dalam biotransformasi. Gugus karbonil melalui alkoholdehidrogenase atau sitoplasmik aldo-keto-reduktase direduksi menjadi alkohol. Pemutusan ikatan azo menjadi amin primer melalui pembentukan hidrazo melibatkan banyak enzim-enzim, diantaranya: NADPH-CYP-450-reduktase. Reduktif dehalogenasi sangat berperan penting dalam detoksifikasi dari senyawa-senyawa alifatik halogen (Cl, Br dan I), seperti: senyawa karbon tetraklorida atau halotan.

(c) Biohidrolisis

Banyak xenobiotika yang mengandung ikatan jenis ester dapat dihidrolisis, diantaranya ester, amid dan fosfat. Ester atau amida dihidrolisis oleh enzim yang sama, namun pemutusan ester jauh lebih cepat dari pada amida. Enzim-enzim ini berada di intra- dan juga ekstraselular, baik dalam keadaan terikat dengan mikrosomal maupun terlarut.

Enzim hidrolitik terdapat juga di saluran pencernaan. Enzim-enzim ini akan menghidrolisis metabolit fase II (bentuk konjugat menjadi bentuk bebasnya). Selanjutnya bentuk bebas ini dapat kembali terabsorpsi menuju sistem peredaran darah. Proses ini dikenal dengan siklus entero-hepatik.

2) Reaksi fase II

Reaksi fase II melibatkan beberapa jenis metabolit endogen yang mungkin membentuk konjugat dengan xenobiotika atau metabolitnya. Pembentukan konjugat memerlukan adanya pusat-pusat reaktif dari substrat, biasanya gugus -OH, -NH₂ dan -COOH. Reaksi-reaksi penting pada fase II adalah konjugasi dengan:

- a) asam glukuronat,
- b) sulfat,
- c) asam amino (khususnya glisin),
- d) oligopeptida dan ikatan dengan turunan asam merkapturat,
- e) asam asetat
- f) metilasi

Hasil reaksi konjugasi bersifat sangat polar, sehingga sangat cepat tereksresi melalui ginjal bersama urin dan atau melalui empedu menuju saluran cerna. Pada umumnya melalui reaksi fase II, xenobiotika atau metabolit fase I mengalami deaktivasi. Namun belakangan ini telah dilaporkan beberapa metabolit fase II justru mengalami aktivasi, seperti morfin-6-glukuronida mempunyai aktivitas antianalgesik yang lebih poten dari pada morfin.

a) Glukuronidasi

Glukuronidasi adalah jenis konjugasi yang paling umum dan penting. Glukuronidasi dari gugus alkohol atau fenol adalah reaksi konjugasi yang paling sering pada reaksi fase II, disamping itu juga asam-asam karboksilat, senyawa sulfidril dan senyawa amin.

b) Konjugasi Sulfat

Reaksi ini dikatalisis oleh sulfotransferase, yang diketemukan dalam fraksi sitosolik jaringan hati, ginjal dan usus. Koenzimnya adalah PAPS (3'- fosfoadenosin-5'-fosfosulfat). Konjugasi ini adalah untuk gugus fungsional: fenol, alkohol alifatik dan amin aromatik. Konjugasi sulfat biasanya sebagian besar terhadap senyawa-senyawa endogen dan relatif jarang dengan xenobiotika.

c) Konjugasi dengan Asam amino (glisin)

Konjugasi ini dikatalisis oleh konjugat asam amino dan koenzim-A. Asam karboksilat, asam arilasetat dan asam akrilat yang mengalami substitusi aril dapat membentuk konjugat dengan asam amino, terutama glisin.

d) Ikatan dengan turunan asam merkaptofurat (konjugasi glutathione)

Reaksi konjugasi ini berlangsung dalam beberapa tingkat, sebagian berlangsung secara spontan dan juga dikatalisis oleh glutathione-S-transferase. Pada awalnya terbentuk konjugat glutathione-substrat kemudian mengalami pemecahan enzimatis dari kedua asam amino. Melalui asetilasi dari sistein membentuk produk akhir berupa turunan N-asetilsistein (asam merkaptofurat) yang mudah diekskresi. Glutathione dapat berkonjugasi dengan epoksid yang terbentuk akibat oksidasi dari halogen aromatik. Epoksida ini bersifat sangat elektrofilik yang sangat reaktif. Metabolit ini dapat bereaksi dengan unsur-unsur sel dan menyebabkan kematian sel atau pembentukan tumor. Konjugasi glutathione akan berikatan dengan metabolit elektrofilik, dengan demikian akan mencegah metabolit ini berikatan dengan sel. Dengan demikian konjugasi glutathione sangat berperanan penting dalam pencegahan pembentukan tumor (sel kanker). Selain itu glutathione dapat berkonjugasi dengan senyawa alifatik tak jenuh dan menggantikan gugus nitro dalam suatu senyawa kimia.

e) Asetilasi

Xenobiotika yang memiliki gugus amin aromatik, yang tidak dapat dimetabolisme secara oksidatif, biasanya akan diasetilasi dengan bantuan enzim N-asetil transferase dan

asetil koenzim A. Asetilasi merupakan transfer gugus asetil ke amin aromatik primer, hidrazin, hidrazid, sulfoamid dan gugus amin alifatik primer tertentu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat dua kelompok isoenzim N-asetil transferase (NAT1 dan NAT2). Genotip isoenzim NAT2 memiliki sifat polimorfisme, sehingga mengakibatkan perbedaan laju asetilasi (asetilasi cepat dan lambat). Hal ini dapat memberikan makna toksikologis penting pada populasi tertentu terhadap laju eliminasi dari substratnya, seperti: isoniazid, hidralazin, atau prokainamid.

f) Metilasi

Di dalam biotransformasi, reaksi metilasi relatif sangat jarang, karena UDPGA tersedia lebih luas sehingga lebih mudah terbentuk glukuronid. Reaksi ini dikatalisis oleh metiltransferase. Koenzimnya adalah SAM (S-adenosinmetionin). Contoh N-metilasi (noradrenalin, nicotinamid, metadon) (Manahan, 2003).

Faktor-faktor yang mempengaruhi metabolisme xenobiotika

Genetik, lingkungan dan psikologi adalah faktor-faktor yang dapat mempengaruhi reaksi biotransformasi (metabolisme). Faktor terpenting adalah genetik yang menentukan polimorfisme dalam oksidasi dan konjugasi dari xenobiotika, penggunaan dengan obat-obatan secara bersamaan, paparan polutan atau bahan kimia lain dari lingkungan, kondisi kesehatan dan umur. Faktor-faktor ini diduga bertanggungjawab terhadap penurunan efisiensi biotransformasi, perpanjangan efek farmakologi dan peningkatan toksisitas.

Induksi enzim, banyak xenobiotika dapat meningkatkan sintesa sistem enzim metabolisme (induksi), induksi sistem enzim tertentu dapat meningkatkan laju biotransformasi senyawa tertentu. Contoh xenobiotika yang bersifat induksi enzim adalah fenobarbital. Fenobarbital dapat meningkatkan jumlah CYP450 dan NADPH-sitokrom reduktase.

Inhibisi enzim, penghambatan sistem enzim biotransformasi akan mengakibatkan perpanjangan efek farmakologi dan meningkatnya efek toksik. Inhibisi sistem enzim CYP2D6 oleh quinidin, secara nyata dapat menekan metabolisme spartain, debrisoquin atau kodein.

Faktor Genetik, telah dikenal dari hasil penelitian pengembangan dan penemuan obat baru, bahwa variabilitas genetik berperan penting pada reaksi metabolisme. Perbedaan variabilitas ini dapat disebabkan oleh genotipe dari masing-masing sel, sehingga dapat mengakibatkan kekurangan atau kelebihan suatu sistem enzim. Pada kenyataannya perbedaan aktivitas metabolisme ditentukan oleh fenotipe, yang tergantung pada genotipe dan satuan dari ekspresinya.

Perbedaan fenotipe ini mengantarkan peneliti untuk mengelompokkan individu ke dalam populasi pemetaolit cepat "*extensive metabolizer*" dan pemetaolit lambat "*poor metabolizer*". Dalam berbagai kasus penekanan metabolisme melalui pengontrolan laju polimorfisasi dari enzim dapat mengakibatkan meningkatnya efek samping (efek toksik) pada pemetaolit lambat.

Sebagai contoh faktor genetik adalah cacat pada system enzim glukose-6-fosfat-dihidrogenase, hal ini diakibatkan oleh kerusakan genetik dari X- kromosomal. Contoh lainnya adalah polimorfismus dari sistem enzim CYP2D6 yang lebih dikenal dengan polimorfismus spartain atau debrisoquin, polimorfismus sistem enzim CYP2C19 (polimorfismus mefenitoin dan polimorfismus N-asetil-transferase). Hampir 10% dari orang eropa memiliki gangguan dalam polimorfismus sistem enzim CYP2D6, yang mengakibatkan lambatnya metabolisme dari spartain, debrisoquin, kodein.

Penyakit Hati adalah organ utama yang bertanggungjawab pada reaksi biotransfromasi. Penyakit hepatitis akut atau kronis, sirosis hati dan nekrosis hati secara signifikan dapat menurunkan laju metabolisme xenobiotika. Pada sakit hati terjadi penurunan sintesa sistem enzim dan penurunan laju aliran darah melalui hati. Senyawa yang memiliki *clearance* hati (eliminasi persatuan volume) yang tinggi, penurunan laju aliran darah di hati secara signifikan akan menurunkan laju metabolismenya. Di lain hal senyawa-senyawa dengan *clearance* hati rendah, penurunan laju metabolisme pada kasus ini lebih ditentukan oleh penurunan aktivitas enzim metabolisme.

Umur, pada bayi telah diketahui bahwa sistem enzim biotransformasi belum sempurna terbentuk. Pada bayi yang baru lahir (fetus) sistem enzim-enzim, yang terpenting (seperti: CYP-450, glukoronil-trensferase dan acetil-transferase) belum berkembang dengan sempurna. Pada tahun pertama sistem enzim ini berkembang lebih sempurna, dan pada tahun ke lima fungsi sistem enzim biotransformasi telah mendekati sempurna seperti pada orang dewasa. Namun pada orang lanjut usia terjadi degradasi fungsi organ, hal ini juga mengakibatkan penurunan laju metabolisme.

3) Ekskresi

Setelah diabsorpsi dan didistribusikan di dalam tubuh, xenobiotika/xenobiotik dapat dikeluarkan dengan cepat atau perlahan. Xenobiotika dikeluarkan baik dalam bentuk asalnya maupun sebagai metabolitnya. Jalur ekskresi utama adalah melalui ginjal bersama urin, tetapi hati dan paru-paru juga merupakan alat ekskresi penting bagi xenobiotik tertentu. Disamping itu ada juga jalur ekskresi lain yang kurang penting seperti, kelenjar keringat, kelenjar ludah, dan kelenjar mammae.

Ekskresi urin. Ginjal sangat memegang peranan penting dalam mengekskresi baik senyawa eksogen (xenobiotika) maupun seyawa endogen, yang pada umumnya tidak diperlukan lagi oleh tubuh. Proses utama ekskresi renal dari xenobiotika adalah: filtrasi glumerulus, sekresi aktif tubular, dan resorpsi pasif tubular. Pada filtrasi glumerular, ukuran melekul memegang peranan penting. Molekul-molekul dengan diameter yang lebih besar dari 70 Å atau dengan berat lebih besar dari 50 kilo Dalton (k Da) tidak dapat melewati filtrasi glumerular. Oleh sebab itu hanya senyawa dengan ukuran dan berat lebih kecil akan dapat terekskresi. Xenobiotika

yang terikat dengan protein plasma tentunya tidak dapat terekskresi melalui ginjal. Resorpsi pasif tubular ditentukan oleh gradien konsentrasi xenobiotika antara urin dan plasma di dalam pembuluh tubuli. Berbeda dengan resorpsi tubular, sekresi tubular melibatkan proses transpor aktif. Suatu xenobiotik dapat juga dikeluarkan lewat tubulus ke dalam urin dengan difusi pasif.

Ekskresi empedu. Hati juga merupakan alat tubuh yang penting untuk ekskresi xenobiotika, terutama untuk senyawa-senyawa dengan polaritas yang tinggi (anion dan kation), konjugat yang terikat pada protein plasma, dan senyawa dengan berat molekul lebih besar dari 300. Umumnya, begitu senyawa tersebut terdapat dalam empedu, mereka tidak akan diserap kembali ke dalam darah dan dikeluarkan lewat feses. Namun terdapat pengecualian konjugat glukuronida, dimana konjugat ini oleh mikroflora usus dapat dipecah menjadi bentuk bebasnya dan selanjutnya akan diserap kembali menuju sistem sirkulasi sistemik. Peran pentingnya ekskresi empedu telah ditunjukkan oleh beberapa percobaan, dimana toksisitas dietilstibestrol meningkat 130 kali pada tikus percobaan yang saluran empedunya diikat.

Ekskresi paru-paru. Zat yang pada suhu badan berbentuk gas terutama diekskresikan lewat paru-paru. Cairan yang mudah menguap juga mudah keluar lewat udara ekspirasi. Cairan yang sangat mudah larut lemak seperti kloroform dan halotan mungkin diekskresikan sangat lambat, karena mereka tertimbun dalam jaringan lemak dan karena keterbatasan volume ventilasi. Ekskresi xenobiotika melalui paru-paru terjadi secara difusi sederhana lewat membran sel.

Jalur lain. Jalur ekskresi ini umumnya mempunyai peranan yang sangat kecil dibandingkan jalur utama di atas, jalur-jalur ekskresi ini seperti, ekskresi cairan bersama feses, ekskresi xenobiotik melalui kelenjar mammae (air susu ibu, ASI), keringat, dan air liur. Jalur ekskresi lewat kelenjar mammae menjadi sangat penting ketika kehadiran zat-zat racun dalam ASI akan terbawa oleh ibu kepada bayinya atau dari susu sapi ke manusia. Karena air susu bersifat agak asam, maka senyawa basa akan mencapai kadar yang lebih tinggi dalam susu daripada dalam plasma, dan sebaliknya untuk senyawa yang bersifat asam. Senyawa lipofilik, misalnya DDT dan PCB juga mencapai kadar yang lebih tinggi dalam susu karena kandungan lemaknya dalam susu yang relatif tinggi (Flanan, 2007).

Penimbunan xenobiotik

Sifat dan intensitas efek suatu xenobiotik di dalam tubuh bergantung pada kadar nya di tempat kerjanya. Umumnya konsentrasi xenobiotik di tempat organ sasaran merupakan fungsi kadar xenobiotik di dalam darah (plasma). Namun, sering dijumpai kadar xenobiotik di organ sasaran tidak selalu sama dengan kadarnya dalam darah. Apabila terjadi ikatan yang kuat antara jaringan dengan xenobiotik, maka konsentrasi xenobiotik pada jaringan tersebut umumnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan di darah.

Jaringan lemak merupakan depot penyimpanan bagi senyawa yang larut lemak. DDT adalah salah satu xenobiotik yang bersifat sangat lipofil, dia akan terikat kuat "terdeposisi", sehingga jaringan lemak merupakan depo. Ini berarti konsentrasi di jaringan akan lebih tinggi dari pada di darah, selanjutnya senyawa tersebut akan terlepas secara perlahan-lahan. Penetapan konsentrasi xenobiotik di darah umumnya lebih mudah diukur dibandingkan di jaringan, terutama pada jangka waktu tertentu, oleh sebab itu konsentrasi di darah "plasma" yang sering digunakan dalam penelitian toksokinetik.

Hati dan ginjal memiliki kapasitas lebih tinggi untuk mengikat zat-zat kimia, antara lain karena adanya protein khusus metalotiotenin. Protein ini mengikat logam-logam seperti cadmium dan timbal, sehingga kadarnya akan tinggi pada organ hati dan ginjal.

Tulang merupakan tempat timbunan utama untuk fluorida, timbal dan stronsium. Penimbunan ini terjadi dengan cara penyerapan silang antara toksikan dengan cairan interstisial dan kristal hidroksiapatit dalam mineral tulang. Karena ukuran dan muatan yang sama, ion Fluoride (F^-) dengan mudah menggantikan ion hidroksil (OH^-), dan kalsium digantikan oleh timbal atau stronsium. Zat-zat yang ditimbun ini akan dilepaskan lewat pertukaran ion dan dengan pelarutan kristal tulang lewat aktivitas osteoklastik (Lu, 1995).

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Jelaskan tahapan yang diterjadi pada suatu senyawa toksik jika masuk ke dalam tubuh manusia?
2. Apa yang dimaksud dengan biotransformasi?
3. Apakah pengaruh kelarutan terhadap distribusi xenobiotik? Jelaskan
4. Apakah biotransformasi mengakhiri toksisitas suatu xenobiotik? Jelaskan.
5. Organ apakah yang menjadi jalur utama ekskresi senyawa xenobiotik?

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

6. Toksokinetika meliputi fase eksposisi, absorpsi, dan distribusi xenobiotik dalam tubuh serta factor-faktor yang mempengaruhinya
7. Biotransformasi atau metabolisme xenobiotik serta hasilnya
8. Mekanisme ekskresi senyawa xenobiotik serta organ utama yang terlibat.

Ringkasan

Toksokinetika meliputi adsorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi. Senyawa xenobiotik dapat masuk ke dalam tubuh melalui jalur oral, inhalasi, dermal dan intravena.

Kecepatan absorpsi xenobiotik dipengaruhi oleh factor sifat membran biologis dan aliran kapiler darah tempat kontak serta sifat fisiko kimia dari xenobiotika. Sedangkan distribusi dipengaruhi oleh faktor biologis meliputi laju aliran darah dari organ dan jaringan, sifat membran biologis perbedaan pH antara plasma dan jaringan, dan faktor sifat molekul xenobiotika. Senyawa yang larut lemak akan lebih mudah terdistribusi ke seluruh jaringan tubuh, sehingga pada umumnya senyawa lipofil akan mempunyai volume distribusi yang jauh lebih besar daripada senyawa yang hidrofil. Metabolisme xenobiotik merupakan proses perubahan struktur senyawa yang melibatkan enzim yang pada dasarnya mengubah menjadi senyawa yang lebih polar, proses ini lazim disebut biotransformasi menghasilkan metabolit. Metabolit tersebut kemudian akan diekskresi terutama melalui ginjal, sebagian kecil melalui ekspirasi, keringat, dan feses. Namun demikian, bersamaan dengan proses biotransformasi proses ekskresi sudah terjadi sehingga senyawa yang diekskresi dapat berupa senyawa induknya. Hal inilah yang nantinya mendasari pemahaman pemilihan jenis sampel pada kasus keracunan.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Kelarutan xenobiotik berpengaruh pada toksokinetiknya. Bagaimana akibatnya jika suatu xenibiotik bersifat lipofil?
 - A. Sulit terlarut
 - B. Distribusinya terbatas
 - C. Ekskresinya melalui feces
 - D. Mudah terabsorpsi di otak
 - E. Sulit menembus membrane sel
2. Ikatan protein berpengaruh juga pada intensitas kerja, lama kerja toksik dan eliminasi xenobiotika dari dalam tubuh. Apa akibatnya jika suatu xenobiotik memiliki ikatan protein yang tinggi?
 - A. Sulit dieliminasi
 - B. efeknya lebih cepat
 - C. Intensitas kerjanya tinggi
 - D. intensitas kerjanya lama
 - E. sulit menimbulkan efek
3. Biotransformasi adalah proses perubahan senyawa xenobiotik yang melibatkan enzim, yang bertujuan

- A. Mengubah senyawa menjadi lipofil
 - B. Mengubah senyawa menjadi hidrofil
 - C. Menguraikan senyawa toksik
 - D. Melarutkan senyawa toksik
 - E. Menghilangkan sifat toksik
4. Xenobiotik yang mengalami reaksi biotransformasi dengan konjugasi glukoronat akan menjadi lebih hidrofil. Melalui apakah senyawa ini diekskresi?
- A. ASI
 - B. Urin
 - C. Feces
 - D. Keringat
 - E. Ekspirasi
5. Senyawa arsenik cenderung berikatan dengan gugus sulfhidril. Apakah akibat dari sifat ini?
- A. Dapat melalui ASI
 - B. Terdeposisikan di hepar
 - C. Dapat melalui plasenta
 - D. Terdeposisikan pada keratin
 - E. Diekskresi melalui empedu

Topik 2

Toksodinamika

A. PENGANTAR TOKSODINAMIKA

Farmakodinamika atau toksodinamika membahas tentang bagaimana suatu senyawa xenobiotik mempengaruhi tubuh. Jika senyawa tersebut bersifat toksik, maka fase toksodinamik adalah proses ketika senyawa tersebut mempengaruhi tubuh hingga menimbulkan efek toksik. Efek toksik sangat bervariasi dalam sifat, organ sasaran, maupun gejalanya. Pemahaman tentang toksodinamika ini berguna untuk menilai bahaya suatu racun bagi kesehatan, dan untuk mengembangkan upaya pencegahan dan terapi.

Semua efek toksik terjadi karena interaksi biokimiawi antara toksikan dan atau metabolitnya dengan struktur sasaran yaitu *reseptor* tertentu dalam tubuh. Struktur ini dapat bersifat spesifik dan nonspesifik. Reseptor non spesifik seperti jaringan tubuh yang berkontak langsung dengan bahan korosif. Sedangkan reseptor spesifik misalnya struktur seluler reseptor morfin.

B. MEKANISME KERJA TOKSIK

Mekanisme kerja toksik dan efek toksik adalah hal yang berbeda. Mekanisme kerja toksik adalah meliputi interaksi antara molekul xenobiotik dengan tempat kerja atau reseptor. Organ target dan tempat kerja tidak selalu sama, sebagai contoh: suatu zat kimia toksik yang bekerja pada sel ganglion pada sistem saraf pusat juga dapat menimbulkan efek kejang pada otot seran lintang. Konsentrasi zat toksik menentukan kekuatan efek biologi yang ditimbulkan. Pada umumnya dapat ditemukan konsentrasi zat kimia toksik yang cukup tinggi dalam hepar (hati) dan ren (ginjal) karena pada kedua organ tersebut zat toksik dimetabolisme dan diekskresi.

Sedangkan efek toksik adalah hasil sederetan proses, hingga adanya perubahan fungsional yang disebabkan interaksi bolak-balik (reversible) antara zat asing (xenobiotik) dengan substrat biologi. Pengaruh toksik dapat hilang jika zat asing tersebut dikeluarkan dari dalam plasma.

Mekanisme kerja toksik dikelompokkan sebagai berikut:

1. Interaksi dengan system enzim

Pada kenyataanya kebanyakan proses biokimiawi di dalam tubuh organisme berlangsung melalui perantara enzim atau kebanyakan kerja biologi disebabkan oleh interaksi dengan enzim. Interaksi xenobiotika dengan enzim yang mungkin dapat menghambat atau justru mengaktifkan kerja enzim.

a. Inhibisi (hambatan) enzim tak bolak-balik (*irreversible*)

Contoh klasik interaksi yang tak bolak-balik adalah inhibisi asetilkolinaesterase oleh organofosfat, contohnya paration. Golongan asam fosfat membentuk ikatan kovalen dengan asetilkolinaesterase dan tempat pada tempat umumnya asetilkolina dihidrolisis pada permukaan enzim, artinya pada pusat aktif enzim. Sebagai akibat inhibisi enzim asetilkolinaesterase, asetilkolina yang biasanya cepat dimetabolisme meningkat jumlahnya di sinaps kolinergik, penghubung antara ujung saraf dan sel saraf. Suatu inhibisi enzim ini dapat menimbulkan blokade fungsi saraf.

Eliminasi yang cepat dari asetilkolin yang dibebaskan selama penghantaran impuls saraf adalah penting agar sistem saraf berfungsi normal. Pada setiap impuls, asetilkolina harus dieliminasi sebelum suatu impuls berikutnya dihantarkan. Maka untuk itu diperlukan asetilkolinesterase yang berperan pada membran postsinaptik dan bertugas memutuskan ikatan asetil dan kolinnya.

Senyawa fosfat organik umumnya larut baik dalam lemak, sehingga akan dengan mudah diabsorpsi melalui kulit dan relatif mudah ditranspor melewati sawar darah otak menuju reseptornya di otak. Akibatnya ialah muncul gangguan sistem saraf pusat dan perifer. Sampai batas tertentu, kerja blokade fungsi saraf ini dapat dilawan oleh antagonis asetilkolin dengan nitrogen tersier, misalnya atropina, yang juga bekerja pada sistem saraf pusat.

b. Inhibisi enzim secara reversibel

Senyawa yang disebut antimetabolit umumnya menyebabkan inhibisi enzim secara bolak-balik. Senyawa ini secara kimia mirip dengan substrat normal enzim, sehingga dapat berikatan dengan enzim meskipun bukan pada tempat ikatan yang sebenarnya. Untuk berikatan dengan pusat enzim terjadi persaingan (kompetisi) antara antimetabolit dengan substrat normal. Suatu contoh yang baik dikenal sebagai zat penghambat enzim adalah antagonis asam folat (contohnya metotreksat), yang digunakan sebagai sitostatika pada pengobatan penyakit kanker. Anti metabolit asam folat menghambat sistem enzim yang penting untuk sintesis asam amino dan turunan purin serta pirimidin. Perbanyakkan sel dihambat melalui kerja ini.

c. Pemutusan reaksi biokimia

Pada proses oksidasi secara biokimia, energi yang dibebaskan umumnya disimpan dalam bentuk fosfat berenergi tinggi, salah satu contohnya ialah ATP (adenosintrifosfat). Energi yang tersimpan dalam senyawa ini selanjutnya dapat digunakan untuk semua proses biokimia yang memerlukan energi, contohnya untuk berbagai proses sintesis atau proses kimia- mekanik pada kontraksi otot.

Pada oksidasi asam asetat dalam siklus sitrat dan pada rantai pernapasan, digunakan energi yang dibebaskan untuk mengubah fosfat anorganik menjadi fosfat organik berenergi tinggi. Xenobiotika yang sesuai untuk reaksi pemutusan dan mengganggu

sintesis asam fosfat berenergi tinggi, akan mengakibatkan terbuangnya energi sebagai panas dan tidak dapat tersimpan. Dengan jalan demikian xenobiotik ini dapat menimbulkan demam. Dalam hal ini intensitas proses oksidasi dalam organisme akan naik sesuai dengan transformasi xenobiotik untuk proses ini, bersamaan dengan proses tersebut kebutuhan oksigen akan meningkat.

d. Sintesa zat mematikan

Dalam hal ini xenobiotika mempunyai struktur ruang yang hampir mirip dengan substrat, sehingga dapat berikatan dengan enzim dan terambil dalam satu tahap atau lebih dalam siklus reaksi biokimia, dan dengan jalan ini diubah menjadi produk yang tidak normal, tidak berfungsi, yaitu produk toksik.

Produk yang terbentuk umumnya merupakan inhibitor enzim untuk salah satu tahap berikutnya pada siklus reaksi biokimia. Sebagai contoh yang bekerja dengan cara ini adalah asam fluoroasetat dan turunannya. Asam fluoroasetat menempati tempat asam asetat pada siklus asam sitrat dan dengan demikian bukan asam sitrat yang terbentuk melainkan asam fluorsitrat, yang merupakan inhibitor enzim akonitase, yaitu suatu enzim yang mengkatalisis pembentukan asam sitrat menjadi asam isositrat. Siklus asam sitrat penting untuk produksi energi, dengan terbentuknya asam fluorositrat akan meninhibisi siklus ini. Jika terbentuk asam fluoroasetat yang lebih toksik sebagai produk akhir, diartikan sebagai sintesis zat mematikan.

e. Pengikatan ion logam yang penting untuk kerja enzim

Ion logam tertentu bekerja sebagai kofaktor dan merupakan bagian penting dari enzim. Molekul logam dari porfirin, seperti Fe-protoporfirin IX, adalah suatu molekul multi fungsi pada sistem biologi, jika berikatan dengan protein. Molekul porfirin dapat membentuk kompleks khelat dengan logam Fe, Mg, Cu, Zn, Sn, Cd, Co, dan Ag. Khelat porfirin dengan Fe atau Mg, terdapat paling banyak di alam. Kompleks Fe- protoporfirin merupakan inti dari sitokrom dan hemoglobin, kompleks logam protein ini memiliki peran yang sangat penting bagi organisme hidup, yaitu pembawa oksigen menuju sel (fungsi dari hemoglobin) dan pengkatalis reaksi oksidasi-reduksi dan pada proses transfer elektron (fungsi dari sitokrom) dalam berbagai reaksi metabolisme xenobiotika.

Suatu efek toksik dapat timbul akibat pengambilan ion logam penting untuk aktivitas pada suatu substrat biologi melalui pembentukan khelat tertentu, seperti ditiokarbamat. Pengambilan ion Fe dari kompleks Fe- portoporfirin akan menghilangkan fungsi utamanya.

Inhibisi penghantaran elektron dalam rantai pernafasan ion besi sebagai inti dari sitokrom, merupakan enzim yang berperan penting dalam rantai pernafasan. Transpor elektron dalam siklus pernafasan melalui perubahan muatan dari ion besi. Inhibisi oleh asam sianida "HCN" pada enzim akan menghilangkan fungsi reduksi-oksidasinya. Dengan

demikian racun HCN menghambat pernafasan aerob, yaitu proses pertukaran elektron yang melibatkan oksigen. Keracunan seperti ini dapat membahayakan jiwa. Hidrogen sulfida (H₂S), mempunyai mekanisme kerja yang sangat mirip dengan HCN dan merupakan gas yang toksik.

2. Inhibisi pada transpor oksigen karena gangguan hemoglobin

Hemoglobin adalah pengangkut oksigen. Hemoglobin mengandung dua rantai α dan dua rantai β , serta 4 gugus heme, yang masing-masing berikatan dengan rantai polipeptida. Masing-masing gugus heme dapat mengikat satu molekul oksigen secara bolak-balik. Sebagian besar hemoglobin terdapat di dalam sel darah merah "eritrosit". Gangguan pada hemoglobin dan sel darah merah akan mengganggu transpor oksigen bagi organisme tersebut, yang pada akhirnya akan menimbulkan efek yang tidak diinginkan. Gangguan-gangguan ini mungkin melalui:

Keracunan karbon monoksida "CO". Karbon monoksida mempunyai tempat ikatan yang sama dengan oksigen pada heme. Kompleks hemoglobin dengan karbon monoksida disebut karboksi hemoglobin (Hb-CO). Kompleks ini menunjukkan kecenderungan ikatan yang lebih kuat dari pada ikatan oksigen pada heme. Pengikatan CO pada heme menurunkan bahkan meniadakan kemampuan eritrosit untuk mentranspor oksigen. Keracunan CO dapat mengakibatkan perasaan pusing, gelisah sampai kematian.

Pembentukan methemoglobin dan sulfhemo-globin. Methemoglobin adalah suatu hasil oksidasi hemoglobin yang tidak mempunyai kemampuan lagi untuk mengangkut oksigen. Banyak zat, seperti amina aromatik atau senyawa nitro aromatik yang dalam organisme direduksi menjadi amina aromatik, sulfonamida, asetanilid, asam aminosalisilat, nitrofurantion, primakuina, kinina atau nitrit, menyebabkan pembentukan methemoglobin dari hemoglobin. Jika methemoglobin terbentuk dalam jumlah sedikit maka di dalam eritrosit dapat direduksi kembali menjadi hemoglobin. Tetapi jika jumlah methemoglobin naik sampai jumlah tertentu, kemampuan regenerasi eritrosit tidak akan cukup dan dengan demikian kemampuan darah untuk mentranspor oksigen akan berkurang dengan nyata.

Disamping methemoglobin, juga ada yang disebut sulfhemoglobin, yang dengan methemoglobin menunjukkan kesamaan tertentu dan tidak mempunyai kemampuan untuk mengangkut oksigen. Pembentukan sulfhemoglobin terjadi jika senyawa yang mengandung sulfur (contoh sulfonamida) dan zat pembentuk methemoglobin (contoh asetanilid atau turunannya) bersama-sama digunakan.

3. Interaksi dengan fungsi sel umum

a. Kerja narkose

Kerja atau efek narkose (membius) dimiliki oleh senyawa, seperti eter, siklopropana dan halotan. Senyawa ini umumnya bersifat lipofil kuat, sehingga akan terjadi penimbunan dalam membran sel. Efek narkose dari senyawa tersebut sangat tidak selektif. Penimbunan

senyawa ini pada membran sel sampai pada batas tertentu, mungkin dapat menghambat transpor oksigen dan zat makanan, misalnya glukosa. Pada sel tertentu yang sangat peka dengan penurunan oksigen atau kadar glukosa darah akan sangat peka terhadap anestetika umum ini, sel seperti ini seperti sel saraf pusat.

Zat anestetika umum yang digunakan secara klinik dalam konsentrasi rendah sudah menekan fungsi kesadaran. Sebaliknya fungsi pusat yang penting untuk kehidupan yang mengatur pernapasan dan kerja jantung, baru dihambat pada konsentrasi tinggi. Maka anestetika umum dianggap nisbi aman. Pada penggunaan non klinis hidrokarbon dan pelarut organik lainnya, jarak antara konsentrasi nisbi sangat kecil. Karena itu kerja zat seperti ini terhadap saraf pusat relatif berbahaya.

b. Pengaruh pengantaran rangsangan neurohormonal

Kerja sebagian besar obat mempengaruhi sinaps pada penghantaran rangsang dari sel saraf yang satu ke sel saraf yang lainnya atau mempengaruhi ujung saraf sel efektor. Senyawa alkaloid tanaman yang mempunyai efek seperti di atas adalah alkaloid kurare, nikotin, dan atropin. Alkaloid kurare menginhibisi reseptor kolinergik pada plat akhir (*end plate*) motoris dan kemudian dapat digunakan sebagai pengendor otot (relaksan otot). Atropin memblok reseptor kolinergik pada postganglion parasimpatik. Sedangkan nikotina bekerja pada hantaran kolinergik pada sinaps ganglion.

Banyak senyawa yang mempengaruhi penghantaran neurohormonal tidak hanya bekerja pada sistem saraf otonom seperti obat adrenergik, anti adrenergik obat kolinergik dan antikolinergik melainkan juga berbagai jenis psikofarmaka. Antidipresan trisiklik (imipramina dan sebagainya) mempengaruhi penghantaran rangsang pada sinaps adrenergik, senyawa ini menghambat pengambilan kembali penghantar (transfer) pada ujung saraf prasinaptik. Disamping obat ini, banyak toksin yang bekerja mempengaruhi penghantaran rangsang salah satunya toksin botulinum bekerja menghambat pembebasan asetilkolina pada pelat akhir (*end plate*) motorik dan dengan demikian menyebabkan paralisis.

Berbagai halusinogen, contohnya meskalin, yang diisolasi dari berbagai jenis kaktus Meksiko, dan LSD (asam lisergat dietilamid) yaitu suatu turunan alkaloid *Secale cornutum*, mengganggu penghantaran rangsang pada bagian tertentu sistem saraf pusat. Beberapa stimulan lemah seperti arekolina, alkaloid dari buah pinang, atau norpseudoefedrina dari *Catha edulis* mempengaruhi juga hantaran impuls sentral.

4. Gangguan Sintesis DNA-RNA

Kerja toksik racun dapat disebabkan oleh gangguan pada pengaturan proses sintesis DNA dan RNA. Gangguan ini dapat terjadi pada penggandaan DNA selama pembelahan sel, transkripsi informasi DNA kepada RNA, penyampaian informasi melalui RNA pada sintesis protein, sintesis bangunan dasar protein dan asam nukleat, biasanya melalui

penghambatan pada sintesis enzim yang berperan serta atau melalui sintesa zat mematikan, proses pengaturan yang menentukan pola aktivitas sel

- a. Kerja sitostatika, yaitu penghambatan pembelahan sel yang akan mempengaruhi pertumbuhan jaringan pada perbanyakkan sel. Contoh: obat tumor ganas.
- b. Kerja mutagenik, yaitu zat kimia yang bekerja mengubah sifat genetika sel.
- c. Kerja karsinogenik, yaitu zat kimia yang dapat menyebabkan kanker pada waktu yang lama.

5. Kerja Teratogenik

Suatu kondisi abnormal yang terjadi pada janin yang timbul selama fase perkembangan embrio (fetus) atau bisa diartikan dengan pembentukan cacat bawaan. Efek yang terjadi adalah janin terlahir dengan pertumbuhan organ tubuh yang tidak lengkap. Jenis kerusakan tidak hanya tergantung dari zat penyebab tapi juga tergantung pada fase perkembangan embrio, tempat zat teratogenik bekerja. Contoh kasus: alkohol yang di konsumsi oleh wanita hamil, dapat menyebabkan kelainan jantung; terjadi *craniofacial abnormalities* (kelainan pada tengkorak dan wajah), yaitu a.l: *microcephaly*, *small eyes*, dan *flat midface*; retardasi pada pertumbuhan; dan kelainan pembentukan tulang. Selain itu juga dapat menyebabkan retardasi mental, lemah otot, kelainan bicara, dan kelainan pada pendengaran.

6. Gangguan sistem imun

Fungsi dari sistem imun adalah melindungi tubuh dari organisme asing (virus, bakteri, jamur), sel asing (neoplasma), dan zat asing lain. Adanya sistem imun ini adalah sangat penting, hal ini dapat diperlihatkan pada efek imunodefisiensi, dimana kecenderungan terjadinya infeksi dan tumor lebih mudah terjadi. Suatu zat atau senyawa toksik yang mengganggu sistem imun adalah Imunotoksikan.

Ada 3 (tiga) macam Imunotoksikan:

a. Imunostimulan

Imuno stimulan (peningkatan sistem imun) dapat menyebabkan reaksi hipersensitivitas atau alergi. Reaksi alergi tergantung pada kepekaan terhadap suatu zat tertentu yang terjadi akibat kontak atau pemakaian berulang yang mengakibatkan pembentukan antibodi yang khas terhadap zat asing (antigen). Jadi alergi didasarkan pada suatu bentuk tertentu reaksi antigen–antibodi. Suatu zat yang dapat menyebabkan alergi dikenal sebagai allergen. Alergen bisa masuk ke tubuh melalui kulit, hidung, mulut, ataupun disuntik melalui injeksi. Alergen yang umum yaitu: tanaman, serbuk sari, sengatan tawon, gigitan serangga, obat, dan makanan. Simptom (gejala) alergi yang umum terjadi antara lain termasuk: gatal, bersin-bersin, kulit merah, mata berair, pilek, bengkak, sulit bernapas, mual, muntah. Banyak reaksi alergi yang ringan yang dapat diobati di rumah, dan dapat menggunakan obat anti alergi seperti: ctm, difenhidramin HCl. Beberapa reaksi dapat terjadi lebih parah dan harus mendapatkan pengobatan lebih lanjut. Alergi yang parah dapat mengakibatkan hal yang fatal

seperti *anaphylaxis shock*. Hal ini bila tidak segera ditangani maka dapat mengakibatkan kematian.

b. Imunosupresan

Imunosupresan adalah penekanan pada sistem imun. Zat yang termasuk dalam imunosupresan dapat digolongkan menjadi lima kategori:

- 1) Antineoplastik, seperti: metotreksat
- 2) Logam berat, seperti : timbal, merkuri, kromium, arsenat
- 3) Pestisida. seperti: DDT, heksaklorobenzen (HCB), dieldrin, karbanil
- 4) Hidrokarbon berhalogen, seperti : kloroform, trikloroetilen, pentaklorofenol
- 5) Macam-macam senyawa seperti: benzo(a)piren, benzen, glukortikoid, dietilstilbenstrol

c. Auto Imun

Sistem imune menghasilkan auto antibodi terhadap antigen endogen, yang merusak jaringan normal. Seperti anemia hemolitik, pada penyakit ini terjadi fagositosis terhadap eritrosit sehingga terjadi hemolisis dan anemia. Senyawa yang dapat mengakibatkan anemia hemolitik adalah pestisida dieldrin.

7. Iritasi kimia langsung pada jaringan

Suatu rangsangan kimia langsung pada jaringan disebabkan oleh zat yang mudah bereaksi dengan berbagai bagian jaringan. Zat tersebut biasanya tidak menembus peredaran darah sebab zat langsung bereaksi dengan jaringan pertama yang berhubungan, seperti, a.l: kulit, mata, hidung, tenggorokan, bronkus, alveoli. Reaksi dari zat kimia yang terjadi dapat diuraikan antara lain sebagai berikut:

a. Kerusakan kulit

Suatu perubahan harga pH lokal yang kuat yang dapat mengubah keratin kulit yang menimbulkan pembengkakan karena penyerapan air. Contoh: larutan basa kuat seperti NaOH pekat dan KOH yang bersifat sebagai korosif kuat.

b. Gas Air Mata

Gas air mata pada konsentrasi rendah telah menyebabkan nyeri mata dan aliran air mata yang deras. Contohnya: klorpikrin, bromaseton, bromasetofenon, dan kloroasetofenon. Pada konsentrasi tinggi zat ini dapat menyebabkan udem (pembengkakan) paru-paru. Bila mata terkena sedikit gas air mata, maka gangguan akan hilang dengan sendirinya karena kenaikan pembentukan air mata yang diakibatkannya. Tetapi bila terkena pada konsentrasi yang lebih tinggi maka harus dicuci berulang-ulang dengan air atau lebih baik dengan larutan Natrium Hidrogen Karbonat 2%. Bersamaan dengan pencucian maka kelopak mata harus dibalik.

c. Toksisitas pada jaringan

Pada pemeriksaan histologi, terjadinya toksisitas jaringan dapat ditandai dengan terjadinya degenerasi sel bersama-sama dengan pembentukan vakuola besar, penimbunan

lemak, dan nekrosis (kematian sel/jaringan/organ). Toksisitas jenis ini adalah fatal karena struktur sel langsung dirusak. Efek toksik ini sering terlihat pada organ hati dan ginjal. Efek toksik ini segera terjadi setelah senyawa toksik mencapai organ tersebut pada konsentrasi yang tinggi. Contoh zat yang berbahaya pada hati adalah: kloroform, karbontetraklorida, dan brombenzena (Ariens, 1986).

C. EFEK TOKSIK

Efek toksik adalah hasil sederetan proses, hingga adanya perubahan fungsional yang disebabkan interaksi bolak-balik (reversible) antara zat asing (xenobiotik) dengan substrat biologi. Bahasan ini membagi efek toksik berdasarkan respon di jaringan utama dan organ manusia, yaitu sistem pernafasan, kulit, hati, darah dan sistem kardiovaskular, sistem kekebalan tubuh, sistem endokrin, sistem saraf, sistem reproduksi, dan ginjal serta kandung kemih. Hal ini sesuai dengan jalur utama paparan, pengangkutan, dan penghapusan racun dalam tubuh manusia. Seperti dibahas sebelumnya, racun dapat dihirup melalui sistem pernapasan atau diserap melalui kulit. Senyawa yang tertelan melalui sistem pencernaan biasanya melewati hati. Toksisitas sistemik dibawa oleh darah dan melalui sistem getah bening ke berbagai organ dan dapat mempengaruhi sistem endokrin, sistem saraf, dan sistem reproduksi. Akhirnya, ginjal dan saluran kencing merupakan rute utama untuk menghilangkan metabolit toksik sistemik dari tubuh.

1. Sistem pernafasan

Saluran pernafasan dapat menderita berbagai penyakit yang bisa diakibatkan oleh paparan toksik, yang umum terjadi adalah:

- a. Bronkitis akut atau kronis, akibat pembengkakan lapisan membran tabung bronkial, yang dapat disebabkan oleh racun atau oleh infeksi. Bronkitis kronis dapat disebabkan oleh amonia, arsen, debu kapas (penyakit paru-paru coklat), dan oksida besi dari paparan asap las.
- b. Emfisema, kondisi paru-paru yang ditandai dengan pembesaran abnormal ruang udara yang distal ke bronkiolus terminal, disertai dengan penghancuran dinding tanpa fibrosis yang jelas dan hilangnya elastisitas ruang udara paru. Emfisema ditandai dengan pembesaran paru-paru yang tidak mengeluarkan udara secara memadai dan melakukan tidak menukar gas dengan baik, sehingga sulit bernafas, terjadi pada perokok berat.
- c. Gangguan interstisial, fibrosis paru dimana jaringan ikat fibrosa berlebih berkembang di paru-paru dapat diakibatkan oleh penumpukan bahan berserat di dalam rongga paru. Fibrosis kronis dapat terjadi akibat paparan debu aluminium, aluminium, kromium (VI), debu batubara, debu tanah liat kaolin, ozon, fosgen, silika, dan talk mineral.

- d. Cedera paru akut, edema paru adalah akumulasi cairan di paru-paru; meningkatkan penghalang kapiler alveolar dan membuat pernapasan menjadi lebih sulit, pada kasus yang parah, paru-paru benar-benar tenggelam dalam cairan tersebut. Contoh penyebab edema paru adalah ozon, phosgene (COCl_2).

- e. Kanker paru-paru

Sebanyak 90% kanker paru-paru disebabkan oleh paparan asap tembakau. Periode laten terjadinya kanker paru-paru dari sumber ini biasanya 20 hingga 40 tahun atau lebih. Zat lain adalah asbes dan gas radon, alpha radioaktif.

Efek toksik yang umum terjadi pada paru adalah akibat dari beban oksidatif. Beban oksidatif terjadi sebagai akibat oksidan aktif, terutama radikal bebas yang dihasilkan oleh berbagai agen toksik dan respon sel pertahanan paru-paru. Ozon, O_3 , NO_2 , polutan udara yang paling sering dikaitkan dengan asap fotokimia, adalah oksidan yang sangat aktif di udara yang tercemar. Sebagian besar kerusakan oksidatif pada paru-paru akibat radikal bebas, seperti radikal hidroksil, $\text{HO}^\bullet$ dan ion superoksida, $\text{O}_2^\bullet$, yang memulai dan menengahi reaksi berantai oksidatif. Paru-paru yang terpapar oksidan menunjukkan peningkatan kadar enzim yang menangkis radikal bebas, memberikan bukti peran mereka dalam kerusakan oksidatif. Ada bukti yang menunjukkan bahwa sel paru-paru yang rusak akibat pelepasan zat toksik yang mengubah paru-paru menjadi reaktif yaitu anion superoksida, $\text{O}_2^\bullet$.

2. Kulit

Penyakit kulit dan kondisi kulit yang paling umum akibat terpapar zat beracun adalah:

- a. Dermatitis kontak, ditandai dengan permukaan kulit yang teriritasi, gatal, dan kadang terasa sakit, gejalanya adalah eritema, atau kemerahan. Permukaan kulit mengalami pengelupasan, permukaannya terlepas. Penebalan dan pengerasan bisa terjadi, suatu kondisi klinis dikenal sebagai indurasi. Blistering, kondisi yang disebut vesiculation, juga bisa terjadi. Kulit yang terkena dermatitis kontak biasanya menunjukkan edema, dengan akumulasi cairan di antara sel kulit. Ada dua kategori umum dermatitis kontak: dermatitis iritan dan dermatitis kontak alergi.
- 1) Dermatitis iritan tidak melibatkan respons imun dan biasanya disebabkan oleh kontak dengan zat korosif yang menunjukkan pH yang ekstrem, kemampuan pengoksidasi, dehidrasi, atau kecenderungan untuk melarutkan lipid kulit. Dalam kasus paparan ekstrem, sel kulit hancur dan bekas luka permanen. Kondisi ini dikenal sebagai luka bakar kimia. Paparan asam sulfat pekat, yang menunjukkan keasaman ekstrim, atau pada asam nitrat pekat, yang mendenaturasi protein kulit, Oksidan yang kuat hidrogen peroksida 30% dapat menyebabkan luka bakar kimiawi yang buruk. Bahan kimia lain meliputi amonia, kapur sirih (CaO), klor, etilen oksida, hidrogen halida, metil bromida,

oksida nitrogen, fosfat putih unsur, fenol, hidroksida logam alkali (NaOH, KOH), dan toluena diisosianat.

- 2) Dermatitis kontak alergi terjadi saat individu menjadi peka terhadap bahan kimia pada paparan awal, setelah itu eksposur selanjutnya menimbulkan respons yang ditandai dengan dermatitis kulit. Dermatitis kontak alergi adalah hipersensitivitas tipe IV yang melibatkan sel T dan makrofag, bukan antibodi. Ini adalah respons tertunda, terjadi satu atau dua hari setelah terpapar, dan seringkali hanya memerlukan sejumlah kecil alergen untuk menyebabkannya. Beberapa di antaranya adalah zat yang dioleskan ke kulit secara langsung sebagai produk kebersihan. Termasuk dalam kategori ini adalah antibiotik bacitracin dan neomycin, pengawet benzalkonium klorida, kortikosteroid terapeutik, dan antiseptik diklorofen. Di antara zat lain yang menyebabkan dermatitis kontak alergi adalah formaldehid, asam abietik dari tumbuhan, hydroquinone, monomer akrilik, pewarna triphenylmethane, 2-mercaptobenzthiazole, p- fenilen diamina, tetrametilthiuram, 2,4-dinitrochlorobenzene, pentaeritritol triakrilat, resin epoksi, garam dikromat, merkuri, dan nikel.
 - b. Urticaria, yang biasa dikenal dengan gatal-gatal, adalah reaksi alergi tipe I yang berawal sangat cepat dari paparan racun yang menjadi subjek sensitif. Hal ini ditandai dengan pelepasan histamin dari sejenis sel darah putih. Histamin menyebabkan banyak gejala reaksi alergi, termasuk edema jaringan. Selain edema, eritema, dan menyertai bekas luka pada kulit, urtikaria disertai dengan gatal yang parah. Pada kasus yang parah, seperti yang terjadi pada beberapa orang akibat sengatan lebah atau tawon, urtikaria dapat menyebabkan anafilaksis sistemik, reaksi alergi yang berpotensi fatal.
3. Hepar atau Hati
- Senyawa yang bersifat toksik terhadap hepar disebut hepatotoksikan. Manifestasinya dapat berupa:
- a. Steatosis, yang biasa dikenal dengan *fatty liver*, adalah kondisi di mana lipid menumpuk di hati lebih dari sekitar 5%. Ini bisa diakibatkan oleh racun yang menyebabkan peningkatan sintesis lipid, penurunan metabolisme lipid, atau penurunan sekresi lipid sebagai lipoprotein. Contoh zat penyebab steatosis adalah asam valproate (antikonvulsan), etanol, karbon tetraklorida, CCl₄.
 - b. Hepatitis, radang sel hati akibat zat yang menyebabkan respons kekebalan, atau penyakit mematikan sel, dan sisa-sisanya dilepaskan ke jaringan hati, atau zat yang menyebabkan kematian sel (nekrosis) sel hati, contohnya dimethylformamida.
 - c. Gangguan produksi dan ekskresi empedu dikenal sebagai cholestasis kanalis, dapat disebabkan oleh chlorpromazine.

- d. Sirosis, yang disebabkan alkoholisme kronis, adalah hasil akhir yang fatal dari kerusakan hati. Sirosis ditandai dengan pengendapan dan penumpukan jaringan serat kolagen, yang menggantikan sel hati aktif dan akhirnya sel hati tidak berfungsi.
 - e. Tumor dan kanker hati, disebabkan aflatoxin dari jamur, arsenik, dan torium dioksida (sebagai kontras radioaktif untuk tujuan diagnostik)
 - f. Hemangiosarcoma, akibat paparan vinil klorida, akibat dari epoksida reaktif yang dihasilkan oleh metabolisme secara oksidasi enzimatis vinil klorida di hati.
4. Darah dan Kardiovaskuler. Toksisitas terhadap darah dan sistem kardiovaskuler disebut hematotoksik dan kardiotoxik .
- a. Hipoksia adalah kondisi jaringan kekurangan oksigen, ada 3 jenis yaitu:
 - 1) Hipoksia stagnan adalah aliran darah yang menurun, yang bisa diakibatkan oleh berkurangnya efisiensi pemompaan jantung atau vasodilatasi, dimana dinding pembuluh darah rileks, sehingga menurunkan tekanan dan aliran darah.
 - 2) Hipoksia anemia, bila aliran darah normal, tetapi kapasitas darah untuk membawa oksigen menurun. Penyebabnya adalah kompetisi pada tempat heme mengikat oksigen, biasanya hasil paparan karbon monoksida. CO Karbon monoksida memiliki afinitas yang lebih besar terhadap besi (II) pada heme daripada molekul oksigen, membentuk kompleks stabil carboxyhemoglobin (Hb-CO). Penyebab lainnya adalah methemoglobinemia, di mana zat besi (II) dalam hemoglobin teroksidasi menjadi besi (III). Methemoglobin tidak membawa oksigen dan korban keracunan dapat meninggal karena kekurangan oksigen. Ion nitrit, NO₂, anilin, dan nitrobenzena) adalah racun yang dapat menyebabkan methemoglobinemia.
 - 3) Hipoksia histotoksik terjadi ketika oksigen dikirim secara normal ke jaringan, namun kemampuan penggunaan oksigen oleh jaringan menurun, contohnya HCN dan H₂S.
 - b. Anemia
Hipoksia jangka panjang dapat menurunkan pembentukan sel darah di sumsum tulang. Penurunan produksi eritrosit dan leukosit dalam sumsum, mengakibatkan anemia aplastik dapat disebabkan paparan benzena. Timbal menyebabkan gangguan sintesis heme.
 - c. Leukemia, yaitu produksi leukosit yang tidak terkontrol adalah suatu bentuk kanker, paparan benzena kini dianggap sebagai penyebab kanker jenis ini.
 - d. Kardiotoxik, sirkulasi darah terjadi akibat denyut jantung dan juga dipengaruhi oleh kondisi sistem vaskular. Detak jantung melibatkan mekanisme elektrik (impuls saraf) dan mekanik (kontraksi dan relaksasi otot jantung). Beberapa racun dapat mempengaruhi tindakan terkoordinasi dengan baik ini, seperti bradikardia (penurunan denyut nadi), takikardia (peningkatan denyut), dan aritmia (denyut nadi tidak teratur). Antineoplastik, 5-fluorouracil bersifat kardiotoxik, menyebabkan hipotensi berat. Obat

antidepresan seperti imipriminin, agen antipsikotik, dan anestesi umum menyebabkan gangguan impuls berakibat aritmia. Kadar anestesi lokal sistemik yang tinggi seperti lidokain dapat menyebabkan gangguan jantung karena gangguan konduksi akson syaraf. Katekolamin sintetis yang digunakan untuk mengobati gangguan pernafasan dan kardiovaskular nekrosis sel jantung (kematian sel). Paparan akut alcohol menyebabkan aritmia.

- e. Kerusakan pembuluh darah di paru-paru oleh hidrogen fluorida, oksida nitrat, dan ozon dapat menyebabkan akumulasi cairan yang dikenal sebagai edema paru. Efek toksik yang umum terjadi adalah penebalan dinding arteri yang tidak normal disertai hilangnya elastisitas, suatu kondisi yang disebut arteriosklerosis. Efek umum lainnya adalah aterosklerosis, suatu bentuk arteriosklerosis dimana lapisan dalam dinding arteri ditutupi dengan plak yang dihasilkan oleh pengendapan zat lemak. Kolesterol, karbon monoksida, dinitrotoluen, hidrokarbon aromatik polisiklik, dan asam amino homocysteine telah dikaitkan sebagai penyebab atherosklerosis. Acrolein, dari asap tembakau dan knalpot mesin, secara biokimia sangat aktif akibat gugus aldehidnya menyebabkan kerusakan pada sel vaskular. Arsenik menyebabkan arteriosclerosis, pelebaran arteri dan kapiler merupakan gejala keracunan arsenik akut.

5. Sistem Saraf

Efek dari neurotoksikan dapat dimanifestasikan dalam dua kategori: *encephelopathy* dan *neuropathy perifer*.

- a. Encephelopathy mengacu pada kelainan otak, meliputi edema serebral (akumulasi cairan di otak), degenerasi dan hilangnya neuron otak, dan nekrosis korteks serebral. Gejala encephelopathy meliputi hilangnya koordinasi (ataksia), konvulsi, kejang, cerebral palsy (paralisis parsial dan tremor), dan koma. Neurotoxins dapat menyebabkan gejala penyakit Parkinson, yang meliputi kekakuan, cara berjalan yang acak, dan getaran tangan dan jari. Gejala psikologis, seperti rasa malu, kemarahan yang tidak terkontrol, dan kecemasan ekstrim, mungkin merupakan gejala kerusakan neurotoxins pada jaringan otak. Efek lain dari neurotoksin bisa menjadi demensia, ditandai dengan kehilangan ingatan, gangguan kemampuan penalaran, dan biasanya gangguan perilaku. Logam yang menyebabkan encephelopathy meliputi aluminium, bismut, timbal, dan arsenik (metaloid)
- b. Neuropati perifer mengacu pada kerusakan saraf di luar sistem saraf pusat. Hal ini terutama terlihat sebagai kerusakan pada saraf motorik yang terlibat dengan gerakan otot sukarela. Arsenik menyebabkan neuropati perifer, bismut menyebabkan gangguan emosional, timbal menyebabkan penurunan belajar pada anak-anak, mangan menyebabkan gangguan emosional dan gejala penyakit Parkinson, dan thallium menyebabkan gangguan emosional, ataksia, dan neuropati perifer. Elemen merkuri

yang terhirup uapnya bisa mengakibatkan berbagai gejala psikologis, termasuk gangguan emosional, kelelahan, dan tremor. Senyawa methyl-merkuri sangat neurotoksik, menyebabkan ataksia dan parestesia (sensasi gelitik dan sensasi tusukan jarum). Keracunan karbon monoksida dapat menyebabkan hilangnya neuron di korteks dan gejala encephelopathy dan parkinsonism. Gejala keracunan karbon tetraklorida yang paling umum kedua setelah kerusakan hati adalah *encephelopathy*. Korban yang selamat dari keracunan sianida mungkin menderita parkinsonism yang tertunda. Kloramfenikol dapat mengakibatkan neuropati perifer.

- c. Axonopati, kondisi akibat kemunduran akson saraf dan mielin sekitarnya, dapat disebabkan oleh hasil metabolisme n-hexane, γ -diketones, colchicine, disulfiram, hydralazine, dan insektisida pyrethroids. Neuropati perifer adalah jenis yang paling umum dari gangguan axonopathic. Sejumlah kasus psikosis manik terjadi pada pekerja yang terpapar karbon disulfida, CS₂, pada industri rayon viscose dan karet.
- d. Mielinopati, efek neurotoksik akibat disintegrasi insulasi myelin disekitar akson, disebabkan hexachlorophene, suatu antiseptik pada sabun bayi.
- e. Gangguan neurotransmisi. Beberapa neurotoksin tidak mengubah struktur sel saraf, namun mengganggu transmisi neurotransmisi, transmisi impuls saraf, contohnya nikotin. Efek neurotoksik dari nikotin telah terjadi pada anak-anak yang tertelan nikotin, dan bahkan pekerja yang menyerap nikotin melalui kulit untuk menangani daun tembakau basah. Gejala pertama keracunan nikotin meliputi denyut jantung yang dipercepat, berkeringat, dan mual. Belakangan, jantung bisa melambat sedemikian rupa sehingga tekanan darah menjadi terlalu rendah. Subjek bisa menjadi mengantuk dan bingung dan mengalami koma. Kematian terjadi akibat kelumpuhan otot pernafasan. Zat yang sangat menghancurkan yang mempengaruhi neurotransmisi adalah kokain, yang menghambat pengambilan katekolamin di terminal saraf. Kecanduan kokain sangat berbahaya karena bisa menembus sawar darah otak dengan mudah.

6. Nefrotoksik

Efek toksik pada ginjal dapat berupa gagal ginjal akut dan kronis. Beberapa di antaranya termasuk senyawa merkuri organik, anti infeksi seperti sulfonamida dan vankomisin, antineoplastik adriamycin (terapi kanker) dan mitomisin C, imunosupresan siklosporin A, analgetik dan anti-inflamasi asetaminofen, enfluran dan lithium digunakan untuk mengobati gangguan pada sistem saraf pusat. Beberapa logam, termasuk kadmium, timbal, merkuri, nikel, dan kromium, bersifat nephrotoxic. Beberapa zat yang berasal dari bakteri (mikotoksin) dan tumbuhan (terutama alkaloid) bersifat nefrotoksik. Ini termasuk aflatoksin B, citrinin, alkaloid pyrrolizidine, dan rubratoxin B. Hidrokarbon terhalogenasi nephrotoxic meliputi bromobenzene, chloroform, carbon tetrachloride, dan

tetrafluoroethylene, yang diangkut ke ginjal sebagai konjugat sistein. Etilen glikol dan dietilen glikol membahayakan ginjal karena biokonversinya terhadap oksalat yang menyumbat tubulus ginjal. Herbisida paraquat, diquat, dan 2,4,5-trichlorophe-noxyacetate juga memiliki efek toksik pada ginjal (Manahan, 2003).

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

Apa yang dimaksud dengan kerja toksik berikut:

- a. Inhibisi enzim
- b. inhibisi transport oksigen
- c. interaksi dengan fungsi sel

Sebutkan masing-masing contoh bahan toksiknya!

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Mekanisme kerja toksik senyawa xenobiotik, baik tingkat seluler maupun molekuler.
2. Efek toksik, meliputi gejala yang dapat diamati atau diukur akibat mekanisme kerja senyawa xenobiotik

Ringkasan

Bab Toksodinamika ini membahas tentang bagaimana suatu senyawa xenobiotik mempengaruhi tubuh. Jika senyawa tersebut bersifat toksik, maka fase toksodinamik adalah proses ketika senyawa tersebut mempengaruhi tubuh hingga menimbulkan efek toksik. Mekanisme kerja toksik dapat timbul dapat dikelompokkan meliputi: interaksi dengan system enzim, inhibisi transport oksigen, interaksi dengan fungsi sel, gangguan system immune, gangguan pada sintesis DNA-RNA, iritasi kimia langsung pada jaringan, dan toksisitas pada jaringan. Sedangkan efek toksik dapat dikeompokkan berdasarkan jaringan atau organ sasarannya.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Salah satu mekanisme kerja suatu senyawa toksik adalah membentuk methemoglobin, maka efek toksik yang dapat ditimbulkan adalah
 - A. Aritmia
 - B. Anemia

- C. Hipoksia
 - D. Takikardia
 - E. Bradikardia
2. Alkohol, disamping mengakibatkan cacat lahir bayi juga hasil metabolismenya bersifat toksik pada hepar. Apakah efek toksik pada organ tersebut?
- A. Hepatitis
 - B. Steatosis
 - C. Kanker hati
 - D. Hemangiosarkoma
 - E. Sirrosis
3. Arsenik adalah senyawa yang sangat toksik, antara lain bersifat kardiotoxik, ditandai dengan gejala
- A. Vasokonstriksi
 - B. Vasodilatasi
 - C. Arteriosklerosis
 - D. Leukemia
 - E. Anemia
4. Asap rokok merupakan sumber zat toksik yang berbahaya terutama terhadap paru-paru. Salah satunya adalah terjadinya perluasan alveoli sehingga kemampuan pertukaran gas menurun. Disebut apakah efek toksik ini?
- A. Bronchitis
 - B. Fibrosis paru
 - C. Edema paru
 - D. Kanker paru
 - E. Emfisema
5. Suatu bahan toksikan dapat menyebabkan perubahan pH lokal yang kuat yang dapat mengubah keratin kulit yang menimbulkan pembengkakan karena penyerapan air. Sebutkan contoh bahan toksiknya!
- A. NaOH
 - B. H₂SO₄
 - C. HCl
 - D. Etanol
 - E. Kloroform

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

1. B
2. A
3. B
4. B
5. D

Test Formatif 2

1. C
2. B
3. C
4. E
5. A

Glosarium

Hepar *Clearance*: atau *clearance* hati adalah kemampuan hepar membersihkan (men detoksifikasi) darah dari suatu senyawa tertentu yang dinyatakan dalam volume darah per satuan waktu.

Efikasi : kemampuan xenobiotika menghasilkan efek

Oksidasi : reaksi kimia yang ditandai dengan peningkatan bilangan oksidasi atau pelepasan elektron, atau melibatkan oksigen

Reduksi : reaksi kebalikan dari oksidasi, yaitu penurunan bilangan oksidasi atau penerimaan elektron

Sitokrom P-450 : adalah hemoprotein dengan suatu ciri khas puncak absorpsi dari bentuk tereduksi CO-kompleknya pada panjang gelombang 450 nm

Daftar Pustaka

- Ariens E.J., Mutschler, E. R., dan A.M. Simonis. (1986). *Toksikologi Umum: Pengantar*. (Penerjemah: Wattimena, Y.R., Widiyanto, M.B., Sukandar, E.Y. Editor: Kosasih Padmawinata) Gajahmada University Press, Yogyakarta.
- Flanagan, R.F., Taylor, A., Watson, I.D., Whelpton, R. (2007). *Fundamental of Analytical Toxicology*, Willey, Sussex, England.
- Frank C. Lu. (1985). *Toksikologi dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*, edisi kedua (Penerjemah: Edi Nugroho). Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Manahan, E.S. (2003). *Toxicological Chemistry and Biochemistry*, 3rd ed. Lewis Publisher, London.
- Moffat, C.A., Osselton M,D., Widdop, B., (2004). *Clark's Analysis of Drugs and Poison: in pharmaceutical, body fluid and post mortem material*, 4th ed. Pharmacy Press, Chicago.
- Wirasuta, I M.A.G. (2006). *Buku Ajar Toksikologi Umum*, Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Udayana, Denpasar.
- Renwick, A.G., 2006. *Fundamental Toxicology*, The Royal Society of Chemistry. Diunduh dari <https://www.globalspec.com/reference/62071/203279/chapter-3-toxicokinetics>

Bab 3

TEKNIK PENGAMBILAN DAN PREPARASI SAMPEL TOKSIKOLOGIS

Muji Rahayu, S.Si., M.Sc., Apt.

Pendahuluan

Teknik pengambilan sampel dan penanganan sampel merupakan tahap pra analitik yang menentukan validitas hasil pemeriksaan laboratorium toksikologi. Dalam bab ini Anda akan mempelajari jenis-jenis sampel, cara penanganan, dan teknik preparasi sampel baik sampel dari bahan biologis maupun non biologis. Jenis-jenis sampel terutama sampel biologis yang diambil dari tubuh berkaitan dengan mekanisme absorpsi, distribusi dan eliminasi suatu xenobiotic. Sedangkan analit yang kemungkinan dapat terdeteksi pada sampel yang diperiksa didasari dengan pemahaman tentang biotransformasi xenobiotika. Oleh karena itu, untuk bisa lebih memahami bab ini, Anda harus sudah memahami Bab 2 terutama bahasan toksokinetika.

Pada topik 1 dipaparkan jenis-jenis sampel yang dapat diambil baik sampel biologis pada korban yang masih hidup atau mati. Selain itu juga sampel non biologis yang berupa barang-barang yang berada disekitar korban yang diduga mengandung zat yang dicurigai yang dalam bab ini disebut “residu kejadian”. Pengambilan sampel terutama darah memerlukan pemahaman tentang flebotomi dan hal-hal yang berkaitan, yang sudah Anda dapatkan pada mata kuliah Flebotomi.

Penanganan sampel juga hal yang sangat penting untuk mempertahankan agar analit tidak mengalami perubahan selama proses pengambilan sampel sampai waktu analisis di laboratorium. Bahasan ini akan dipaparkan pada topik 2. Penanganan sampel dapat berupa penyimpanan, pengawetan yang meliputi pemilihan cara dan bahan pengawet dan pengangkutan bila diperlukan proses rujukan.

Topik 1

Jenis-jenis Sampel Toksikologis

A. PENGANTAR

Hasil analisis dalam toksikologi analitis bisa dianggap tidak berharga jika pengumpulan sampel, pengangkutan, dan penyimpanan tidak dilakukan dengan baik dan benar, meskipun analisisnya telah dilakukan dengan hati-hati. Jadi, penting untuk memahami sifat dan stabilitas analit, sifat matriks sampel, dan keadaan dimana analisis harus dilakukan. Dokumentasi sejarah sampel yang benar (asal, cara pengumpulan, pengangkutan, penyimpanan, dan data pendukung) sangat penting.

Konsentrasi analit pada spesimen umumnya diasumsikan mewakili konsentrasi pada cairan atau jaringan tertentu. Seluruh darah, plasma (cairan yang diperoleh pada sentrifugasi darah utuh dengan antikoagulan), atau serum banyak digunakan dalam pekerjaan klinis. Hal ini karena tidak hanya darah yang relatif mudah dikumpulkan, namun juga analisis kuantitatif seringkali dapat memberikan informasi yang berguna mengenai besarnya paparan dan karenanya tingkat keparahan keracunan. Ekskresi (udara yang dihembuskan, urin) atau sekresi (air liur, empedu) seringkali kurang berguna dalam hal interpretasi data kuantitatif, namun bisa sangat berguna dalam pekerjaan kualitatif.

Variasi pengukuran bioanalitik dapat bergantung pada subjek dan mencerminkan perubahan fisiologis normal, sementara yang lain mungkin mencerminkan prosedur pengumpulan dan penanganan sampel (Tabel 3.1). Spesimen postmortem adalah masalah khusus karena, secara umum, informasi tentang konsentrasi analit dalam darah pada saat kematian diperlukan. Konsentrasi darah postmortem mungkin tidak secara akurat mencerminkan konsentrasi darah perimortem karena beberapa alasan. Haemolysis biasa terjadi, sementara haemostasis dapat menyebabkan perubahan komposisi seluler dari darah yang dijadikan sampel. Ada juga kemungkinan kontaminasi selama pengumpulan, misalnya dengan isi perut, dan kebocoran analit dari jaringan yang berdekatan, contohnya kebocoran potassium intraselular ke plasma, yang dimulai segera setelah kematian.

Tabel 3.1 Faktor-faktor yang mempengaruhi sampel

Variabel	Contoh
1) Faktor Fisiologi	
a) Usia	Penanda usia omset tulang seperti kolagen cross-linkages meningkat pada anak-anak
b) Jenis kelamin	Hormone seks
c) Berat badan	Kreatinin urin meningkat dengan massa otot
d) Asupan makanan terbaru	Glukosa plasma, trigliserida, dan sebagainya, meningkat setelah makan normal. Dapat menunda dan/atau mengurangi penyerapan beberapa obat, namun meningkatkan penyerapan lainnya
e) Diet	Diet, malnutrisi atau puasa akan mengurangi serum albumin, urea, dan fosfat
f) Variasi sirkadian	Beberapa analit (misalnya kortisol, zat besi) menunjukkan perubahan diurnal dalam konsentrasi plasma
g) Siklus haid	Konsentrasi plasma hormon leutinizing (LH), hormon perangsang folikel (FSH), estradiol dan progesteron dipengaruhi siklus haid
h) Kehamilan	Konsentrasi plasma human chorionic gonadotropin (HCG), estradiol, dan biokimia lainnya bervariasi sepanjang kehamilan.
i) Perubahan psikologis	Venepuncture atau rawat inap dapat meningkatkan konsentrasi plasma senyawa yang berhubungan dengan stres seperti katekolamin
j) Perubahan fisiologis	Postur dapat mempengaruhi pengukuran seperti plasma aldosteron dan albumin. Olahraga dapat mengubah konsentrasi senyawa darah seperti laktat
k) Obat	Pengobatan dapat mengubah konsentrasi beberapa konstituen plasma bahkan pada subyek yang tampaknya sehat (misalnya trimetoprim meningkatkan kreatinin serum). Obat atau metabolitnya dapat mengganggu dalam pengujian.
2) Faktor sampling	

a) Spesimen salah	<i>Perbedaan nilai antara plasma dan serum, darah vena dan arteri, sampel urin acak dan 24 jam (misalnya potassium yang lebih tinggi dalam serum daripada di dalam plasma)</i>
b) Kesalahan pengumpulan sampel	<i>Ketiadaan inhibitor enzim yang tepat memungkinkan adanya aksi enzim lanjutan seperti katabolisme glukosa atau neuropeptida. Kegagalan untuk mengasamkan urin akan menurunkan katekolamin urin. Penggunaan EDTA akan menurunkan kalsium plasma. Kontaminasi dengan etanol, 2-propanol, atau alkohol lain yang digunakan sebagai desinfektan sebelum venepuncture dapat membatalkan uji etanol.</i>
c) Hemolisis	<i>Lisis sel darah merah dapat menyebabkan perubahan unsur penyusun plasma, terutama potassium, fosfat, dan beberapa enzim dan dapat mengganggu metode analisis.</i>
d) Kontaminasi seluler	<i>Adanya platelet yang mengikuti sentrifugasi yang salah akan meningkatkan serotonin plasma</i>
e) Penyimpanan salah atau berlebihan	<i>Beberapa senyawa dapat teroksidasi bahkan saat beku [misalnya pembentukan adrenokrom dari 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)], atau mengalami degradasi bakteri (misalnya asam amino dalam urin yang diasamkan)</i>
f) Pengambilan sampel selama infus	<i>Sampling di dekat pemberian infus akan memberi konsentrasi senyawa yang menyesatkan yang diinfuskan atau terjadi pengenceran konstituen darah lainnya</i>

Sumber: Flanagan, 2007

Sampel biologis sangat mungkin mengandung agen infeksi sehingga harus ditangani dengan hati-hati, terutama jika berasal dari penyalahguna narkoba, dan harus selalu diperlakukan seolah-olah infeksi. Risiko umum yang utama terkait dengan TB, hepatitis B, dan *human immunodeficiency virus* (HIV). Urine paling tidak mungkin bersifat infeksi. Staf yang melakukan kontak rutin dengan bahan berpotensi infeksi harus dilatih dengan benar dalam penanganan dan pembuangan sampel biologis yang aman. Staf tersebut harus divaksinasi terhadap hepatitis B, polio, tuberkulosis, dan tetanus dan kemungkinan penyakit lain di negara tertentu.

Diperkirakan sangat mungkin bahwa setelah ekstraksi pelarut atau prosedur preparasi sampel lainnya, agen infeksi menjadi tidak aktif, namun sampel dapat terus infeksi setelah inkubasi, meskipun diencerkan. Bahkan, inkubasi dapat meningkatkan titer agen infeksi. Penanganan sampel harus dilakukan dengan memperhatikan kemungkinan adanya tetesan air

ke dalam mata dan meminimalkan pembentukan aerosol (memakai pelindung mata, lakukan pencampuran dan prosedur lainnya di lemari asam atau safety cabinet, selalu gunakan tabung sentrifus yang dapat disegel atau alat pemotong dengan rotor yang dapat dilubangi). Tabung sampel yang tertutup rapat lebih disukai dari pada sumbat push-in karena ada sedikit risiko pembentukan aerosol saat membuka tabung.

B. JENIS-JENIS SAMPEL

Sampel klinis untuk uji toksikologis dapat dibagi menjadi: (i) cairan darah dan cairan terkait, (ii) cairan tubuh selain darah, (iii) cairan atau residu ekskretori, dan (iv) spesimen klinis lainnya (Tabel 3.2). Sejumlah spesimen tambahan dapat dikumpulkan untuk tujuan toksikologi. Tindakan pencegahan khusus akan dibutuhkan untuk analit yang tidak stabil. Sebagian besar senyawa yang diukur dalam urin dapat dianggap stabil setidaknya beberapa jam pada suhu kamar karena urin mungkin telah ditahan pada suhu tubuh untuk beberapa saat sebelum dikeluarkan (Flanagan, 2007).

1. Darah

a. Darah arteri

Darah arteri biasanya dikumpulkan oleh seorang praktisi medis yang berpengalaman karena ini adalah prosedur yang relatif berbahaya, dilakukan untuk pengukuran gas darah dan biasanya tidak diajukan untuk analisis toksikologi. Darah kapiler, yang mendekati darah arterial, dapat diperoleh dengan menusuk tumit, lobang jari atau telinga, prosedur ini paling sering dilakukan pada anak kecil.

b. Darah vena

Darah vena diperoleh dengan venepuncture (biasanya) vena median cubital lengan yang jauh dari lokasi infus. Dapat menggunakan spuit dan jarum suntik (1-50 mL) atau sistem sampling vakum komersial seperti Vacutainer dapat digunakan. Sebuah turniket dapat digunakan untuk membendung vena sebelum venepuncture, namun harus segera dilepaskan sebelum pengambilan sampel. Untuk sampling berulang, kanula kecil dapat dimasukkan ke dalam pembuluh darah di lengan atau tangan, yang memungkinkan akses vena melalui septum karet. Namun, patensi mungkin menjadi masalah karena ada risiko: (i) menginduksi hemolisis dan (ii) kontaminasi spesimen karena penggunaan larutan antikoagulan dengan alat tersebut.

Setelah venepuncture, darah harus dipindahkan ke wadah yang tepat sesegera mungkin. Beberapa analit dasar dan senyawa amonium kuaterner, misalnya antidepresan trisiklik dan paraquat, dan aluminium terikat pada kaca. Tabung plastik lebih disukai dan juga cenderung pecah daripada kaca, terutama jika dibekukan. Di sisi lain, jika pelarut volatil atau gas anestesi, misalnya, harus dianalisis maka gelas lebih disukai jika tersedia.

Jika darah telah dikumpulkan ke dalam spuit, jarum harus dikeluarkan dan darahnya dibiarkan mengalir dengan lancar ke dalam tabung sampel untuk mencegah hemolisis. Kemudian diikuti dengan pencampuran lembut untuk memastikan kontak dengan antikoagulan, jika digunakan.

Bahkan hemolisis ringan pun akan membuat besi serum atau tes kalium berlebih, dan mungkin mengakibatkan analit lain dalam plasma atau serum terkonsentrasi pada sel darah merah seperti chlortalidone meninggalkan plasma atau serum yang kontak dengan sel darah merah, dapat menyebabkan perubahan karena aktivitas enzimatis atau redistribusi analit antara sel dan plasma. Secara umum, plasma atau serum harus dipisahkan dari sel darah sesegera mungkin. Jika perlu, seluruh darah dapat disimpan pada suhu -20°C atau di bawahnya, namun pembekuan akan melisiskan sebagian besar jenis sel.

Penting untuk menggunakan serum atau plasma dengan antikoagulan yang direkomendasikan untuk pengukuran tertentu dan tidak mengganti alternatif tanpa pertimbangan cermat. Tabung yang mengandung 0,5 atau 1 mL antikoagulan natrium sitrat dalam larutan berair dan karenanya tidak sesuai untuk pekerjaan kuantitatif. Selanjutnya, pengenceran sampel dapat mengurangi tingkat pengikatan protein plasma dan akibatnya distribusi analit plasma - sel darah merah. Harus dipastikan bahwa antikoagulan heparin lithium tidak digunakan jika lithium plasma diukur. Heparin juga telah diketahui mengganggu dalam analisis obat.

c. Darah dan cairan terkait

- 1) Darah utuh (*whole blood*) adalah cairan yang bersirkulasi melalui arteri, kapiler dan vena. Tubuh manusia dewasa mengandung sekitar 5-6 liter darah. Ini terdiri dari plasma dan sel darah. Jika seluruh darah dianalisis, sampel harus dikumpulkan ke dalam antikoagulan yang tepat, dicampur, dan kemudian dibekukan untuk melisiskan sel sebelum analisis (Catatan: darah tersembunyi adalah darah yang ditemukan hanya dalam jumlah jejak terutama pada faeces. Ini tidak digunakan sebagai sampel analitis).
- 2) Sel darah termasuk sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (limfosit, leukosit), trombosit) dll. Semua dapat diperoleh dari darah yang baru dikumpulkan dengan prosedur yang sesuai.
- 3) Cairan serebrospinal (*cerebrospinal fluid* = CSF) adalah ultrafiltrasi plasma (komposisinya adalah plasma kecuali protein MR tinggi yang tidak ada) yang mengelilingi elemen sistem saraf pusat (SSP). Cairan ini diperoleh dengan tusukan lumbal (aspirasi jarum dari sumsum tulang belakang) dan biasanya dikumpulkan ke dalam tabung steril.
- 4) Darah tali pusat diperoleh dari tali pusat saat parturisi. Biasanya darah tali pusat diperoleh untuk mencerminkan neonatal, berlawanan dengan darah plasenta. Untuk mendapatkan plasma atau serum tergantung pada volume yang tersedia
- 5) Plasma adalah bagian cairan darah yang diperoleh dengan penambahan anticoagulant

- 6) Serum adalah cairan kuning pucat yang tersisa saat seluruh darah membeku. Komposisinya umumnya sama dengan plasma kecuali fibrinogen dan faktor yang terkait dengan proses penggumpalan tidak ada.

2. Cairan tubuh selain darah

- a. Cairan amnion adalah cairan yang mengelilingi janin di kantung amnion
- b. *Aqueous humor* adalah cairan berair yang menempati ruang antara kornea dan iris mata
- c. ASI adalah cairan kaya protein dan lemak yang diproduksi oleh ibu menyusui. Ekskresi pertama ASI (kolostrum) sangat kaya akan protein
- d. Aspirasi empedu adalah cairan asam yang mengandung enzim pencernaan, makanan, dan sebagainya, diperoleh dengan aspirasi dari lambung.
- e. Getah bening adalah cairan kekuningan yang berasal dari kelenjar getah bening
- f. Cairan peritoneal adalah cairan yang menumpuk di peritoneum
- g. Air liur adalah sekresi kelenjar mukosa yang kental dan jernih di mulut. Cairan ini terkait dalam komposisi plasma, tetapi juga mengandung beberapa enzim pencernaan.
- h. Semen diproduksi oleh testis dan kelenjar prostat, dan terdiri dari cairan mani (yang bisa didapat dari semen dengan sentrifugasi), dan spermatozoa.
- i. Cairan sinovial adalah cairan pelumas yang jernih dan kental yang mengisi synovium (membran yang mengelilingi sendi dan menciptakan kantung pelindung)
- j. Air mata adalah sekresi air mata yang jernih pada mata
- k. Cairan vagina adalah sekresi kental vagina
- l. Vitreous humor adalah cairan transparan dan kental yang terkandung di balik lensa di mata.

3. Cairan / residu ekskresi

- a. Empedu adalah cairan kuning-hijau tebal yang disekresikan oleh hati melalui kandung empedu ke dalam usus
- b. Udara yang dihembuskan (ekspirasi) umumnya mengandung sedikit oksigen dan lebih banyak karbon dioksida dan uap air daripada udara sekitar, namun mungkin mengandung produk metabolik volatil lainnya.
- c. Faeces adalah residu proses pencernaan yang berwarna coklat dan semi solid
- d. Keringat adalah cairan berair yang diekskresikan oleh pori-pori kulit
- e. Urin adalah cairan kuning / kuning-hijau yang dihasilkan oleh ginjal, terutama terdiri dari air, garam, urea, kreatinin, dan produk metabolik lainnya.

4. Sampel lainnya

- a. *Bronchoalveolar lavage* (BAL) diperoleh dengan mencuci bronkus / alveoli dengan larutan yang tepat dan aspirasi cairan yang dihasilkan.
- b. Calculi ('batu') adalah endapan kristal keras yang terbentuk di berbagai rongga tubuh seperti ginjal
- c. Cairan dialisis (extracorporeal atau peritoneal) adalah cairan yang tersisa setelah dialisis telah dilakukan
- d. *Gastric lavage* adalah spesimen yang diperoleh dengan cara mencuci lambung dengan larutan yang tepat dan aspirasi cairan yang dihasilkan
- e. Rambut (kepala, aksila, atau kemaluan) kadang digunakan untuk menilai keterpaparan baru-baru ini terhadap racun seperti obat-obatan terlarang atau logam berat
- f. Potongan kuku atau kuku (jari atau kaki) kadang digunakan untuk menilai terpapar obat-obatan terlarang atau logam berat
- g. *Swab* (olesan) hidung adalah cairan yang dikumpulkan ke kapas dari dalam hidung
- h. Cairan oral adalah campuran air liur, cairan gingival crevicular (cairan antara gigi / gusi), sisa-sisa seluler, darah, lendir, partikel makanan, dan bahan lain yang dikumpulkan dari mulut.
- i. Isi perut dari (i) aspirasi gastrik, (ii) cuci lambung, (iii) muntahan, atau (iv) residu di perut saat otopsi
- j. Spesimen jaringan diperoleh dengan pembedahan atau postmortem. Jaringan yang diperoleh dari janin dan / atau plasenta kadang dapat digunakan untuk analisis.
- k. Sampel biopsi adalah sampel kecil jaringan yang diperoleh dengan teknik sampling spesialis
- l. Muntahan mencerminkan komposisi aspirasi gastrik

5. Serum

Bila darah utuh dibiarkan (15 menit, suhu kamar) dalam tabung kosong (tidak ada antikoagulan), bentuk gumpalan yang akan ditarik cukup untuk memungkinkan serum dikumpulkan. Untuk banyak analisis, serum lebih disukai daripada plasma karena menghasilkan lebih sedikit presipitat (fibrin) pada pembekuan dan pencairan.

6. Plasma

Pemisahan plasma dari darah utuh dengan antikoagulan biasanya memerlukan sentrifugasi. Hubungan antara diameter rotor dari pusat, kecepatan sentrifugasi dan gaya sentrifugal relatif (*G-force*) ditetapkan.

Pada sentrifugasi darah utuh dengan antikoagulan (2000 g, 10 menit, 2-8°C jika perlu), maka akan terpisah menjadi tiga lapisan: lapisan bawah (biasanya sekitar 45% volume) terdiri dari sel darah merah; lapisan tipis antara sel darah putih dan platelet yang disebut '*buffy coat*'

adalah lapisan berikutnya; dan lapisan atas, berair, berwarna jerami adalah plasma (sekitar 50% v/v). Asalkan analit stabil, darah utuh dan antikoagulan dapat disimpan pada suhu kamar atau didinginkan (2-8°C) selama dua hari atau lebih sebelum plasma dipisahkan.

Lebih banyak plasma dapat dipisahkan dari darah utuh daripada serum. Beberapa tabung komersial mengandung zat seperti manik-manik plastik atau gel yang berada pada antarmuka antara sel dan plasma untuk membantu pengumpulan plasma. Gel pemisah (*gel separator*) dapat menyebabkan masalah pada analisis beberapa obat walaupun gel yang diformulasikan telah diklaim memiliki sedikit efek pada pengukuran obat terapeutik, tabung yang mengandung gel pemisah sebaiknya dihindari. Penggunaan tabung semacam itu akan membuat banyak analit *trace elemen* tidak ada dan dapat mengganggu analisis untuk pelarut dan volatil lainnya.

7. Sel darah

Untuk mengumpulkan eritrosit, darah heparinisasi disentrifugasi (2000 g, 10 menit), plasma, *buffy coat* dan 10% eritrosit teratas (terutama retikulosit) dikeluarkan, dan sisa eritrosit dicuci dengan larutan garam isotonik, untuk menghilangkan plasma yang terperangkap. Sel dapat digunakan secara langsung atau beku, baik untuk menyebabkan hemolisis, atau untuk penyimpanan. Trombosit biasanya diisolasi dengan sentrifugasi yang lambat (misalnya 300 g, 15 menit) dari darah utuh untuk menghasilkan plasma kaya trombosit, kemudian disentrifugasi (2000 g, 10 menit) untuk memisahkan trombosit. Sel darah putih lainnya paling sering diperoleh dengan sentrifugasi melalui media kepadatan yang sesuai (sesuai petunjuk pabriknya) atau diisolasi dengan teknik antibodi fase padat.

8. Urin

Spesimen urin yang berbeda, misalnya acak, pagi hari, 24 jam, dapat dikumpulkan dalam perjalanan studi metabolik atau lainnya. Dalam studi metabolisme, penting untuk mencatat waktu awal dan akhir periode pengumpulan sehingga tingkat produksi urin dapat dihitung. Sampel urin acak adalah spesimen *midstream* – diberi pengawet, seperti 2 mol asam klorida per liter ditambahkan setelahnya. Urin segar berwarna kuning / kuning-hijau, namun pada penyimpanan dalam larutan asam berubah warna menjadi kuning / coklat dan bahkan sampai coklat tua karena oksidasi urobilinogen menjadi urobilin. Kristal, terutama asam urat dan kalsium oksalat, dapat menyebabkan kekeruhan.

Spesimen urin acak, pagi hari, atau *end-of-shift* dikumpulkan, adalah cara umum untuk menghubungkan hasil analisis tertentu dengan konstituen urin 'tetap' seperti kreatinin, yang dianggap diekskresikan pada tingkat yang relatif konstan pada subjek normal.

Konsentrasi banyak obat dan metabolit, dan beberapa konstituen endogen, akan tetap sama dalam urin yang diasamkan selama lebih dari seminggu pada suhu kamar, dan sampai

satu bulan pada 2-8°C. Urin yang tidak diasamkan mengalami serangan mikrobiologis dan banyak perubahan terjadi, termasuk hilangnya asam amino.

9. Isi lambung

Spesimen ini meliputi muntahan, aspirasi lambung dan cairan lambung serta isi perut pada postmortem. Sifat sampel ini bisa sangat bervariasi dan prosedur tambahan seperti homogenisasi diikuti dengan penyaringan dan / atau sentrifugasi mungkin diperlukan untuk menghasilkan cairan yang dapat diperiksa.

10. Faeces

Analisis feces jarang dilakukan, namun kadang-kadang analisis obat dan kemungkinan metabolit mungkin diperlukan dalam studi farmakokinetik dan metabolisme. Analisis mungkin juga diminta jika, misalnya, muncul pertanyaan tentang kebocoran obat dari paket obat antemortem yang ditelan. Tidak seperti plasma, urin, dan sampel cairan lainnya, faeces tidak homogen, dan oleh karena itu seringkali diperlukan untuk menganalisis keseluruhan sampel atau menghomogenkan seluruh sampel dan membuktikan bahwa fraksi yang diambil untuk analisis mewakili keseluruhan. Diperlukan lebih dari sehari sebelum obat oral atau metabolit obat muncul dalam faeces.

11. Jaringan

Spesimen histologi biasanya dikumpulkan ke dalam bahan pengawet seperti formalin (larutan formaldehide dalam air). Perlakuan awal semacam itu harus diingat jika analisis toksikologi dilanjutkan. Sampel jaringan yang diperoleh postmortem biasanya disimpan pada suhu 4°C sebelum analisis (Flanagan, 2007).

C. PEDOMAN PENGUMPULAN SAMPEL TOKSIKOLOGIS

Banyak prosedur toksikologi analitis memerlukan pengumpulan darah, urin, isi lambung, dan 'residu kasus', yaitu bahan, botol, tablet atau semacamnya yang ditemukan di tempat kejadian (Tabel 3.2). Sampel cairan dan jaringan lain yang sesuai juga harus dikumpulkan secara rinci, terutama saat menyelidiki kematian, namun mungkin tidak diperlukan untuk analisis kecuali jika diperlukan penyelidikan khusus.

Tabel 3.2 Jenis-jenis sampel toksikologis

Sampel	Catatan
darah	10 mL (tabung heparin lithium atau tabung EDTA - gunakan fluoride / oksalat jika dicurigai etanol; gunakan tabung plastik jika dicurigai paraquat;

	gunakan tabung kaca atau plastik dengan <i>headspace</i> minimal jika dicurigai karbon monoksida atau senyawa volatil lainnya) Pada pemeriksaan postmortem, kumpulkan dari vena femoral atau vena perifer lainnya yang memastikan tidak ada kontaminasi, masukkan ke dalam 2% (w/v) NaF dan yang lainnya ke dalam tabung biasa.
plasma/serum	5 ml
urin	20 – 50 ml Biasanya satu-satunya sampel yang diperlukan untuk penyalahgunaan obat terlarang Natrium fluorida (2%, b / v) harus ditambahkan jika etanol dicurigai dan darah tidak tersedia
cairan lambung	20 – 50 ml Termasuk muntahan, cairan lambung (bilas lambung)
Cairan mata	vitreous humor (sebanyak mungkin yang ada, kumpulkan secara terpisah dari kedua mata),
Empedu	2 ml atau hati (sekitar 5 g) dapat menggantikan urin dalam pemeriksaan postmortem
Jaringan lain	otak, hati, ginjal, paru-paru, lemak subkutan (± 5 g) mungkin juga berharga, terutama jika dicurigai kasus keracunan pelarut organik atau racun volatil lainnya
“Residu kejadian”	Secukupnya (botol, tablet, wadah minuman, tabung aerosol, dan sebagainya - bungkus seluruhnya, terpisah dari sampel biologis, terutama jika keracunan racun volatil.

Catatan: Volume yang lebih kecil seringkali bisa diterima, misalnya dalam kasus anak kecil

Sumber: Flanagan, 2007

Hanya ada sedikit informasi tentang distribusi obat dalam jaringan padat pada manusia; koleksi sekitar 5 g spesimen dari beberapa lokasi pada organ seperti otak dianjurkan, jika keseluruhan organ tersedia. Organ hati diambil lobus kanan. Kelebihan dan kekurangan berbagai spesimen dijelaskan pada Tabel 3.3.

Jika keracunan dicurigai, sampel darah 10 mL (tabung heparin lithium atau EDTA) dapat diambil dari orang dewasa (secara proporsional kurang dari anak kecil) sesegera mungkin, misalnya setelah masuk rumah sakit. Selain itu, 2 mL darah harus dikumpulkan dalam tabung fluoride / oksalat jika dicurigai etanol. Perhatikan bahwa tabung jenis ini untuk penggunaan klinis hanya mengandung sekitar 0,1% (w/v) fluorida, sedangkan sekitar 2% (w/v) fluorida (40 mg sodium fluorida per 2 mL darah) diperlukan untuk menghambat sepenuhnya aktivitas

mikroba pada spesimen. Penambahan fluoride juga membantu melindungi obat labil lainnya seperti clonazepam, kokain, dan nitrazepam dari degradasi. Penggunaan penyeka desinfektan yang mengandung alkohol harus dihindari, gunakan antikoagulan larutan heparin yang mengandung pengawet fenol.

Tabel 3.3 Kelebihan dan kekurangan beberapa sampel

Jenis Sampel	Kelebihan	Kekurangan	Catatan
Darah (serum/ plasma/ darah utuh)	Deteksi senyawa induk Interpretasi data kuantitatif	Volume terbatas Konsentrasi rendah obat-obatan tertentu dan beberapa racun lainnya	Interpretasi hasil kuantitatif dari darah postmortem mungkin sulit dilakukan
Urin	Bisa diperoleh volume besar Konsentrasi tinggi untuk banyak racun	Tidak selalu tersedia Data kuantitatif tidak terlalu berguna	Sampel standar untuk penyalahgunaan obat terlarang
Aspirasi lambung (isi perut, cuci perut, muntahan, dll)	Mungkin mengandung racun dalam jumlah besar, terutama jika tertelan	Sampel sangat bervariasi. Tidak ada gunanya jika racun terhirup atau suntikan	Pastikan tidak ada kontaminasi silang dengan spesimen lain selama pengangkutan atau penyimpanan
Air liur / cairan oral	Non-invasif Informasi kualitatif tentang paparan banyak obat	Sampel variabel, sedikit gunanya untuk pemeriksaan kuantitatif. Konsentrasi analit rendah	Pola metabolit yang berbeda terhadap darah atau urin untuk banyak analit
Potongan rambut / kuku atau potongan kuku	Biasanya tersedia bahkan jika sudah terjadi dekomposisi	Dibutuhkan metode dengan sensitivitas tinggi. Hanya memberikan data paparan untuk hari / minggu / bulan sebelum kematian	Mudah disimpan
Udara ekspirasi	Tidak invasif Volume besar tersedia	Hanya pasien hidup Hanya untuk analit yang menguap	Terutama digunakan untuk menilai konsumsi etanol

Jenis Sampel	Kelebihan	Kekurangan	Catatan
			dan keracunan karbon monoksida
Residu kejadian (botol tablet, kaleng aerosol, sisa tablet dll di dekat pasien)	Mungkin mengandung sejumlah besar racun	Mungkin tidak pernah racunnya diambil	Pastikan tidak ada kontaminasi silang spesimen lain selama pengangkutan / penyimpanan
Cairan vitreus	Bisa digunakan sebagai pengganti urine jika yang terakhir tidak tersedia	Volume terbatas tapi biasanya dua spesimen	Analisis mungkin bermanfaat untuk membantu menginterpretasikan data darah postmortem
Organ atau jaringan: liver, ginjal, paru-paru, otak	Mungkin mengandung sejumlah besar racun. Jika tersedia maka jumlahnya banyak	Interferensi dalam analisis. Data kuantitatif tidak selalu mudah ditafsirkan	Analisis mungkin bermanfaat untuk membantu menginterpretasikan data darah postmortem

Sumber: Flanagan, 2007

D. PENGAMBILAN DAN PENANGANAN SAMPEL

Secara umum, spesimen biologis harus disimpan pada suhu 4°C sebelum diangkut ke laboratorium. Pengecualian untuk ini termasuk rambut dan kuku, yang stabil pada suhu kamar, dan kertas saring yang diadsorpsi darah kering, yang merupakan cara mudah untuk menyimpan dan mengangkut sampel darah untuk analisis tertentu jika transportasi dan penyimpanan berpendingin tidak ada.

Setiap botol spesimen harus disegel dengan aman untuk mencegah kebocoran, dan dikemas secara terpisah dalam kantong plastik terpisah. Perhatian khusus harus diberikan pada kemasan sampel yang akan dikirim melalui pos atau kurir agar sesuai dengan peraturan kesehatan dan keselamatan saat ini. Volume sampel atau jumlah yang lebih kecil dari yang ditunjukkan pada Tabel 2.4 cukup memadai untuk melengkapi analisis yang dibutuhkan. Pengiriman sampel yang sangat kecil dapat mengurangi sensitivitas dan cakupan analisis yang dilakukan, namun sampel semacam itu harus selalu diteruskan ke laboratorium. Spesimen sisa harus disimpan pada suhu -20°C atau di bawah sampai penyelidikan atas kejadian telah selesai.

Dalam pemeriksaan postmortem, penggunaan tabung plastik keras sekali pakai (polystyrene) steril direkomendasikan. Jika tidak tersedia, wadah dengan penutup yang aman sesuai dengan volume spesimen harus digunakan. Beberapa laboratorium menyediakan wadah spesimen untuk mengumpulkan spesimen darah dan urine postmortem. Penting untuk dicatat jika urin diperoleh dengan menggunakan kateter. Kemasan yang sesuai untuk pengiriman spesimen melalui pos juga dapat diberikan. Saat kematian terjadi di rumah sakit dan keracunan dicurigai, spesimen antemortem residual harus diperoleh sebagai dari laboratorium patologi rumah sakit (tidak hanya patologi dan hematologi kimiawi, tetapi juga imunologi, obat transfusi, dan virologi mungkin sumber spesimen semacam itu) dan diajukan untuk analisis toksikologi selain spesimen postmortem. Perhatikan bahwa ketersediaan spesimen ante atau peri-mortem tidak meniadakan kebutuhan untuk mengumpulkan spesimen postmortem.

Semua sampel organ dan jaringan, dan setiap botol tablet atau residu kejadian, harus ditempatkan di wadah terpisah untuk menghindari kemungkinan kontaminasi silang. Sampling melalui jaringan yang mengandung konsentrasi analit tinggi dapat menyebabkan kontaminasi sampel.

Semua sampel organ dan jaringan, dan setiap botol tablet atau residu pemandangan, harus ditempatkan di wadah terpisah untuk menghindari kemungkinan kontaminasi silang. Sampling melalui jaringan yang mengandung konsentrasi analit tinggi dapat menyebabkan kontaminasi sampel.

Integritas sampel adalah perhatian utama jika ada implikasi medicolegal karena bukti mungkin diperlukan di pengadilan. Tindakan pencegahan untuk memastikan integritas sampel meliputi: (i) pelabelan sampel yang tepat, (ii) penggunaan wadah anti-tamper, (iii) pengumpulan sampel seperti rambut, kuku, dan darah femoral sebelum tindakan otopsi, dan (iv) dokumentasi yang tepat (dokumen *chain of custody*). Sampel yang dikumpulkan untuk tujuan klinis (atau bahkan untuk petugas pemeriksa mayat) seringkali bukan merupakan bukti yang baik, namun sampel semacam itu mungkin merupakan sampel yang tersedia. Uji DNA dapat digunakan untuk menentukan asal sampel dimana ada kekhawatiran terhadap integritas sampel.

A. Darah (untuk pemeriksaan kuantitatif)

Dalam toksikologi analitis, plasma atau serum biasanya digunakan untuk pengujian kuantitatif. Namun, beberapa racun seperti karbon monoksida, sianida dan banyak senyawa organik volatil lainnya, timbal dan logam berat lainnya, dan beberapa obat, seperti chlortalidone, ditemukan terutama pada atau terikat dengan eritrosit dan dengan demikian darah utuh hemolitik harus digunakan untuk pengukuran semacam itu. Ruang di atas darah di

dalam tabung (*headspace*) harus diminimalkan jika karbon monoksida, pelarut, atau bahan volatil lainnya dicurigai.

Jika sampel telah dikumpulkan dan disimpan dengan benar, biasanya tidak ada perbedaan signifikan dalam konsentrasi racun antara plasma dan serum. Namun, jika senyawa tidak ditemukan sampai batas tertentu dalam eritrosit maka menggunakan seluruh darah utuh akan menghasilkan sekitar dua kali lipat dari spesimen. Darah dengan antikoagulan heparin atau EDTA akan menghasilkan darah utuh atau plasma yang sesuai. Obat-obat *immunosuppressive* ciclosporin, sirolimus, dan tacrolimus adalah kasus khusus karena redistribusi antara plasma dan eritrosit dimulai setelah sampel dikumpulkan dan penggunaan seluruh darah hemolitik diindikasikan untuk pengukuran senyawa ini.

Untuk memaksimalkan keandalan pengukuran yang dilakukan pada darah postmortem, direkomendasikan agar: (i) interval antara kematian dan pemeriksaan postmortem diminimalkan, (ii) sampel disimpan pada suhu 4°C sebelum pemeriksaan / setelah pengumpulan, (iii) darah dikumpulkan dari dua lokasi perifer yang berbeda, lebih disukai vena femoralis, setelah mengikat vena secara proksimal ke lokasi pengambilan sampel, dan (iv) pengawet [2% (w / v) fluorida] ditambahkan ke sebagian sampel darah / sampel dari satu vena, dan ke urine. Lokasi pengambilan sampel darah yang tepat harus dicatat, juga waktu sampling dan (perkiraan) waktu kematian jika diketahui.

Jika sampel cukup diperoleh, ini harus dibagi antara tabung yang tidak diawetkan dan diawetkan (fluoride), jika seluruh sampel harus diawetkan kecuali ada kemungkinan keracunan dengan fluorida atau senyawa yang menimbulkan fluorida *in vivo*, seperti fluoroasetat (Flanagan, 2007).

B. Darah (untuk analisis kualitatif)

Darah postmortem (sekitar 20 mL) untuk analisis kualitatif harus diambil dari jantung (sebaiknya atrium kanan), vena kava inferior, atau pembuluh darah besar lain yang mudah. Tempat pengambilan sampel yang tepat harus dicatat pada tabung sampel, darah harus bebas mengalir. Acuan pengambilan sampel darah dan urin pada Tabel 3.5 (Flanagan, 2007).

C. Urin

Urin berguna untuk 'uji penyaringan racun' (*screening test*) karena sering tersedia dalam volume besar dan mungkin mengandung konsentrasi obat atau racun lain yang lebih tinggi, atau metabolitnya, daripada darah. Keberadaan metabolit terkadang membantu identifikasi racun jika teknik kromatografi digunakan. Spesimen 50 mL dari orang dewasa, dikumpulkan dalam wadah steril yang disegel, cukup untuk sebagian besar tujuan. Tidak ada bahan pengawet yang harus ditambahkan. Sampel harus diperoleh segera setelah keracunan dicurigai, idealnya sebelum ada terapi obat yang dimulai. Namun, beberapa obat, seperti

antidepresan trisiklik (amitriptyline, imipramine, dll.), menyebabkan retensi urin, dan spesimen yang sangat awal mungkin mengandung sejumlah obat yang tidak signifikan. Sebaliknya, sedikit racun mungkin tertinggal dalam spesimen yang diambil berjam-jam atau sehari-hari setelah terpapar meski pasien mungkin sangat sakit, misalnya seperti pada keracunan parasetamol akut.

Beberapa bakteri urin memiliki enzim yang mampu mengubah metabolit triptofan menjadi zat yang berinteraksi dengan plastik kantong wadah urin untuk menghasilkan indirubin (merah) dan nila (biru) yang memberikan warna ungu / hitam yang intens.

Konsentrasi tinggi beberapa obat atau metabolit dapat memberi warna khas pada urin. Racun berbau kuat seperti kamper, etchlorvynol, dan methylsalicylate terkadang dapat dikenali dalam urin karena diekskresi sebagian dalam bentuk tidak berubah. Aseton bisa timbul dari metabolisme 2-propanol. Terapi kronis dengan obat-obatan sulfa seperti sulfonamide dapat menimbulkan kristal kuning atau hijau / coklat dalam urin netral atau alkali. Phenytoin, primidone, dan sultiame dapat menimbulkan kristal dalam urine setelah overdosis. Ciri khas kristal tak berwarna kalsium oksalat dapat terbentuk pada pH netral setelah tertelan etilena glikol, asam oksalat, atau oksalat yang larut dalam air. Fluoresensi urin mungkin karena fluorescein ditambahkan ke antibeku mobil (sering mengandung etilen glikol dan / atau metanol) dan mungkin untuk produk lain untuk membantu deteksi kebocoran.

Untuk pemeriksaan postmortem, jika mungkin, sampel urine 2 × 25 mL harus dikumpulkan dalam wadah plastik steril, satu dengan pengawet (2%, w/v fluorida). Jika hanya sejumlah kecil urin yang tersedia, semua harus diawetkan dengan fluorida (tapi lihat catatan keracunan fluorida di atas) pada tabung plastik atau gelas 5 mL polos. Asam borat atau thiomersal [thimerosal; natrium 2- (etilmercuriothio) benzoat] tidak boleh digunakan karena kontaminasi sampel dengan borat dan merkuri. Spesimen urin yang dikumpulkan postmortem sangat berharga dalam skrining untuk obat-obatan terutama obat-obatan terlarang, dan sering digunakan untuk analisis etanol kuantitatif untuk menguatkan hasil analisis darah (Flanagan, 2007).

D. Isi lambung

Bilas lambung (*gastric lavage*) jarang dilakukan saat ini dalam mengobati keracunan akut. Namun, jika sampel isi perut diperoleh segera setelah episode keracunan, sejumlah besar racun mungkin ada sementara metabolit biasanya tidak ada. Saat menyelidiki kemungkinan keracunan, penting untuk mendapatkan sampel pertama dari cairan pembasah karena sampel selanjutnya mungkin sangat encer. Cuplikan sampel (sekitar 50 mL) tanpa bahan pengawet harus diambil untuk analisis. Namun, semua isi perut harus disimpan dan

volume dicatat. Jika konsentrasi darah sulit ditafsirkan, terutama pada pemeriksaan postmortem, akan sangat membantu mengukur jumlah racun yang ada di lambung.

Isi perut sangat berguna jika racun yang tidak mudah diukur secara valid dalam darah, seperti sianida, telah dikonsumsi secara oral. Namun, perhatian besar diperlukan jika garam sianida atau fosfida, misalnya aluminium fosfida, diperkirakan telah tertelan, terutama pada saat perut kosong, karena gas sianida hidrogen atau fosfin yang sangat beracun dapat dilepaskan karena reaksi dengan asam lambung. Selain itu, adanya senyawa ini dan bahan-bahan volatil lainnya dapat menyebabkan kontaminasi silang spesimen biologis lainnya kecuali jika tindakan pencegahan dilakukan (Flanagan, 2007).

E. Air liur / cairan oral

Meskipun tidak biasanya dipertimbangkan dalam pekerjaan darurat klinis atau postmortem, ada banyak alasan pengumpulan air liur atau cairan oral dari individu yang hidup karena pengumpulannya tidak invasif dan mencerminkan penggunaan obat atau alkohol saat itu. Namun, pengumpulan air liur yang valid membutuhkan kerjasama dengan individu. Beberapa obat, kondisi medis, atau kegelisahan, misalnya, dapat menghambat sekresi air liur sehingga spesimen mungkin tidak tersedia dari semua individu setiap saat. Karena air liur adalah cairan kental yang kurang mudah dituangkan atau dipipet dibandingkan plasma atau urine, dianjurkan pengenceran dengan buffer penyangga berair. Jika pengenceran dilakukan dengan buffer, faktor pengenceran harus diperhitungkan dalam laporan kuantitatif. Pengumpulan cairan oral untuk keperluan forensik memiliki keuntungan bahwa pengambilan sampel dapat dilakukan sementara donor diawasi, sehingga sulit untuk memalsukan atau mengganti spesimen.

Kelenjar liur normal yang tidak distimulasi tidak mengeluarkan air liur. Namun, banyak rangsangan akan menyebabkan air liur dan bahkan saat tidur biasanya ada stimulasi yang cukup untuk mendapatkan aliran air liur yang sangat kecil (biasanya 0,05 mL per menit). Meludah biasanya cukup untuk mendapatkan aliran air liur sekitar 0,5 mL per menit. Meskipun air liur dapat dikumpulkan dari kelenjar parotid dengan kanulasi saluran kelenjar, pengumpulan air liur campuran secara keseluruhan biasanya merupakan satu-satunya alternatif praktis.

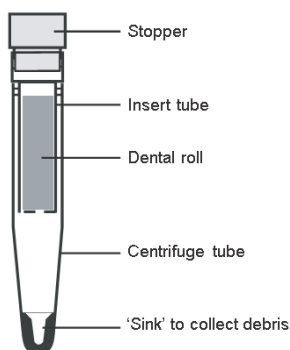
Pada subyek yang sehat, cairan *gingival crevicular* dapat membentuk hingga 0,5% volume air liur campuran: proporsi ini meningkat secara nyata pada pasien radang gusi. Eksudat plasma dari lecet mulut kecil mungkin juga berkontribusi. Oleh karena itu, subjek tidak boleh menyikat gigi atau melakukan cara lain untuk kebersihan mulut selama beberapa jam sebelum air liur dikumpulkan.

Mengunyah lilin parafin, Parafilm, karet gelang, atau permen karet biasanya akan menghasilkan aliran air liur 1-3 mL per menit. Penggunaan tetes asam lemon atau beberapa

tetes 0,5 mol/L asam sitrat adalah salah satu strategi kimia yang diadopsi untuk merangsang aliran air liur. Air liur harus dibiarkan mengumpul di mulut sampai keinginan untuk menelan terjadi sebelum dikeluarkan ke dalam bejana pengumpul. Merangsang aliran air liur dapat memudahkan koleksi volume yang relatif besar dalam waktu singkat. Selain itu, pH air liur yang distimulasi secara fisik sekitar 7,4 sedangkan pH air liur yang tidak distimulasi menunjukkan variabilitas yang lebih besar yang dapat mempengaruhi sekresi asam lemah dan basa. Namun, setiap stimulus fisik atau kimia yang digunakan selama pengumpulan tidak boleh diserap atau memodifikasi senyawa yang akan diukur, juga tidak menimbulkan faktor yang mengganggu prosedur pengujian. Lilin parafin dan parafilm, misalnya, dapat menyerap molekul lipofilik yang sangat tinggi, dan penggunaan stimulan asam seperti asam sitrat dapat menyebabkan perubahan pH saliva yang dapat mengubah tingkat sekresi senyawa yang dapat diionkan (Flanagan, 2007).

Alat pengumpul cairan liur / oral

Pengumpulan sampel cairan oral dapat menggunakan gulungan Salivette (Sarstedt) gulungan katun-gigi (poliester) yang dikunyah selama 30-45 detik dengan atau tanpa rangsangan lebih lanjut. Perangkat ini tersedia dengan atau tanpa sitrat. Gulungan yang sudah menyerap air liur ditempatkan dalam wadah dan ditutup dengan stopper plastik. Wadah disentrifugasi (3 menit, 1000 g) di dalam tabung polistiren. Selama centrifugasi, air liur berpindah dari gulungan katun gigi mengumpul ke bagian bawah tabung. Sisa-sisa seluler dan lainnya ditahan di dasar tabung pada penampung kecil (Gambar 3.1)



Gambar 3.1 Tabung pengumpul saliva
(Flanagan, 2007)

Keuntungan dari salivet adalah dapat menyerap volume air liur yang relatif besar (1,5 mL), walaupun ada kerugiannya adalah bahwa katun penyerap mengganggu beberapa tes, seperti testosteron. Alat pengumpulan lainnya (OraSure) hanya menyerap 1,0 mL. Pengumpulan cairan oral dapat menggunakan bantalan yang ditempatkan di antara pipi dan gusi (Flanagan, 2007).

F. Keringat

Pengumpulan keringat disarankan sebagai alat untuk menguji obat-obatan terlarang. Keringat dapat dikumpulkan karena cairan keringat atau tisu dahi dapat digunakan. Sebagai alternatif, bantalan (*patch*) yang ditempel pada kulit bisa digunakan (Gambar 3.2). Penumpukan keringat adalah tindakan non-invasif dan tersedia alat secara komersial dapat dipakai untuk waktu yang lama (10-14 hari atau lebih). Keringat dapat mendeteksi penggunaan obat yang terjadi sesaat sebelum *patch* ditempelkan dan sementara perangkat tetap bersentuhan dengan kulit.

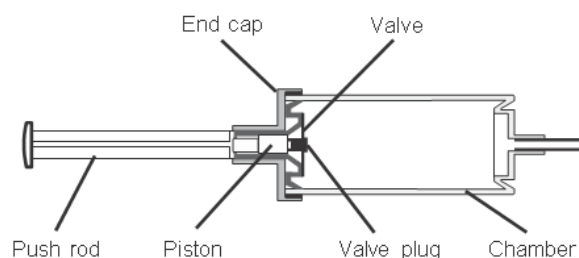


Gambar 3.2 Bantalan (*patch*) pengambil sampel keringat

Sumber: <https://totalcourtservices.com/drug-testing/>

G. Udara ekspirasi

Pengukuran konsentrasi zat volatil dalam udara yang dihembuskan (ekspirasi) oleh alat inframerah atau perangkat lainnya penting dalam pengujian di pinggir jalan untuk etanol dan berharga dalam menilai paparan racun seperti karbon monoksida. MS langsung dari udara yang dihembuskan juga dapat mendeteksi banyak senyawa termasuk senyawa volatil dan kemungkinan anestesi intravena beberapa hari setelah penggunaan. Namun, penggunaan teknik terbatas hanya dari subjek atau pasien yang masih hidup. Demikian pula, pengumpulan udara yang dihembuskan ke kantong plastik impertif (Tedlar atau PTFE), atau melalui alat khusus (Gambar 3.3) dapat memfasilitasi sejumlah analisis volatil dan metabolit melalui analisis GC atau GC-MS berikut.



Gambar 3.3 Pengambil Sampel Udara Ekspirasi (Sumber: Flanagan, 2007)

H. Cairan serebrospinal

Cairan serebrospinal (*cerebrospinal fluid*=CSF) yang dikumpulkan melalui aspirasi jarum kadang-kadang digunakan untuk menilai keterpaparan pada obat-obatan saraf pusat (Shen et al., 2004), dan dapat diajukan untuk analisis kemungkinan kesalahan pemberian obat. Seperti halnya dengan vitreous humor dan cairan sinovial, CSF pada umumnya berada dalam lingkungan yang relatif terlindungi, dan dengan demikian juga dapat memberikan sampel berharga untuk pengukuran etanol misalnya, jika sampel lain tidak tersedia.

I. Cairan Vitreus

Vitreous humor kadang dapat diperoleh bahkan jika mayat telah terbakar atau rusak secara luas, jika pembusukan mulai terjadi, atau jika sampel seperti urine tidak tersedia. Spesimen ini mungkin sangat berguna saat menyelidiki kematian terkait diabetes atau insulin, dan untuk analisis alkohol, digoksin, litium, dan beberapa senyawa lainnya. Humor vitreous pada dasarnya adalah larutan garam dengan sedikit protein, dan dengan demikian setiap racun atau metabolit yang ada seringkali dapat diekstraksi seolah-olah berada dalam larutan buffer. Sampel harus dikumpulkan dari masing-masing mata secara terpisah, dan pengawet sodium fluorida (2%, b/v) ditambahkan. Perhatian harus diberikan selama pengambilan sampel karena penghisapan yang berlebihan dapat menyebabkan perubahan konsentrasi beberapa analit yang signifikan (Flanagan, 2007).

J. Cairan sinovial

Cairan sinovial yang dikumpulkan melalui aspirasi jarum telah digunakan, misalnya untuk menilai serapan obat peradangan nonsteroid ke tempat tindakan yang mungkin terjadi. Seperti halnya CSF dan humor vitreous, pengumpulan cairan sinovial juga dapat membantu jika terjadi kematian traumatis atau dekomposisi yang luas karena cairan ini dalam lingkungan yang relatif terlindungi (Flanagan, 2007).

K. Hati

Hati mudah didapat postmortem dan mudah dihomogenisasi. Hati dapat mengandung sejumlah besar obat-obatan dan metabolit, dan mungkin merupakan spesimen utama yang diajukan untuk analisis jika darah tidak tersedia. Sebagian (10-20 g) jaringan hati yang tidak diolah (tidak diawetkan) harus dikumpulkan. Sampel harus diambil dari lobus kanan jika memungkinkan untuk mengurangi risiko kontaminasi dengan empedu karena penyebaran racun dari lambung mungkin terjadi pada lobus kiri. Analisis dengan sampel hepar dapat membantu untuk menentukan apakah paparan akut atau kronis (Flanagan, 2007).

L. Jaringan lainnya

Sampel jaringan lainnya mungkin berguna saat menyelidiki kematian dimana zat volatil seperti pelarut atau gas terlibat. Otak, lemak subkutan, paru-paru, limpa, dan ginjal adalah

yang paling berguna; 10-20 g berat basah jaringan yang tidak diolah harus dikumpulkan ke dalam wadah terpisah. Spesimen harus ditempatkan dalam toples spesimen atau tas nilon dan dibekukan sebelum diangkut ke laboratorium, dengan hati-hati (tabung yang terlalu penuh dapat pecah saat dibekukan).

Pengukuran konsentrasi racun tertentu dari otak mungkin berguna dalam kasus tertentu, misalnya kematian terkait kokain. Limpa kaya akan eritrosit dan karenanya dapat memberikan spesimen alternatif yang berharga untuk mengukur saturasi karboksimoglobin jika darah tidak tersedia (Flanagan, 2007).

M. Jaringan Keratin (rambut dan kuku)

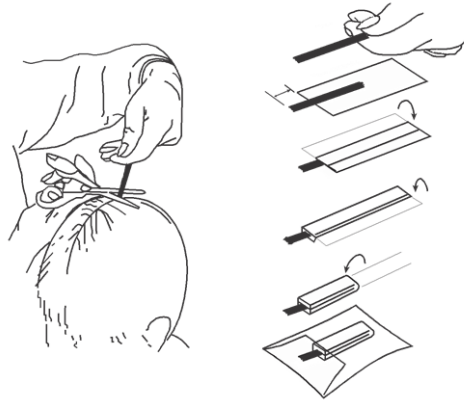
Banyak ion logam, obat-obatan dan metabolitnya terikat pada rambut dan kuku saat terbentuk, dan tidak dimetabolisme lebih jauh. Sampel ini mungkin berguna jika dugaan paparan kronis, misalnya kematian terkait dengan penyalahgunaan obat terlarang (khususnya opiat dan metadon) dimana penggunaan obat baru-baru ini sangat penting, dan untuk racun yang mungkin telah dieliminasi dari cairan dan jaringan sampel yang umum lainnya sebelumnya. Lidocaine, heroin dan kokain, telah dipantau di rambut. Rambut juga bisa bertahan lebih lama setelah pemakaman daripada jaringan lain. Jika terpapar satu racun yang dicurigai, namun racun yang dicurigai tidak terdeteksi dalam darah atau urin, menunggu 1-2 bulan agar rambut kepala tumbuh dan kemudian melakukan analisis segmental dapat mengungkapkan adanya racun atau obat. Rambut kemaluan atau aksila dapat menggantikan jika tidak ada rambut kepala yang tertinggal.

Dalam pekerjaan postmortem, kuku utuh harus diangkat dari jari tangan atau kaki. Hal ini memungkinkan untuk mendeteksi paparan dengan rentang waktu lebih panjang daripada rambut. Namun, relatif sedikit yang diketahui tentang mekanisme pengambilan dan retensi atau obat-obatan dan metabolit pada kuku. Selain itu, tingkat pertumbuhan kuku yang lebih lambat, terutama kuku kaki, dibandingkan dengan rambut, karena itu interpretasinya lebih sulit (Flanagan, 2007).

Protokol untuk pengumpulan rambut kepala untuk pengujian obat terlarang

- 1) Ambil sampel rambut (100-200 rambut), ikat dengan benang katun di ujung akar
- 2) Potong sampel sedekat mungkin ke kulit kepala (2 mm), pastikan gunting sejajar dengan kulit kepala
- 3) Pegang sampel, selaraskan ujung akar yang dipotong dari sampel dan tempatkan dengan hati-hati di atas sepotong aluminium foil dengan ujung akar yang dipotong sekitar 15 mm di luar ujung foil.
- 4) Tandai ujung akar foil dan lipat foil di sekitar rambut dan lipat erat agar tetap pada tempatnya

- 5) Lipat foil lagi setengah memanjang
- 6) Tempatkan sampel dalam amplop tamper-proof, tutup rapat.
- 7) Lengkapi dan tandatangani formulir permintaan, pastikan donor juga memberi tanda tangan. Jika diperlukan, buat catatan di lembar terpisah dan lampirkan dengan sampel.



Gambar 3.4 Cara sampling rambut
(Flanagan, 2007)

N. Tulang dan sumsum tulang

Sumsum tulang mungkin berguna dalam identifikasi racun di mana semua jaringan lunak telah mengeriput (pada korban yang telah dikubur). Untuk nortriptyline, rasio sumsum tulang: darah adalah 30 telah ditunjukkan secara eksperimental setelah lima hari pengobatan nortriptyline. Tulang berguna jika dicurigai keracunan kronis oleh arsenik atau timbal (Flanagan, 2007).

O. Tempat injeksi

Tempat suntikan yang mungkin harus dipotong, dikemas secara terpisah dan diberi label tempat asal bahan diambil. Bahan 'kontrol' yang sesuai (yaitu dari lokasi yang dianggap tidak boleh menjadi tempat suntikan) dari komposisi serupa harus diberikan secara terpisah (Flanagan, 2007).

P. “Residu kejadian”

Bahan seperti sisa tablet, bubuk, jarum suntik, cairan infus, dan sebagainya, dapat memberikan informasi berharga mengenai racun yang terlibat dalam sebuah insiden, dan harus dikemas terpisah dari sampel biologis. Hal ini sangat penting jika senyawa volatil terlibat. Semua barang harus diberi label dan dikemas dengan hati-hati. Residu kejadian mungkin sangat berharga dalam kematian yang melibatkan personel medis, gigi, dokter hewan, atau perawat yang mungkin memiliki akses ke agen yang sulit untuk dideteksi begitu mereka memasuki tubuh. Investigasi kematian yang terjadi selama atau segera setelah anestesi harus mencakup analisis anestesi yang digunakan, termasuk anestesi inhalasi, untuk

menyingkirkan kesalahan administrasi. Jarum harus dikemas dalam perisai yang sesuai untuk meminimalkan risiko cedera pada staf laboratorium dan staf lainnya (Flanagan, 2007).

Wadah spesimen

- Wadah spesimen urin, serum, darah, cairan lambung, harus dari bahan yang tidak mudah pecah, seperti dari polietilen yang kuat, tidak bocor, bersih dan kering.
- Tertutup rapat (tutupnya berulir), bermulut lebar.

Bahan Pengawet

Bahan pengawet diperlukan jika spesimen harus dirujuk ke laboratorium pemeriksaan yang lebih mampu dan berjarak cukup jauh, atau ke laboratorium lainnya untuk pemeriksaan konfirmasi. Cantumkan nama bahan pengawet

Tabel 3.4 Bahan Pengawet yang diperbolehkan

Pemeriksaan	Jenis	Volume	Pengawet	Wadah	Stabilitas
Obat	Darah	10 mL	Sodium flouride 1%	Gelas tutup ulir	Suhu kamar/7 hari
Obat	Urine	25 mL	Sodium azide 0,1%	Idem	Idem

Sumber: Pedoman Pemeriksaan Laboratorium Toksikologi Obat, 2004

Tabel 3.5 Pengambilan Darah dan Urin untuk Pemeriksaan Laboratorium

DUGAAN PENGGUNAAN	URIN		DARAH / SERUM	
	Waktu Perkiraan Zat masih terdeteksi (Hari)	Jumlah Sampel (mL)	Waktu Perkiraan Zat masih terdeteksi (Hari)	Jumlah Sampel (mL)
Golongan Opiat : Morfin, Heroin, Codein dan	1 - 4	5 0	2 - 4 8	10 (darah) 5 (serum)
Ganja	2 - 7	5 0	6 - 7 2	
Golongan Amfetamin Metamfetamin MDMA	1 - 4	5 0	2 - 4 8	

Kokain dan derivatnya Ekgonin dan	1 - 3	5 0	2 – 4 8	
Golongan Benzodiazepin: Nitrazepam, Diazepam DII	2 - 7	5 0	6 – 7 2	

Sumber: BNN, 2008

Pemberian Label

Secara umum label harus tertulis antara lain:

1. Nama pasien :
2. Umur :
3. Jenis Kelamin :
4. Alamat :
5. Tanggal pengambilan :
6. Lokasi pengambilan :
7. Jenis spesimen :
8. Jumlah spesimen :
9. Nama dan Paraf Petugas Pengambil spesimen :

Untuk pemeriksaan yang bersifat rahasia (Rhs) maka label cukup diberi kode.

Pedoman pembekuan specimen:

1. Jangan membekukan darah utuh jika plasma atau serum harus dianalisis
2. Pastikan pelabelan itu tahan air
3. Pastikan tabung tertutup rapat dan terisi dengan baik, tapi jangan terlalu banyak mengisi tabung, terutama tabung kaca
4. Jangan terlalu lama untuk meminimalkan efek pengeringan beku
5. Simpanlah catatan isi freezer
6. Simpanlah catatan suhu freezer yang terus-menerus
7. Setting alarm jika terjadi kegagalan freezer

PENANGANAN KHUSUS SAMPEL TOKSIKOLOGI

Tujuan pemeriksaan toksikologi secara umum dibagi dua yaitu untuk projustisia/penyidikan dan diagnostic atau terapi, dimana untuk projustisia, pemeriksaan harus dilakukan mengikuti prosedur yang ketat karena implikasinya dalam pengadilan.

A. Pedoman Penerimaan dan Penanganan Sampel/ Barang Bukti untuk Penyidikan

1. Persyaratan penerimaan barang bukti

a. Persyaratan administrasi

- 1) surat permintaan pemeriksaan dari penyidik POLRI atau dari dokter forensik (tanggal dari LP sampai permintaan tidak lebih dari tujuh hari dan tanda tangan penyidik minimal Kanit/Kepala Unit) jika berita acara penyitaan lebih dari satu maka surat permintaan harus ada dan sesuai untuk masing-masing barang bukti, sesuai nama.
- 2) laporan polisi dari satuan kepolisian yang menangani kasus secara terinci, tidak ada coretan, stempel asli.
- 3) berita acara penyitaan barang bukti, stempel asli
- 4) berita acara penyisihan (penyisihan sebagian barang bukti yang dikirim ke laboratorium) dan pengambilan barang bukti
- 5) berita acara pembungkusan harus sesuai dengan barang bukti yang dikirim dan penyegelan barang bukti dari penyidik
- 6) berita acara penahanan (asli, ditandatangani oleh tersangka)
- 7) laporan kemajuan dilengkapi bila barang bukti berupa cairan tubuh.
- 8) berita acara pengambilan sampel urine atau darah

b. persyaratan teknis

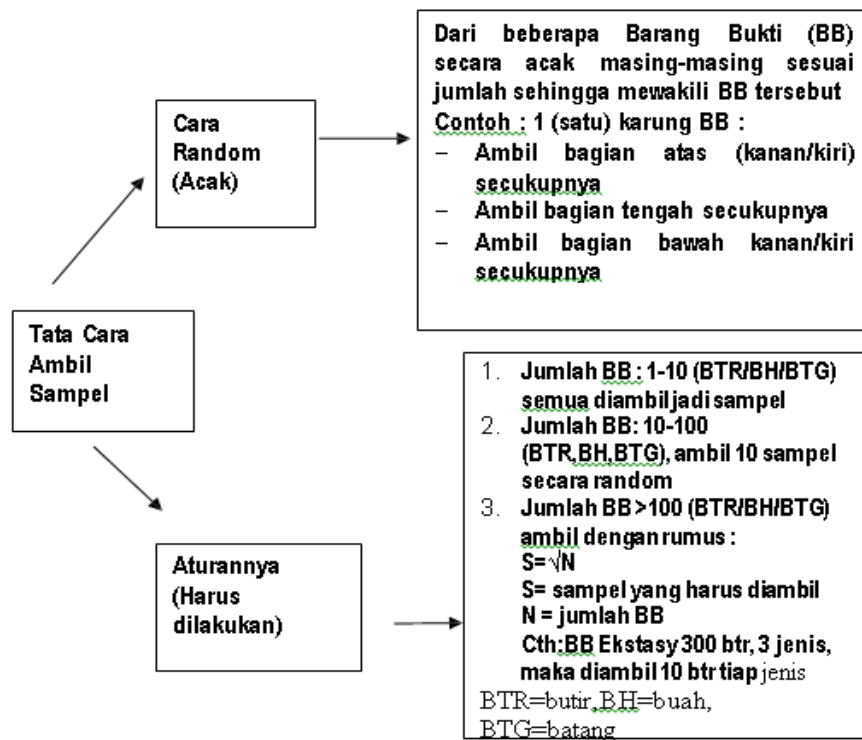
1) Pengambilan barang bukti (BB) bukan cairan tubuh :

- a) barang bukti sesuai rincian tercantum berita acara pembungkusan / penyegelan.
- b) berupa tanaman lengkap/bagian dari tanaman (daun, bunga, biji), semua dikirim ke laboratorium
- c) Bila berupa sediaan Farmasi (tablet, kapsul, ampul), maka BB dikelompokkan sesuai dengan bentuk sediaan dan sesuai dengan nama obat
- d) Bila berupa wadah sediaan farmasi (botol, vial, usahakan yang masih ada sisa obat jangan dibuang)
- e) Bila berupa peralatan medis atau bahan-bahan sisa penggunaan (sputum, sisa puntung rokok, abu rokok), BB dikumpulkan secara terpisah.
- f) Bila berupa larutan dari satu wadah, jika memungkinkan pipet
- g) 10 mL sampel untuk pemeriksaan; bila dari beberapa wadah, kelompokkan menurut nomor lot atau karakteristik yang sama, ambil dengan rumus:

$$\text{Jumlah sampel} = \sqrt{\text{Jumlah total wadah dalam satu karakteristik}}$$

dari setiap wadah ambil 10 mL.

Tata cara pengambilan sampel :



Gambar 3. Skema Pengambilan Sampel

Sumber: (BNN, 2008).

2) Barang bukti cairan tubuh :

- a) Pengambilan urin minimal 50 mL dalam 1 botol dan langsung disimpan dalam kulkas (4°C) sedangkan untuk sampel darah paling sedikit 10 mL atau serum 5 mL untuk setiap jenis pemeriksaan.
- b) Urin ditampung dalam pot urin disposable dari bahan yang tidak mudah pecah dan tidak bereaksi dengan sampel urine / inert, hindari wadah plastik dan tutup karet karena senyawa non polar mudah diabsorpsi oleh bahan tersebut.
- c) Sampel darah dalam tube diberi anti koagulan/ Na-sitrat
- d) Wadah tempat spesimen harus tertutup baik, tersegel dan pastikan tidak bocor. Beri label yang harus menempel pada wadah urine tidak pada tutupnya serta pastikan integritas sampel.
- e) Label berisikan informasi paling sedikit meliputi:
 - 1) Register barang bukti :
 - 2) Nama :
 - 3) Tanggal dan waktu pengambilan sampel :
 - 4) Nama petugas pendamping pengambilan sampel/supervise :
 - 5) Jenis sampel :
- f) Pengambilan sampel harus di supervisi dan disaksikan oleh petugas yang berwenang serta terlatih.

- g) Fasilitas kamar mandi/WC untuk tujuan pengambilan urin harus sudah disediakan sebelum pengambilan urin
 - h) Ruangan untuk pengambilan sampel terutama urin harus diperiksa apakah terdapat zat/barang yang dapat mengurangi validitas hasil pemeriksaan. Hasil yang tidak tepat juga dimungkinkan bila ada penambahan zat-zat tertentu pada sampel misalnya dengan menambahkan cuka, asam askorbat, jus lemon/jeruk nipis, deterjen/ sabun, garam dapur, tetes mata/hidung, pemanis (sakarín), pemutih pakaian; atau juga dengan cara minum banyak, penggunaan diuretik, penambahan air pada sampel atau mengganti dengan sampel lain.
- c. Pengemasan barang bukti:
- 1) Barang Bukti (BB) dikemas dalam wadah yang baik, tidak bocor dan tersusun rapi serta dibungkus dengan baik dan berlak segel. Label sampel harus dipasang di wadah bukan di tutup wadah sampel. Ini akan mencegah perubahan/penukaran label secara sengaja atau tidak.
 - 2) Permintaan pemeriksaan untuk mendukung penyidikan harus diajukan oleh penyidik dari instansi yang berwenang.
Yang dimaksud dengan instansi yang berwenang adalah :
 - a) Polri
 - b) POM TNI
 - c) PPNS
 - 3) Format permintaan pemeriksaan penyidikan dapat dilihat pada Lampiran 1.
- d. Pengiriman barang bukti :
- Darah dan urin: jangka waktu setelah pengambilan sampel darah/urin sampai dengan diterima di laboratorium haruslah tidak melebihi 24 jam, sampel disimpan dalam suhu dingin / 0°C atau dalam termos dingin yang diberi *ice pack* selama pengiriman.
2. **Penanganan Barang Bukti Di Laboratorium (Pra Analisis)**
- a. Petugas laboratorium yang menerima barang bukti adalah petugas yang ditunjuk khusus dan telah mengerti prosedur penerimaan barang bukti.
 - b. Pengecekan persyaratan penerimaan barang bukti (persyaratan teknis dan administrasi)
 - c. Registrasi barang bukti
 - d. Dokumentasi barang bukti (foto), sebelum dan sesudah barang bukti dibuka pembungkusnya
 - e. Simpan barang bukti di dalam lemari pendingin (freezer), apabila analisis tertunda belum sempat dianalisis segera.
 - f. Penyisihan barang bukti sebelum dilakukan analisis

- g. Analisis barang bukti
- h. Interpretasi hasil analisis
- i. Membuat berita acara pemeriksaan laboratorium kriminalistik.
- j. Kerahasiaan hasil pemeriksaan
- k. Setiap informasi tentang donor sampel dan hasil analisis harus tetap terjaga kerahasiaannya. Laporan harus diberikan hanya kepada petugas yang berwenang.
- l. Keamanan tenaga laboratorium

Semua petugas yang berkaitan dengan pengambilan, pengiriman dan terutama pemeriksaan sampel harus mengetahui dan mentaati prosedur keamanan kerja seperti pemakaian sarung tangan dan alat perlindungan diri lain terutama dengan adanya penyakit seperti hepatitis dan AIDS.

3. **Laporan Pemeriksaan pada Permintaan Kepentingan “Penyidikan & Penegakan Hukum”**

Dikembalikan kepada Polisi atau Penegak Hukum yang meminta pemeriksaan:

- a. Dalam keadaan tertutup dan disegel
- b. Kerahasiaan nama, alamat, jenis kelamin tetap terjamin (bentuk kode)
- c. Diambil oleh orang yang ditunjuk dengan menunjukkan surat keterangan penunjukan dari pejabat yang berwenang dengan buku ekspedisi berisikan: tanggal, hari, nama, alamat yang mengambil atau yang menerima hasil
- d. Jika akan dibuka segelnya harus ada 2 (dua) orang saksi.

B. **Pedoman Pengambilan Sampel untuk Diagnosis dan Terapi**

Ada komunikasi yang baik antara tenaga medis/dokter dengan analis laboratorium. Tenaga medis memberi informasi yang mengenai riwayat keracunan pasien, zat toksik yang dicurigai, permintaan pemeriksaan laboratorium yang lengkap untuk keperluan administrasi.

- 1. Tenaga medis memberi sampel yang adekuat untuk dianalisis dan mengambil sampel dengan cara yang benar.
- 2. Pengiriman sampel harus dilakukan segera dan dokter harus memastikan dipastikan bahwa sampel telah diambil secara benar.

Sampel yang dibutuhkan :

- a. Darah beku (diambil serumnya : 10 - 20 cc
- b. Urin : 50 cc
- c. Bilasan lambung : 500 cc pertama
- d. Muntahan/isi lambung : semua

Jika waktu sejak asupan zat toksik sampai pasien diperiksa dokter/tenaga medis kurang dari 4 jam, sampel yang dianjurkan untuk diperiksa adalah isi perut, muntahan, dan cairan lambung. Sampel harus diletakkan pada tempat yang bersih, tertutup rapat dan

diberi label.

Jika diminta dilakukan "cito" analisis, label, formulir permintaan, lembar informasi harus menunjukkan kepada siapa laporan ditujukan dan bagaimana menghubunginya secara cepat bila laporan hasil pemeriksaan telah selesai dikerjakan.

Permintaan pemeriksaan laboratorium untuk diagnosa dan terapi seperti darah, urin dan bilasan lambung harus diajukan oleh dokter di rumah sakit atau praktek swasta. Surat permintaan pemeriksaan laboratorium diharapkan dapat menyebutkan bahan yang dicurigai; antara lain dengan memperhatikan anamnesa/riwayat keracunan, gejala keracunan dan bahan toksik yang berada di sekitar korban.

Laporan pemeriksaan pada Permintaan Kepentingan "Diagnosa & Terapi"
Dikembalikan kepada dokter yang meminta pemeriksaan :

- a. Dalam keadaan tertutup
- b. Kerahasiaan tetap terjaga
- c. Diantar/diambil dengan buku ekspedisi yang jelas: tanggal, hari, nama, alamat jelas yang mengambil atau yang menerima hasil (BNN, 2008).

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Sebutkan 5 contoh sampel biologis yang dapat diambil pada korban diduga keracunan yang masih hidup.
2. Jelaskan perbedaan sampel darah arteri dan darah vena!
3. Jelaskan perbedaan serum dan plasma darah!
4. Jelaskan kelebihan dan kekurangan sampel darah untuk pemeriksaan toksikologis!
5. Jelaskan kegunaan sampel udara ekspirasi dalam pemeriksaan toksikologi!

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Jenis-jenis sampel untuk pemeriksaan toksikologi serta kekurangan dan kelebihannya.
2. Sampel udara ekspirasi untuk pemeriksaan toksikologi.

Ringkasan

Pengambilan sampel adalah tahap pra analitik yang penting yang menentukan validitas hasil pemeriksaan sampel toksikologis. Tahap sampling meliputi: penetapan jenis sampel, penetapan lokasi sampling, dan penanganan sampel (pengawetan, penyimpanan dan transport). Jenis sampel meliputi sampel biologis yang berupa specimen yang berasal dari tubuh manusia dan sampel non biologis berupa cuplikan zat yang dicurigai, serta residu kejadian (barang-barang yang diduga terkait dengan kasus keracunan). Penanganan sampel bertujuan agar tidak terjadi perubahan analit yang terkandung dalam sampel. Pemilihan jenis sampel harus mengingat toksokinetika senyawa yang dicurigai. Masing-masing sampel memiliki kelebihan dan kekurangan.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

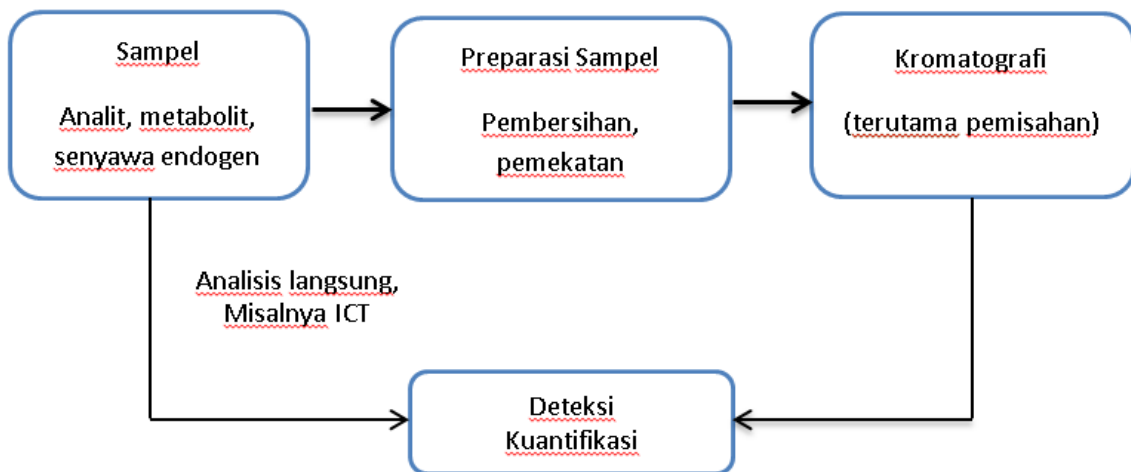
1. Sampel darah untuk pemeriksaan toksikologis memiliki kelebihan dan kekurangan. Apakah kekurangannya?
 - A. Sulit diperoleh
 - B. Mudah membeku
 - C. Mudah dipalsukan
 - D. Konsentrasi racun rendah
 - E. Beresiko terjadi kontaminasi
2. Urin masih menjadi sampel standar untuk pemeriksaan obat-obat terlarang. Apakah kelemahan sampel urin?
 - A. Sulit diawetkan
 - B. Mudah dipalsukan
 - C. Hanya untuk senyawa terlarut
 - D. Bisa untuk kualitatif dan kuantitatif
 - E. Mengandung banyak unsur organik
3. Sampel rambut dan kuku memiliki kelebihan dan kekurangan. Apakah kelebihanannya?
 - A. analisisnya mudah
 - B. konsentrasi racun tinggi
 - C. tersedia banyak metode
 - D. masih bisa diperoleh pada korban meninggal
 - E. bisa untuk mendeteksi banyak racun dan obat
4. Jika pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar etanol dalam darah, langkah apakah yang penting diperhatikan?

- A. memerlukan pengawet fenol
 - B. bisa diambil dari darah kapiler
 - C. Desinfeksi tidak menggunakan alcohol
 - D. Tidak memerlukan antikoagulan
 - E. menggunakan lithium heparin
5. Udara ekspirasi dapat menjadi sampel yang bagus untuk pemeriksaan tertentu dan memiliki beberapa kelebihan. Apakah kekurangan sampel tersebut?
- A. Pengambilan sulit
 - B. Tidak ada pengawet
 - C. Mudah terkontaminasi gas lain
 - D. Senyawa toksik dalam sampel tidak stabil
 - E. Hanya untuk analit yang mudah menguap

Topik 2

Teknik Preparasi Sampel

Meskipun dalam tes warna toksikologi analitik sederhana dan beberapa pengujian immunoassays dan metode berbasis reaksi enzimatis, sering dilakukan secara langsung pada spesimen, beberapa bentuk perlakuan terhadap sampel biasanya diperlukan sebelum analisis, bahkan jika ini hanya terdiri dari menambahkan standar internal. Kompleksitas prosedur preparasi sampel yang digunakan sangat bergantung pada sifat sampel, sifat obat atau racun yang akan dianalisis (termasuk apakah tidak stabil atau dimetabolisme secara ekstensif), apakah metode kromatografi akan digunakan dan metode deteksi yang dipilih.



Gambar 3.5 Tahap-tahap Analisis Sampel Toksikologi

Sumber: Flanagan, 2007 (dimodifikasi)

Tujuan tambahan dari preparasi sampel dapat menghilangkan residu yang tidak larut dan senyawa yang mengganggu, dan kadang-kadang konsentrasi atau bahkan pengenceran analit untuk menyesuaikan sensitivitas. Pilihan ekstraksi pelarut yang bijaksana, termasuk ekstraksi balik terkontrol pH dari elektrolit lemah menjadi larutan berair, kadang-kadang diikuti dengan ekstraksi ulang ke dalam pelarut, dapat memperbaiki selektivitas dan sensitivitas.

Metode yang dipilih untuk persiapan sampel tergantung pada keseluruhan strategi analisis. Jika analit itu labil secara termal maka GC biasanya tidak tepat, karena menggunakan penguapan pelarut ekstraksi pada suhu tinggi. Jika konsentrasi analit tinggi, atau pengujian tertentu sangat sensitif, maka persiapan sampel mungkin minimal. Di sisi lain, analisis jejak mungkin memerlukan suatu prosedur pengujian kompleks dengan beberapa konsentrasi dan

langkah pembersihan. Urin dan empedu mungkin mengandung konsentrasi senyawa yang lebih tinggi dan lebih sedikit residu yang tidak larut daripada darah utuh, plasma atau serum, dan sebagai hasilnya persiapan sampel terkadang disederhanakan. Dengan kata lain, preparasi sampel disesuaikan dengan tujuan. Metode apapun dipilih semudah mungkin secara teknis, tidak hanya untuk meminimalkan biaya, tetapi juga untuk memaksimalkan validitas dan reproduksibilitas (Flanagan, 2007).

A. Metode persiapan sampel

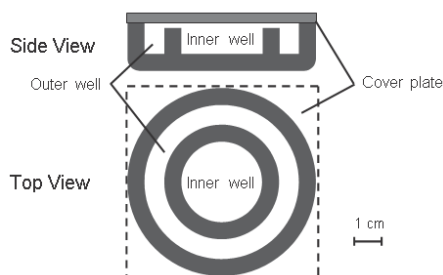
1. Presipitasi protein

Presipitasi protein plasma dengan analisis supernatan yang dihasilkan setelah sentrifugasi mungkin merupakan pendekatan yang paling sederhana, prosedur yang digunakan diturunkan dari metode preparasi sampel yang digunakan sebelum spektrofotometri UV. Pada beberapa kasus supernatan dianalisis secara langsung dengan HPLC atau oleh LC-MS. Kemungkinan hilangnya analit dengan presipitat harus dipertimbangkan.

Berbagai prosedur pelepasan protein antara lain campuran larutan seng sulfat (5% b/v): metanol (100 + 43), asam 5-sulfosalicylic (3,2% b/v) dalam air: metanol (1 + 1) dan metanol: asetonitril (1 + 5). Jika reagen asam kuat digunakan, analit dan standar internal harus stabil pada nilai pH rendah. Pendinginan singkat sampai -20°C sebelum sentrifugasi dapat meningkatkan presipitasi protein. Metanol yang mengandung 0,2% (v/v) asam klorida pekat (2 volume) bila ditambahkan ke plasma atau serum (1 volume) diikuti dengan vortex-mixing dan sentrifugasi berkecepatan tinggi (10.000 g atau lebih, 30 s) memberikan presipitasi protein yang efisien.

2. Mikrodifusi

Mikrodifusi adalah suatu bentuk pemurnian sampel yang bergantung pada pembebasan senyawa yang mudah menguap, misalnya hidrogen sianida. Larutan uji yang dimasukkan dalam satu kompartemen sistem tertutup, senyawa yang menguap (volatile) selanjutnya 'ditangkap' menggunakan pereaksi yang sesuai (larutan natrium hidroksida dalam kasus hidrogen sianida) yang disimpan di kompartemen terpisah dari peralatan Conway yang dibuat khusus (Gambar 3.6).



Gambar 3.6 Peralatan untuk analit yang mudah menguap: Cawan mikrodifusi Conway.

Sumber: Flanagan, 2007

Sel biasanya dibiarkan selama 2-5 jam (suhu kamar) agar proses difusi selesai, namun kadang-kadang waktu inkubasi yang lebih pendek dapat digunakan. Konsentrasi analit kemudian diukur dalam sebagian larutan 'perangkap' baik secara spektrofotometri, atau dengan perbandingan visual dengan larutan standar yang dianalisis secara bersamaan pada sel terpisah. Aparatus Conway dapat dibuat dari kaca, namun polikarbonat bisa digunakan dengan fluorida sebagai kaca etsa hidrogen fluorida. Dengan sedikit mengolesi penutup dengan parafin atau minyak silikon, pastikan segel kedap udara. Untuk melakukan uji kuantitatif setidaknya dibutuhkan delapan sel: blanko, minimal tiga kalibrator, sampel uji (duplo) dan sampel kontrol positif (duplo).

3. Hidrolisis metabolit terkonjugasi

Pelepasan konjugasi merupakan langkah penting dalam analisis toksikologi, terutama urin. Banyak obat dan metabolit (misalnya benzodiazepin, obat pencahar, opiat dan steroid) diekskresikan dalam urin dan dalam empedu terutama sebagai konjugat dengan asam D-glukuronat atau dengan sulfat, atau kadang-kadang keduanya. Sementara konjugat sulfat adalah senyawa ester, glukuronida dapat berupa eter (aseton), ester (asil), atau N - atau S-glukuronida. (Silahkan dibaca lagi Bab 2 tentang biotransformasi atau metabolisme xenobiotik). Untuk memaksimalkan sensitivitas dalam skrining obat / racun, dan jika perlu, untuk mengukur konjugat tersebut secara tidak langsung, yaitu bersamaan dengan pengukuran analit yang tidak terkonjugasi, hidrolisis selektif atau tidak selektif sampel dapat dilakukan sebelum pengolahan sampel lebih lanjut.

Inkubasi dengan asam mineral kuat, seperti volume yang sama dengan 5 mol/L asam klorida (15-30 menit, 100°C pada tekanan atmosfer, atau dalam oven microwave atau *pressure cooker*), murah dan memberikan hidrolisis konjugasi yang cepat namun tidak selektif. Penggunaan microwave rumah tangga berpotensi berbahaya, namun tersedia instrumen komersial yang menawarkan kontrol suhu.

Inkubasi dengan enzim glukuronidase (EC 3.2.1.31) dan/atau aril sulfatase (EC 3.1.6.1) (15 jam, 35°C) dapat memberikan hidrolisis selektif konjugat dalam kondisi yang relatif lunak.

Teknik preparasi

Teknik preparasi sampel toksikologi yang dipilih bergantung pada jenis sampel dan tujuan pengujian.

a. Sampel berbentuk serbuk atau tablet

Satu tablet sampel (50 mg serbuk) larutkan dalam 10 mL metanol, bila perlu saring.

b. Sampel Ganja

1) Tanaman ganja (*Cannabis plant*, *Cannabis herba*)

Lebih kurang 400 mg cuplikan yang telah diserbuk haluskan, masukkan ke dalam Erlenmeyer tertutup, tambahkan 10 ml petroleum eter atau toluen, dan kocok selama 1 jam, kemudian saring. Bila perlu tambahkan lagi pelarut hingga diperoleh

volume 10 ml

2) **Damar ganja (Cannabis resin)**

Lebih kurang 100 mg damar ganja dalam mortir, gerus dengan $\pm$ 2 ml toluen sampai terbentuk pasta. Dengan bantuan 8 ml toluen masukkan ke dalam Erlenmeyer bertutup, kocok selama 1 jam dan saring.

3) **Hasis (Hasis oil, Cannabis oil)**

Lebih kurang 50 mg hasis larutkan dalam 10 ml toluen.

c. **Sampel cuplikan berbentuk cairan**

Ambil minimal 10 mL cairan, tanpa penambahan zat lain.

d. **Spesimen darah/serum/plasma**

Persiapan spesimen **darah/serum/plasma** dengan cara ekstraksi adalah sebagai berikut:

- 1) Ekstraksi darah/serum/plasma
- 2) Ekstraksi urin/cairan lambung
- 3) Pemeriksaan fraksi-fraksi dengan metode pemeriksaan KLT

1) Ekstraksi darah/serum/plasma

a) Prinsip

Pemisahan/isolasi specimen dengan pelarut organik pada pH tertentu dari zat-zat yang mengganggu berdasarkan dengan kelarutannya. Hasil ekstraksi disaring dan dikeringkan sehingga didapat residu yang dapat dianalisa.

b) Peralatan :

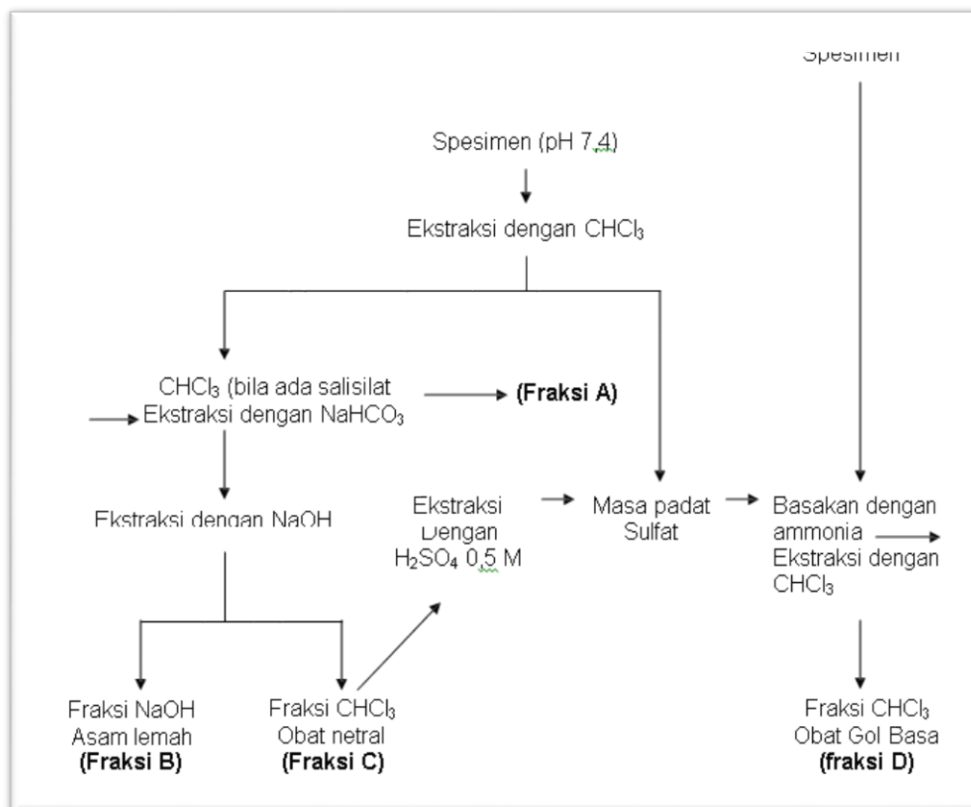
- (1) Vortex mixer
- (2) Shaker
- (3) Sentrifus
- (4) Tapered tube
- (5) Corong pisah
- (6) Corong
- (7) Batang pengaduk
- (8) Penangas air
- (9) Sonikator

c) Reagen

- (1) Pelarut organik (CHCl_3)
- (2) Natrium Sulfat Anhidrat
- (3) Natrium Hidroksida
- (4) Asam Sulfat pekat

d) Cara Kerja (Gambar 3.7)

- (1) Ke dalam 4 ml specimen tambahkan 2 ml Buffer Fosfat (pH 7,4) dan 40 ml Kloroform (CHCl_3) kocok, kemudian tambahkan 2 gram Na_2SO_3 anhidrat kocok kembali untuk menghasilkan masa yang padat.
- (2) Tuangkan CHCl_3 melalui saringan
- (3) Ekstraksi kembali masa padat tersebut dalam 20 ml CHCl_3 , campur kedua hasil ekstraksi fraksi CHCl_3 . Simpan masa padat yang ada
- (4) Apabila terdapat Salisilat 1 fraksi CHCl_3 diekstraksi dengan NaHCO_3 untuk menghilangkan Salisilat yang dapat menghambat penentuan selanjutnya
- (5) Pada fraksi CHCl_3 , tambahkan 8 ml NaOH 0,45 M (setara dengan 2 kali volume specimen yang diambil)
- (6) Kocok selama 2 menit kemudia sentrifus. Larutan NaOH kemungkinan mengandung barbiturat dan senyawa asam lemah lainnya. (Fraksi B) Isi fraksi dapat dilihat pada table 3.6
- (7) Cuci fraksi CHCl_3 dengan sedikit air, buang air cucian, keringkan fraksi CHCl_3 dengan Na_2SO_4 anhidrat, uapkan sampai kering. Residu kemungkinan mengandung obat-obat netral dan beberapa obat yang bereaksi basa (Fraksi C) seperti Klordiaepoksid, Diazepam dan Nitrazepam.
- (8) Apabila specimen masih ada, basakan dengan larutan ammonia, lalu ekstraksi 2 kali, masing-masing dengan 10ml CHCl_3 , kemudian keringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat. Uapkan larutan sampai kering.
- (9) Residu kemungkinan mengandung obat golongan basa (Fraksi D)



Gambar 3.7 Skema Ekstraksi Spesimen Darah, serum atau plasma

Sumber: Depkes, 2004

2) Ekstraksi urin/cairan lambung (Gambar 3.8)

a) Prinsip

Pemisahan/isolasi spesimen dengan pelarut organik pada pH tertentu dari zat-zat yang mengganggu, hasil ekstraksi disaring dan di keringkan sehingga didapat residu yang dapat dianalisa.

b) Peralatan : vortex mixer, shaker, sentrifus, tapered tube, corong pisah, corong, batang, pengaduk, penangas air

c) Reagen

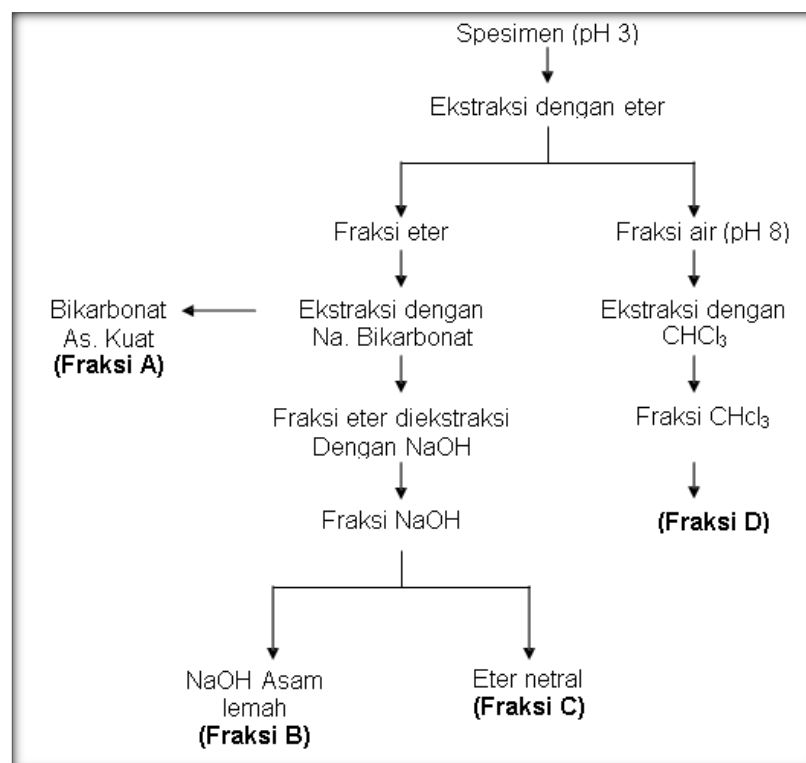
- (1) Pelarut organik (Eter)
- (2) Natrium Sulfat Anhidrat
- (3) Natrium Hidroksida
- (4) Asam Sulfat pekat

d) Cara Kerja

- (1) Tambah 10 ml urin dengan asam phosphate dan asam tartrat untuk membuat pH 3
- (2) Ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 30 ml eter, campur hasil ekstraksi
- (3) Cuci dengan 5 ml air dan tambahkan air cucian ke dalam specimen

Simpan fraksi air untuk ekstraksi selanjutnya

- (4) Fraksi eter diatas diekstraksikan dengan 5 ml larutan Natrium Bikarbonat
- (5) Fraksi eter diesktraksi kembali dengan 5 ml NaOH 0,45 N dan simpan sebagian hasil ekstraksi untuk pemeriksaan barbiturate dan beberapa substansi asam lemah lainnya, misalnya Klordiazepoksid (Fraksi B) (Tabel 3.
- (6) Sebagian lain dari fraksi eter diatas dicuci kembali dengan air, saring hasil cucian dan tambahkan dengan Na₂SO₄ anhidrat, uapkan sampai kering.
- (7) Residu kemungkinan mengandung obat-obatan netral (Fraksi C)
 - (a) Fraksi air pada butir 3 ditambah dengan ammonia untuk membuat pH 8
 - (b) Ekstraksi sebanyak 2 kali masing-masing dengan 10ml CHCl₃.
 - (c) Cuci campuran ekstrak fraksi dengan air, kemudian saring dan tambahkan dengan sedikit asam tartrat untuk menghindari hilangnya zat-zat yang mudah menguap.
 - (d) Uapkan sampai kering, residu kemungkinan mengandung antara lain golongan Benzodiazepin: Klordiazepoksid, Diazepam, Nitrozepam (Fraksi D).



Gambar 3.8 Skema Ekstraksi Spesimen Urin atau Cairan Lambung

Sumber: Depkes, 2004

Ekstraksi cairan lambung dilakukan seperti ekstraksi pada urin dengan tambahan cara kerja specimen yang akan diekstraksi sebagai berikut: tambahkan ke dalam specimen ammonium sulfat (padat berlebihan) bersama-sama dengan beberapa tetes asam phosphate 10%, panaskan, kocok dan saring. Filtrat dilakukan seperti cara kerja di bawah ini (Depkes, 2004).

Tabel 3. 6 Isi dari Fraksi A, B, C dan D

Fraksi A	Fraksi B	Fraksi C	Fraksi D
Salisilat	Barbiturat Kloropropamid Glutimid Parasetamol Fenil Butazon Fenitoin	Kabromal Klondiazepoksid Etklorvynol Etinamet Glutetimid Meprobat Metakualon Nitrazepam Parasetamol	Amitriptilin, Amfetamin Klondiazepoksid ,Klorpromazin, Kodein , Desipramin Dekstropropofen, Diazepam Ergot Alkaloid, Flurazepam Imipramin, Isokarboksazid Metakualon Metilamfetamin, Morfin, Nitrazepam , Notrifilin

Sumber: Depkes, 2004

e. Sampel Rambut

1) Dekontaminasi dengan pelarut organik:

- Ambil untai rambut (~ 100 mg).
- Cuci dengan 5 ml diklorometana selama 2 menit.
- Keringkan dengan kertas adsorben.
- Cuci kembali dalam 5 ml diklorometana selama 2 menit.
- Keringkan lagi

2) Prosedur dengan pelarut berair

- Ambil untai rambut (~ 100 mg).
- Cuci dengan 10 ml SDS 0,1% dalam air (b / v) selama 3 menit.
- Bilas dua kali dengan 10 ml air selama 3 menit.
- Bilas dengan 10 ml aseton selama 3 menit.
- Keringkan dalam oven pada suhu 60 ° C selama 30 menit.

3) Preparasi

Langkah pertama adalah homogenisasi dengan memotong rambut menjadi potongan 1-3 mm atau dengan grinder. Untuk memastikan homogenitas sampel, disarankan agar menggunakan setidaknya 20-30 mg rambut. Hindari kontaminasi gunting) dan harus digunakan botol sekali pakai. Senyawa yang terdapat dalam matriks rambut dapat dilarutkan dengan menggunakan berbagai metode ekstraksi, yang efisiensi dan selektivitasnya harus sesuai dengan karakteristik obat target dan teknik analisis.

a. Ekstraksi dengan metanol

Metanol melarutkan senyawa lipofilik netral, dan hidrofilik sedang; karena sifatnya yang hidrofilik, ia menembus rambut, menghasilkan pembengkakan matriks dan pembebasan obat-obatan. Sonikasi sampel dalam bak mandi ultrasonik meningkatkan proses ekstraksi.

1) Keuntungan cara ini adalah:

- a. Hampir semua obat dapat diekstraksi dengan methanol,
- b. efektif terhadap senyawa hidrofilik dan lipofilik, prosedur ini "ringan" terhadap senyawa yang tidak stabil yang mudah mengalami hidrolisis (misalnya heroin dan kokain).
- c. Injeksi langsung ekstrak pada GC-MS atau LC-MS dimungkinkan bila konsentrasi obat cukup tinggi.
- d. Campuran asam organik metanol / berair telah terbukti memperbesar panel obat yang dapat diekstraksi secara efisien.

2) Kekurangan

- a) Ekstrak metanol sering menggabungkan zat yang mengganggu, dan prosedur pembersihan (seperti ekstraksi fase cair / cair atau padat) dianjurkan dalam penggunaan rutin.
- b) Pemulihan obat yang dapat diionkan tidak lengkap dan lebih rendah daripada prosedur ekstraksi lainnya.

b. Ekstraksi dengan larutan asam atau larutan buffer

Inkubasi pada HCl berair 0,01-0,50 M atau buffer fosfat M pada pH 6,4-7,6 biasanya dilakukan pada suhu 56°C atau 60°C dalam semalam. Bila diperlukan (misalnya untuk menyingkirkan kontaminasi eksternal), morfin glukuronida, yang merupakan fraksi minor dari morfin total, dapat ditentukan dengan membandingkan konsentrasi morfin sebelum dan sesudah perlakuan dengan glukuronidase / arilulfatase.

1) Keuntungan:

- a) Ekstraknya umumnya lebih bersih dari pada ekstrak metanol.
- b) Obat-obatan dasar diekstraksi dengan efisien.

2) Kekurangan:

- a) Hidrolisis molekul berikut telah dilaporkan:
 - b) konversi parsial kokain menjadi benzoylecgonine;
 - c) Konversi heroin (diacetylmorphine) menjadi 6-monoacetylmorphine (6-MAM);
 - d) Hidrolisis 6-MAM menjadi morfin.
- c. Digesti dalam NaOH encer

Larutan 1 M NaOH ditambahkan pada sampel rambut dan inkubasi selama satu jam pada 80°C, atau semalam pada suhu 60°C. Hanya cocok untuk obat-obatan yang stabil dalam kondisi basa.

1) Kelebihan:

- a) Sesuai terutama nikotin, amfetamin dan beberapa neuroleptik.
- b) Sangat efektif untuk pemulihan kuantitatif
- c) Dapat digunakan dalam kombinasi dengan mikrokontroler fase padat headspace (HS-SPME) untuk mendeteksi senyawa semi-volatile (misalnya turunan amphetamine, anestetik lokal, barbiturat, diphenhydramine, ketamin, metadon, phencyclidine, phenothiazines, tramadol, dan antidepresan trisiklik).
- d) Dapat berguna untuk mendeteksi obat yang konsentrasinya sangat rendah seperti metabolit cannabinoids.

2) Kekurangan

- a) Tidak sesuai untuk obat-obatan yang tidak stabil dalam kondisi basa (misalnya kokain, benzodiazepin).
- b) Pelarutan matriks rambut secara parsial atau lengkap menghasilkan larutan "kotor" yang membutuhkan pembersihan (*clean up*) sebelum analisis instrumental (UN, 2014).

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Jelaskan tujuan preparasi sampel toksikologi!
2. Sebutkan metode uji yang dapat dilakukan pada sampel langsung (tanpa ekstraksi)
3. Sebagian xenobiotic dalam sampel biologis berada dalam bentuk berikatan dengan protein. Bagaimana cara preparasinya?
4. Dalam sampel urin atau empedu sebagian besar metabolit xenobiotic berada dalam bentuk terkonjugasi dengan glukoronat. Bagaimana cara preparasi sampelnya?
5. Mikrodifusi cawan Conway dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa yang mudah menguap. Bagaimana prinsip kerjanya?

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Penanganan dan preparasi sampel biologis berupa urin, darah, cairan empedu.
2. Teknik preparasi dengan metode Conway.

Ringkasan

Meskipun tidak dalam kendali langsung laboratorium, setiap usaha harus dilakukan untuk memastikan prioritas yang tepat diberikan pada pengumpulan dan penanganan sampel karena jika hal ini tidak dilakukan dengan benar, semua usaha selanjutnya sia-sia. Penanganan dalam pengumpulan sampel sangat penting khususnya sampel postmortem, bahkan dalam upaya kerja klinis dalam memberikan informasi awal kepada dokter dan ahli patologi mengenai persyaratan sampel (tempat pengumpulan, penambahan sodium fluorida, dll.)

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Jika sampel berupa serbuk atau tablet, pelarut apakah yang diperlukan untuk preparasi?
 - B. Etanol
 - C. Methanol
 - D. Akuades
 - E. Kloroform
 - F. eter
2. Salah satu cara deproteinasi adalah dengan sentrifugasi. Bagaimana cara agar hasilnya maksimal?
 - A. sentrifugasi sambil didinginkan
 - B. sentrifugasi dengan kecepatan tinggi
 - C. Dipanaskan sebelum sentrifugasi
 - D. Didinginkan sebelum sentrifugasi
 - E. Ditambah etanol sebelum sentrifugasi
3. Jika pada sampel berupa urin dilakukan ekstraksi menggunakan kloroform yang dibasakan dengan ammonia, maka akan diperoleh fraksi D. Senyawa apakah yang mungkin dideteksi pada fraksi tersebut?
 - A. Salisilat
 - B. Barbitol
 - C. Parasetamol

- D. Fenitoin
 - E. Morfin
4. Dalam sampel urin atau empedu sebagian besar metabolit xenobiotic berada dalam bentuk terkonjugasi dengan glukoronat. Enzim apakah yang dapat digunakan untuk hidrolisis?
- A. Sulfatase
 - B. Proteinase
 - C. Glukoronidase
 - D. Dehydrogenase
 - E. Hydrolase
5. Salah satu metode uji yang dapat dilakukan langsung terhadap specimen urin tanpa preparasi adalah
- A. ICT
 - B. Tes warna
 - C. KLT
 - D. HPLC
 - E. GC

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

1. D
2. B
3. D
4. C
5. E

Test Formatif 2

1. B
2. D
3. E
4. C
5. A

Glosarium

Daftar Pustaka

- Departemen Kesehatan, (2004). Pedoman Pemeriksaan Laboratorium Toksikologi Obat, DitJen. Pelayanan Medik.
- Flanagan, R.F., Taylor, A., Watson, I.D., Whelpton, R. (2007). Fundamental of Analytical Toxicology, Willey, Sussex, England.
- Moffat, C.A., Osselton M,D., Widdop, B., (2004). Clark's Analysis of Drugs and Poison: in pharmaceutical, body fluid and post mortem material, 4th ed. Pharmacy Press, Chicago.
- United Nations, (2014). Guidelines for Testing Drugs under International Control in Hair, Sweat and Oral Fluid, Laboratory and Scientific Section United Nations Office On Drugs And Crime, New York, 2014
- WHO, (1995). Basic Analytical Toxicology, Geneva.

Bab 4

PROSEDUR ANALISIS TOKSIKOLOGI

Muji Rahayu, S.Si., M.Sc., Apt.

Pendahuluan

Setelah Anda mempelajari teknik sampling, maka dalam bab ini Saudara akan mempelajari prosedur analisis toksikologi yang dipaparkan dalam 2 topik. Topik 1 membahas tentang metode konvensional yang terdiri dari test warna dan kromatografi lapis tipis (KLT). Sedangkan topik 2 membahas tentang metode modern meliputi POCT (*point of care test*) dan HPLC (*high performance liquid chromatography*). Pengelompokan metode konvensional dan modern ini tidak selalu tepat tetapi hanya sebagai cara untuk mempermudah pembelajaran saja.

Pemahaman dasar kromatografi dan spektrofotometri telah diperoleh pada mata kuliah instrumentasi, sehingga tidak akan dibahas ulang dalam bab ini. Metode test warna merupakan metode lama tetapi masih dapat digunakan sebagai uji pendahuluan untuk sampel yang berupa cuplikan serbuk, tablet atau bentuk sediaan obat lain terutama obat-obat yang sering disalahgunakan. Sedangkan metode KLT dapat digunakan sebagai metode pemisahan atau sebagai metode konfirmasi. Apabila digabungkan dengan Densitometri maka metode KLT bisa digunakan untuk kuantitasi.

Topik 1

Metode Analisis Toksikologi Konvensional

A. TES WARNA (*COLOUR TEST*)

Tes warna (kadang-kadang disebut tes kimia) digunakan oleh ahli toksikologi dan analisis obat-obatan sebagai salah satu cara pertama untuk identifikasi obat-obatan dan racun. Tes warna ini paling banyak digunakan untuk obat-obatan dan residu, serta cairan biologis seperti isi perut, dan urin. Tes ini digunakan untuk menempatkan senyawa yang tidak diketahui ke dalam kelas senyawa tertentu. Tes warna ini tetap populer karena berbagai alasan, mudah dilakukan, penggunaan reagen minimal, murah dan memberi hasil yang bisa dilihat dengan mata telanjang (tidak memerlukan alat khusus). Beberapa tes juga dapat digunakan sebagai penanda bercak kromatografi lapis tipis (KLT). Pereaksi diaplikasikan dengan cara menyemprot atau mencelupkan (Moffat, 2011).

Analisis kualitatif dari sampel biologik akan memberikan informasi apakah subyek yang bersangkutan menggunakan obat terlarang atau tidak. Adanya metabolit menunjukkan bahwa zat atau obat tersebut telah dikonsumsi dan termetabolisme dalam tubuh. Pemeriksaan skrining positif berarti suatu obat atau metabolitnya terdapat dalam urin sebanyak atau lebih banyak dari batas deteksi. Ekskresi dari tubuh dan konsentrasinya dalam urin bergantung pada faktor-faktor sebagai berikut: cara pemakaian, lama dan seringnya penggunaan, fungsi organ, kecepatan metabolisme obat, kondisi fisik dari subyek, umur, jenis kelamin, waktu pengambilan sampel, pengenceran dll (Flanagan, 2007).

Pemeriksaan *screening* hanya untuk mengarahkan kemungkinan jenis zat yang terdapat dalam sampel, sehingga hasilnya harus dilanjutkan dengan tes konfirmasi karena zat selain narkoba juga mempunyai kemungkinan memberikan hasil yang sama (*false positive*). Untuk golongan benzodiazepin reaksi warna tidak dianjurkan untuk dipakai karena jenis zat dalam golongan ini sangat beragam, pemeriksaan skrining yang dianjurkan adalah kromatografi lapis tipis (KLT). Zat yang digunakan untuk pereaksi harus dijaga mutunya untuk menjamin bahwa zat yang digunakan tidak mengalami dekomposisi, yang dapat merubah warnanya dan mengacaukan hasil pemeriksaan.

Banyak obat-obatan dan racun lainnya memberikan warna khas dengan pereaksi yang sesuai jika ada dalam jumlah yang cukup, dan jika tidak ada senyawa yang mengganggu. Beberapa dari tes ini, untuk tujuan praktis, spesifik, tapi biasanya senyawa yang mengandung gugus fungsi yang serupa juga akan bereaksi. Kelemahan lainnya adalah bahwa deskripsi warna sangat subjektif, bahkan pada orang dengan penglihatan warna normal, sedangkan

warna yang dihasilkan biasanya bervariasi dalam intensitas atau rona dan mungkin tidak stabil. Hasil tes sebaiknya didokumentasikan dengan fotografi (Flanagan, 2007).

Tes warna memiliki kelebihan dan kekurangan sebagai berikut:

1. Sangat cepat dan murah, hanya menambahkan reagen kemudian amati warna yang terbentuk
2. Terutama berguna untuk urine atau cairan lambung atau “residu kejadian”, misalnya tablet atau serbuk
3. Biasanya dilakukan dengan tabung reaksi bening, tetapi plat tetes putih lebih baik (latar belakang seragam, sedikit menggunakan reagen).
4. Harus selalu menganalisa blanko reagen dan kontrol positif dengan sampel
5. Bersifat subjektif, orang berbeda dalam cara mereka memandang atau mendeskripsikan warna, warna juga bervariasi intensitasnya
6. Banyak jenis tes yang tersedia, namun sebagian besar memiliki selektivitas yang buruk

Reagen untuk uji warna ini biasanya mengandung asam kuat atau alkali atau menggunakan bahan kimia organik yang berpotensi berbahaya. Tindakan pencegahan keselamatan yang tepat harus diperhatikan. Banyak tes dapat dilakukan dengan memuaskan dalam tabung reaksi kaca bening. Namun, penggunaan plat tetes (plat porselen putih mengkilap dengan sejumlah sumur dangkal di permukaannya) memberi latar belakang seragam untuk menilai setiap warna yang dihasilkan dan juga meminimalkan volume reagen dan sampel yang digunakan.

Saat melakukan tes warna, penting untuk selalu melakukan analisis secara bersamaan dengan sampel uji, yaitu:

1. Tes blanko sampel, adalah sampel yang diketahui tidak mengandung senyawa yang diuji. Jika tes dilakukan pada urin maka blanko urin (bebas analit) harus digunakan, atau dapat digunakan akuades.
2. Sampel positif yang mengandung analit dengan konsentrasi yang diketahui. Jika tes dilakukan pada urine, idealnya urin dari pasien atau sukarelawan yang diketahui telah menggunakan senyawa yang bersangkutan harus digunakan. Namun, hal ini tidak selalu praktis dan kemudian urin '*spiked*' (blanko urin yang telah ditambahkan sejumlah senyawa yang diketahui dalam analisis) harus digunakan.

Tes warna berguna karena minimal peralatan dan keahlian yang diperlukan, tetapi reagen harus stabil. Tes ini sensitivitasnya terbatas dan biasanya hanya berlaku untuk urin dan atau sampel lain yang mengandung jumlah racun dalam jumlah relatif besar, seperti isi perut. Adalah mungkin untuk mengekstrak racun dan menerapkan tes warna pada residu, meskipun hal ini jarang dilakukan untuk cairan biologis. Negatif palsu adalah risiko bahkan ketika tes digunakan untuk tujuan yang dimaksudkan dalam sampel yang sesuai. Hasil positif racun seperti parasetamol atau paraquat berfungsi untuk menunjukkan perlunya pengukuran

kuantitatif dalam plasma. Reagen yang sama ini dapat digunakan sebagai pereaksi warna untuk penentu bercak pada KLT dan beberapa telah dikembangkan untuk digunakan dalam pengukuran kuantitatif (Flanagan, 2007).

Tabel 4.1 Metode pemeriksaan pendahuluan dengan reaksi warna

Golongan Narkotika	:	a. Metoda Marquis b. Metode Bratton Marshall c. Metode Mecke d. Metode Frohde e. Metode Simon f. Metode Fast Blue B g. Tes Duquenois
Golongan Psikotropika dan obat lain	:	a. Metoda Liebermann b. Metode Alphanaftol c. Metode O-Cressol
Golongan Salisilat	:	a. Metode Feri Chlorida b. Metode Trinder
Alkohol		Untuk pemeriksaan alkohol a. Kalium bikromat b. Mikrodifusi c. Metanol

Sumber :BNN,2006

1. Metode Marquis

a. Prinsip

Pembentukan senyawa berwarna antara zat yang diperiksa dengan formaldehid dalam suasana asam sulfat pekat

b. Alat :

- 1) Plate tetes
- 2) Pipet
- 3) Vortex mixer
- 4) Sentrifus

c. Reagen

- 1) Pereaksi Marquis (Formaldehid 34-38% dan asam sulfat pekat 1:9 v/v)
- 2) Eter
- 3) Natrium hidroksida (NaOH) 4N
- 4) Etanol 95%

d. Cara Kerja untuk sampel urin

- 1) Masukkan 2 ml urin kedalam tabung sentrifus
 - 2) Tambahkan NaOH 4N sampai pH 9-10
 - 3) Ekstraksi dengan 5 ml eter, masukkan dalam vortex mixer dan di sentrifus
 - 4) Ekstrak eter dipisahkan dan diuapkan sampai kering
 - 5) Residu dilarutkan dalam 1 ml etanol 95% (secukupnya), keringkan lagi
 - 6) Tambahkan 1 tetes larutan pereaksi
- e. **Untuk pemeriksaan sampel obat atau makanan yang dicurigai**
 Letakkan 1-2 mg sampel bubuk/1-2 tetes bila berbentuk cairan ke dalam lekukan plat tetes, tambahkan pereaksi, tak lebih dari 3 tetes.

2. Metode Mecke

- a. Prinsip
 Pembentukan senyawa berwarna antara zat yang diperiksa dengan asam selenius dalam suasana asam sulfat pekat
- b. Alat : pipet tetes, pipet, vortex mixer (untuk urin), sentrifus(untuk urin)
- c. Reagen
 - 1) Pereaksi Mecke: 0,25 gram asam selenium larutkan dalam 25 mL asam sulfat pekat panas
 - 2) Eter (untuk urin)
 - 3) Natrium hidroksida (NaOH) 4 N (untuk urin)
 - 4) Etanol 95 % (untuk urin)
- d. **Cara kerja**
 Lihat Metode Marquis
- e. **Pembacaan Hasil**
 Lihat Metode Marquis

3. Metode Frohde

- a. Prinsip
 Pembentukan senyawa berwarna antara zat yang diperiksa dengan asam molibdat/natrium molibdat dalam suasana asam sulfat pekat
- b. Alat : pipet tetes, pipet, vortex mixer (untuk urin), sentrifus(untuk urin)
- c. Reagen
 - 1) Pereaksi Frohde :
 1,0 gram asam molibdat/natrium molibdat larutkan dalam 100 mL asam sulfat pekat panas, larutan akhir harus tak berwarna
 - 2) Eter (untuk urin)
 - 3) Natrium hidroksida (NaOH) 4 N (untuk urin)
 - 4) Etanol 95 % (untuk urin).

d. **Cara Kerja**

Lihat Metode Marquis

e. **Pembacaan Hasil**

Lihat Metode Marquis

Tabel 4.2 Hasil Tes Warna Metode Marquis, Mecke dan Frohde

Zat kimia	Marquis	Mecke	Frohde
Heroin	ungu (purple viole	hijau tua	Ungu/abu-abu/ungu
Morphine	ungu (purple violet)	hijau tua	Ungu/abu-abu/ungu
Codeine	ungu (purple violet)	hijau/biru	Biru/hijau
6 acetylmorphine	ungu (purple violet)	hijau tua	Kuning/hijau
Acetylcodeine	ungu (purple violet)	hijau tua	Ungu, warna memucat
Papaverine	tidak berwarna	biru tua	Hijau muda
Noscapine	kuning terang	hijau/biru	Merah cherry
Diazepam	jingga		
Nitrazepam, Bromazepam,	kuning (setelah didiamkan		
Amphetamin dan metamfetamin	Oranye/coklat	untuk membedakan amfetamin dan metamfetamin gunakan pereaksi Simon.	

Sumber: Moffats, 2011

Tabel 4.3 Hasil Tes Warna Reagen Frohde

Warna	Senyawa
Kuning	Hidrokodein, petidin
Biru kekuningan	Oksikodon HCL
Oranye	Difenhidramin, flurazepam, promazin
Hijau	Trifluoperazine, triflupromazine, klorfentermin, kodein, meskalin, oksikodon, feniltoloxamin

Hijau kekuningan	LSD
Biru	Pentazocin
Merah	Amfetamin, klorpromazin HCl
Meah keabuan	Propoksifen HCl
Merah keunguan	Alimemazine, diasetilmorfin, promethazin, propilhexadrin, asam salisilat, tetrasiklin, thioridazine
Coklat	Efedrin, meskalin
Coklat kemerahan	Doxepin HCl
Hitam kecoklatan	Opium
Hitam kehijauan	MDMA HCl

Sumber: Moffats 2011

4. Metode Simon

a. Prinsip

Pembentukan senyawa berwarna antara zat yang diperiksa dengan reagen Simon dalam suasana basa

b. Alat: pipet tetes, pipet, vortex mixer (untuk urin), sentrifus(untuk urin)

c. Reagen

- 1) Pereaksi I = 20 % larutan sodium karbonat dalam akuades,
Pereaksi II = 50 % larutan asetaldehida etanolik,
Pereaksi III = 1 % larutan sodium nitroprusida dalam akuades
- 2) Eter (untuk urin)
- 3) Natrium hidroksida (NaOH) 4 N (untuk urin)
- 4) Etanol 95 % (untuk urin).

d. Cara Kerja

- 1) Untuk pemeriksaan urin lakukan dulu seperti pada metode marquis, langkah (1) sampai (5)
- 2) Letakkan sejumlah kecil sampel pada lekukan plat tetes dan campurkan dengan larutan I satu tetes, lalu tambahkan 2 tetes larutan II, kemudian tambahkan beberapa tetes larutan III memberikan warna biru untuk metamfetamin dan amin sekunder lain. Amfetamin dan amin primer lain memberikan warna merah muda perlahan sampai merah cherry. Tes ini dapat membedakan amfetamin dan metamfetamin.

e. Pembacaan Hasil

Hasil akhir memberikan warna biru untuk metamfetamin dan amin sekunder lain. Amfetamin dan amin primer lain memberikan warna merah muda perlahan sampai merah cherry. Tes ini dapat membedakan amfetamin dan metamfetamin. Namun beberapa zat tambahan dapat memberikan negatif palsu.

Tabel 4.4 Reaksi Warna untuk Derivat Amfetamin

Senyawa	Marquis	Simon
Amfetamin	Oranye cerah/coklat	Coklat/NR
PMA	NR/hijau terang	Merah muda terang*
DMA	Hijau/hijau tua	Merah muda suram*
DOB	Hijau kekuningan/hijau	Merah muda terang*
DOET	Coklat kekuningan Kuning	Merah muda terang*
STP	Hitam	Merah muda terang*
MDA	Merah oranye	Merah muda terang*
TMA	Ungu	Merah muda terang*

NR = no reaction/tidak bereaksi, * = warna reagen, dianggap negative

Sumber: Moffats, 2011

5. Metode Garam Fast Blue B (1)

a. Prinsip

Sampel diekstraksi dengan petroleum eter, kemudian direaksikan dengan Garam Fast Blue B membentuk senyawa berwarna

b. Alat : kertas saring, spatel, pipet tetes

c. Reagen

- 1) Reagen padat : Garam Fast Blue B (di-o-anisidinetetrazolium klorida)
Encerkan Garam Fast Blue B dengan natrium sulfat anhydrous (1 :100)
- 2) Larutan I : Petroleum eter
- 3) Larutan II : Larutan cair dari natrium bikarbonat 10 % (w/w)

d. Cara Kerja

- 1) Lipat 2 kertas saring menjadi seperempat, buka sebagian untuk membentuk corong
- 2) Letakkan sejumlah kecil bubuk tanaman kanabis atau resin atau setetes kecil kanabis cair pada bagian tengah kertas sebelah atas
- 3) Tambahkan 2 tetes larutan 1,
- 4) Biarkan cairan sampai menembus kertas sebelah bawah

- 5) Pisahkan kedua kertas saring
- 6) Buang kertas bagian atas dan biarkan kertas bagian bawah mengering
- 7) Tambahkan sejumlah kecil reagen padat pada kertas saring bawah dan tambahkan 2 tetes larutan pereaksi II

e. Pembacaan Hasil

Warna noda merah keunguan pada bagian tengah kertas saring menunjukkan adanya kanabis, warna ini adalah kombinasi bermacam warna dari berbagai kanabinoid yang berbeda yang adalah komponen mayor dari kanabis; THC=merah, CBN = ungu, CBD = oranye.

Catatan :

- 1) Reagen padat berwarna putih/putih kekuningan saat baru dibuat. Simpan reagen dalam kantong plastik pada tempat kering dingin, dianjurkan di dalam freezer. Jika reagen terdekomposisi, akan berubah warna menjadi keabuan dan harus dibuang.
- 2) Fast Blue B bersifat potensial karsinogenik, dianjurkan menggantinya dengan dye Fast blue B.
- 3) Untuk meningkatkan spesifisitas tes, sangatlah penting untuk menggunakan materi yang diperiksa sesedikit mungkin, tak lebih dari ujung korek api dan menggunakan 2 kertas saring. Kertas saring sebelah atas yang dibuang sebelum terjadinya warna, mencegah ekstraksi kembali dyes yang ada pada materi tanaman sebelum mencapai kertas saring bawah dan menghasilkan reaksi positif palsu.
- 4) Larutan 2 menghasilkan kondisi basa yang akan meningkatkan intensitas reaksi warna antara kanabinoid dan garam Fast Blue B.

6. Metode Garam Fast Blue B (2)

a. Prinsip

Sampel diekstraksi dengan kloroform, kemudian direaksikan dengan Garam Fast Blue B membentuk senyawa berwarna

b. Alat: Tabung reaksi, Spatel, Pipet tetes, Pipet ukur

c. Reagen

- 1) Reagen padat : Garam Fast Blue B (di-o-anisidinetetrazolium klorida)
Encerkan Garam Fast Blue B dengan natrium sulfat anhidrous (2,5 :100)
- 2) Larutan I : Kloroform
- 3) Larutan II : Larutan natrium hidroksida cair 0,1 N

d. Cara Kerja

- (1) Letakkan sejumlah kecil zat yang akan diperiksa dalam tabung reaksi

- (2) Tambahkan sedikit sekali reagen padat dan 1 mL larutan I
- (3) Kocok tabung selama 1 menit
- (4) Tambahkan 1 mL larutan II
- (5) Kocok tabung reaksi selama 2 menit
- (6) Tegakkan tabung reaksi selama 2 menit

e. Pembacaan Hasil

Warna, seperti pada metode I, pada lapisan cairan kloroform bagian bawah menunjukkan hasil positif. Warna dari lapisan atas diabaikan.

7. Tes Duquenois

a. Prinsip

Cuplikan bereaksi dengan asetaldehid/vanilin dalam suasana asam sehingga terjadi perubahan warna yang larut dalam kloroform.

b. Alat: Tabung reaksi b) Pipet tetes, Vorteks Mixer

c. Reagen

- 1) Larutan I: Lima tetes asetaldehid dan 0,4 g vanilin dilarutkan dalam 20 mL etanol 95 %
- 2) Larutan II : Asam Hidroklorida pekat
- 3) Larutan III : Kloroform

Catatan

Larutan I harus disimpan dalam tempat gelap dan dingin, buang bila ada perubahan warna menjadi kuning tua

d. Cara kerja

- 1) Masukkan sedikit zat yang akan diperiksa ke dalam tabung reaksi
- 2) kocok dengan 2 mL larutan I selama 1 menit,
- 3) tambahkan 2 mL larutan II, kocok campuran
- 4) Biarkan selama 10 menit, jika muncul warna, tambahkan 2 mL larutan III.

e. Pembacaan Hasil

Jika lapisan bagian bawah (kloroform) menjadi berwarna ungu violet, menunjukkan adanya produk kanabis.

8. Metode Bratton Marshall

a. Prinsip

Pembentukan senyawa berwarna violet dengan Natrium Nitrit dan asam sulfamat dalam suasana asam

b. Alat: tabung reaksi, pipet tetes

c. Reagen

- 1) Asam Sulfat 10%
 - 2) Natrium Nitrit 0,1% (harus dibuat baru)
 - 3) Asam Sulfamat 0,5%
 - 4) N-1 Naphtylendiamine dihydrochloride 0,1%
- d. Cara Kerja
- 1) Ke dalam tabung reaksi masukkan 4 ml urin
 - 2) Tambahkan 1 tetes H₂SO₄ 10% dan 1 tetes Natrium Nitrit 0,1%
 - 3) Biarkan selama 0,5 menit
 - 4) Tambahkan 1 tetes larutan asam sulfamat 0,5% dan biarkan 0,5 menit
 - 5) Teteskan larutan N-1 Naphtylendiamine dihydrochloride 0,1%
- e. Pembacaan Hasil
- Apabila terbentuk **warna violet** secara perlahan-lahan, diduga specimen mengandung **nitrazepam**, sehingga perlu pemeriksaan lebih lanjut (konfirmasi test)

9. Metode Liebermann

- a. Prinsip
- Parasetamol setelah diekstraksi dengan eter pada pH 3-4 (HCl 2 N) bereaksi dengan NaNO₂ dalam suasana H₂SO₄ pekat membentuk senyawa berwarna ungu. Sampel yang diperiksa setelah diekstraksi dengan eter pada pH 3-4 (HCl 2 N), bereaksi dengan NaNO₂ dalam suasana H₂SO₄ pekat membentuk senyawa berwarna. Tes dilakukan untuk memberi warna jelas pada fenol.
- b. Alat: tabung reaksi, Sentrifuse, Waterbath, Pipet tetes, Pipet ukur
- c. Reagen
- 1) HCl 2N
 - 2) Eter
 - 3) Pereaksi Liebermann (1 gram NaNO₂ dalam 10 ml H₂SO₄ pekat)
- d. Cara Kerja
- 1) Kedalam tabung reaksi dimasukkan urin sebanyak 2 ml kemudian ditambahkan HCl 2 N sampai pH 3-4
 - 2) Ekstraksi dengan 5 ml eter selama 15 menit
 - 3) Keringkan ekstrak di waterbath
 - 4) Residu yang didapat ditambahkan 1 tetes pereaksi Liebermann
- e. Pembacaan Hasil

Tabel 4.5 Contoh Hasil Uji Liebermann pada tabel berikut
(lengkapnya baca Clarke's Analysis of Drugs and Poisons)

Warna	Senyawa
Merah/oranye	Phenylmethylbarbituric acid
Coklat	Haloperidol
Hitam	Diamorfin/heroin

Sumber: Moffats, 2011

10. Metode Alpha naftol

- Prinsip
Parasetamol diasamkan dengan HCl 10%, bereaksi dengan NaNO₂ dalam suasana alkalis dengan penambahan alpha naphthol membentuk senyawa berwarna merah
- Alat: tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur
- Reagen
 - HCl 10%
 - Natrium Nitrit 1%
 - Pereaksi Alpha naphthol (Alphanaphthol 1% dalam NaOH 10%)
- Cara Kerja
 - Kedalam tabung reaksi dimasukkan urin sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan HCl 10% dinginkan
 - Tambahkan 2-3 tetes larutan Natrium Nitrit 1%
 - Tambahkan 2-3 tetes Alphanaphthol 1% dalam NaOH 10% (dibuat baru)
- Pembacaan Hasil
Apabila terbentuk **warna violet** secara perlahan-lahan, diduga specimen mengandung **nitrazepam**, sehingga perlu pemeriksaan lebih lanjut (konfirmasi test)

11. Metode O-Cressol

- Prinsip
Parasetamol dan metabolitnya dihidrolisa dalam suasana asam menjadi *para*-Aminophenol, dengan asam cresol membentuk senyawa berwarna biru terang
- Alat: pipet, tabung reaksi
- Reagen
Pergunakan semua reagen proanalisa
 - Pereaksi o-Cressol
Jenuhkan pereaksi o-Cressol

Kocok 10 ml o-Cressol dengan 1 aquadest, biarkan selama 24 jam sebelum digunakan

- 2) Ammonium Hidroksida 2 mol/l (2M)
- 3) HCl 36%
- 4) Standar urin

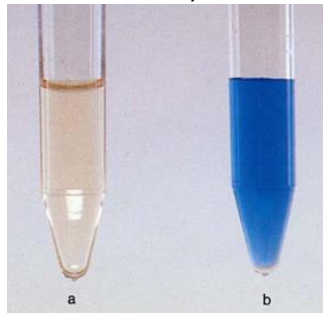
Pergunakan urin specimen pasien yang telah mengkonsumsi Parasetamol 1 gram dalam waktu 24 jam

d. Cara Kerja

- 1) Pipet 0,5 ml specimen (test urin, standar urin dan aquadest sebagai blanko) masing-masing tambahkan 0,5 ml HCL 36% kemudian panaskan diatas *waterbath* selama 10 menit pada suhu 100°C
- 2) Ke dalam campuran diatas tambahkan 10 ml air, 1 ml O-Cressol 1% dalam air dan 4 ml Ammonium Hidroksida 2 mol/l (2M)
- 3) Perhatikan warna yang terbentuk

e. Pembacaan Hasil

Apabila terbentuk **warna biru**, diduga specimen mengandung **Parasetamol**, sehingga perlu pemeriksaan lebih lanjut (konfirmasi test)



Gambar 4.1 Uji Kualitatif Parasetamol (Ortho-cressol test), a. blanko, b. hasil uji positif

Sumber: WHO, 1995

12. Metode Feri Chlorida

a. Prinsip

Pembentukan senyawa berwarna ungu antara FeCl_3 dengan Asam Salisilat

b. Alat : pipet, tabung reaksi

c. Reagen

Larutan FeCl_3

d. Cara Kerja

- 1) Spesimen Urin
 - a) Pipet 2 ml urin
 - b) Tambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 5%

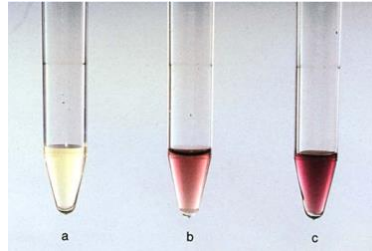
- 2) Spesimen cairan lambung
 - a) Panaskan sampai mendidih selama 10 menit beberapa bagian specimen dengan HCl 0,1N dalam jumlah volume yang sama, bila perlu saring dengan kertas saring
 - b) Tambah NaOH 0,1N sampai netral
 - c) Kemudian tambahkan 3 tetes FeCl₃ 5%
- e. Pembacaan Hasil
 Apabila terbentuk **warna ungu**, diduga specimen mengandung **Salisilat**, sehingga perlu pemeriksaan lebih lanjut (konfirmasi test)

13. Metode Trinder

- a. Prinsip
 Terbentuknya senyawa berwarna ungu antara asam salisilat dan merkuri khlorida dalam suasana asam
- b. Alat: pipet, tabung reaksi, kertas saring
- c. Reagen
 - 1) Pereaksi Trinder
 40 gram Merkuri Klorida dilarutkan dalam 850ml asam hidroklorida 0,1 M (1mol/L) dan 40 mg feri nitrat trihidrat, diencerkan sampai 1l dengan aquadest
 - 2) Asam Hidroklorida 0,1M
 - 3) Natrium Hidroksida 0,1M
- d. Cara Kerja
 - 1) Spesimen Urin
 Masukkan 1 ml urin pH (5-6) ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 5 tetes reagen Trinder, kocok
 - 2) Spesimen darah
 Masukkan 0,5 ml plasma kedalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 4,5 ml pereaksi Trinder, kocok kemudian sentrifus
 - 3) Spesimen cairan lambung
 Untuk specimen yang berupa cairan lambung perlu dilakukan persiapan specimen dengan cara sebagai berikut;
 - a) Masukkan 2 ml cairan lambung ke dalam tabung reaksi tambahkan 2 ml HCl 0,1M, didihkan selama 10 menit, dinginkan, kemudian saring jika perlu, netralkan filtrate dengan menambahkan larutan NaOH 0,1M
 - b) Kedalam filtrat cairan lambung tambahkan 3 tetes pereaksi trinder, campur selama 5 detik

e. Pembacaan Hasil

Apabila terbentuk **warna ungu**, diduga specimen mengandung **Salisilat**, sehingga perlu pemeriksaan lebih lanjut (konfirmasi test)



Gambar 4.2 Uji Kualitatif salisilat (Trinder test)

a. blanko urin, b. hasil uji positif lemah, c. hasil uji positif kuat.

Sumber : WHO, 1995

14. Kalium Bikromat

a. Prinsip

Terbentuknya warna hijau hasil oksidasi antara etanol dalam spesimen urin dengan kalium bikromat dalam suasana asam.

b. **Alat:** Kertas saring Whatman (Glass-Fibre filter paper), tabung reaksi, penangas air

c. **Reagen**

- 1) Larutan kalium bikromat ($K_2Cr_2O_7$) 2,5 %
- 2) Asam sulfat (H_2SO_4) 50 %

d. **Cara Kerja**

- 1) Masukkan 5 mL spesimen urin dalam tabung reaksi, lalu tutup
- 2) Pada kertas saring teteskan $K_2Cr_2O_7$ tambahkan H_2SO_4
- 3) Masukkan kertas saring tersebut dibagian atas leher tabung
- 4) Sumbat mulut tabung dengan gabus dan panaskan pada penangas air suhu $100^\circ C$ selama 2 menit

e. **Interpretasi Hasil**

- 1) Perubahan warna dari kuning menjadi hijau menandakan alkohol positif.
- 2) Etanol memberikan reaksi positif bila kadarnya lebih dari 40 mg %.

15. Mikrodifusi

a. Prinsip

Di dalam tempat yang kedap, alkohol dalam spesimen urin akan menguap dan bereaksi dengan kalium bikromat dalam suasana asam sehingga terjadi perubahan warna.

b. **Alat :** cawan Conway (Gambar 4.3), pipet ukur

c. **Reagen:** Kalium bikromat: 0,5 g Kalium bikromat dalam 100 ml asam sulfat 60%

d. Cara Kerja

- 1) Tempatkan spesimen di bagian tepi cawan sampai tertutup dasarnya
- 2) Tambahkan beberapa ml kalium bikromat di sekitar tempat spesimen tersebut.
- 3) Tutup rapat cawan tersebut dan inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam

e. Interpretasi Hasil

Warna kalium bikromat berubah dari kuning menjadi hijau selanjutnya biru.

16. Metanol

a. Prinsip

Terbentuknya warna hijau hasil oksidasi antara etanol dengan kalium bikromat dalam suasana asam.

b. Alat Tabung reaksi dan Pipet tetes

c. Reagen

- 1) Larutan kalium bikromat ($K_2Cr_2O_7$) 2,5 % dalam asam sulfat (H_2SO_4) 50 %
- 2) Asam kromotropat
- 3) Etanol

d. Cara Kerja

- 1) Ke dalam 1 ml urin, tambahkan 1 tetes $K_2Cr_2O_7$ 2,5 % dalam (H_2SO_4) 50 %
- 2) Biarkan pada suhu kamar selama 5 menit
- 3) Tambahkan 1 tetes etanol dan beberapa mg asam kromotropat
- 4) Tambah H_2SO_4 sehingga timbul suatu lapisan pada dasar tabung

e. Interpretasi hasil

Warna ungu pada lapisan pemisah menunjukkan adanya metanol.

Catatan : formaldehid akan memberikan reaksi positif pada uji ini.

Beberapa pereaksi warna yang sudah dipaparkan, sekarang sudah tersedia dalam bentuk kit yang didesain sedemikian rupa sehingga tidak diperlukan pengukuran bahan kimia atau peralatan tabung reaksi atau plat tetes. Pada masing-masing tabung plastik transparan yang dilengkapi dengan pereaksi kimia untuk setiap pengujian. Sejumlah tertentu bahan yang diduga ditambahkan kemudian pengujian dilakukan sesuai instruksi (Lanchashire, 2014).

1. Pereaksi Mayer

Pereaksi Mayer pereaksi pengendap untuk alkaloid yang dibuat dari larutan merkuri klorida dan kalium iodida dalam air deionisasi. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:
$$\text{Alkaloid} + K_2 [HgI_4] \leftrightarrow [\text{Alkaloid-H}^+] [HgI_3]^- \downarrow \text{garam } [HgI_4] \text{ alkaloid}$$

Pembentukan endapan putih krem menunjukkan adanya salah satu alkaloid narkotika atau amfetamin. Uji Mayer sering merupakan tes skrining pertama yang dilakukan dan

hasilnya dapat menentukan pengujian lebih lanjut dengan Reagen Marquis atau Reagen Dille-Koppanyi.



Gambar 4. 4 Kit reagen Mayer

Sumber: Lancashire, 2011

2. Reagen Marquis

Pereaksi Marquis adalah tes spot untuk alkaloid yang pertama kali dilaporkan pada tahun 1896. Pereaksi aslinya adalah campuran 2 tetes formaldehid 40% dan 3 mililiter asam sulfat pekat. Ini awalnya digunakan untuk mendeteksi sejumlah kecil alkaloid tertentu, dan untuk membedakannya. Tanda alkaloid adalah warna awal yang dihasilkan, begitu pula urutan perubahan warna yang terjadi seiring berjalannya waktu. Pada awalnya pereaksi Marquis digunakan terutama untuk membedakan alkaloid opium. Setiap alkaloid memiliki pola perubahan warna.



Gambar 4. 5 Kit Reagen Marquis

Sumber: Lancashire, 2011

Reaksi warna morfin dengan Marquis Reagent menghasilkan warna ungu ke violet. Reaksi terjadi antara dua molekul morfin dan dua molekul formaldehid berkondensasi dengan asam sulfat pekat membentuk dimer yang diprotonasi menjadi garam oxoniumcarbenalum.

3. Reagen Cobalt Tiosianat, uji Scott

Reagen terdiri dari larutan Cobalt thiocyanate dalam air dan larutan stannous chloride dalam air. Merupakan uji lapangan yang digunakan untuk mengidentifikasi kokain (*crack*) pada sampel dijalanan. Uji ini didasarkan pada kompleksasi larutan alkaloid dengan larutan kobalt (II) tiosianat ($\text{Co}(\text{SCN})_2(\text{H}_2\text{O})_4$) yang menghasilkan warna biru akibat perubahan dari Cobalt oktahedral (II) (pink merah) menjadi Co (II)tetrahedral (biru). Reaksinya sebagai berikut:

$$[\text{Co}(\text{SCN})(\text{H}_2\text{O})_5] + (\text{aq}) + 3 \text{SCN}^- (\text{aq}) + 2 \text{R}_3\text{NH}^+ \leftrightarrow (\text{R}_3\text{NH})_2 [\text{Co}(\text{SCN})_4] + 5 \text{H}_2\text{O} (\text{l})$$
dimana $[\text{R}_3\text{NH}]^+$ mewakili ion kokain terprotonasi.

Pada suhu 4°C, sensitivitas uji ditemukan dua kali lipat dibandingkan suhu kamar (22°C), sedangkan suhu di atas 40°C menurunkan sensitivitas uji lebih dari dua kali lipat dibanding suhu kamar. Temuan ini dengan jelas menunjukkan dampak penyimpanan, penggunaan, dan interpretasi alat uji kokain yang tersedia secara komersial di lapangan dapat mengalami kerusakan akibat penyimpanan pereaksi pada suhu panas.



Gambar 4. 6 Kit Reagen Scott

Sumber: Lancashire, 2011

4. Reagen Dille-Koppanyi

Pereaksi ini terdiri dari dua bagian yaitu: bagian A adalah 0,1 g kobalt (II) asetat dihidrat yang dilarutkan dalam 100 ml metanol dicampur dengan 0,2 ml asam asetat glasial. Bagian B terdiri dari 5% isopropilamina (v/v) dalam metanol. Dua tetes reagen A ditambahkan ke substansi diikuti dengan penambahan satu tetes reagen B kemudian perubahan warnanya diamati.



Gambar 4. 7 Kit Reagen Dille-Koppanyi

Sumber: Lancashire, 2011

Tes ini menghasilkan warna ungu cerah terhadap fenobarbital, pentobarbital, amobarbital dan secobarbital. Barbiturat yang tidak tersubstitusi N dapat dideteksi dengan Reagen Dille-Koppanyi. Isopropilamina bertanggung jawab atas deprotonasi molekul barbiturat. Warna ungu disebabkan oleh pembentukan kompleks antara dua molekul barbiturat, dua molekul isopropilamina di sekitar kobalt tetrahedral (II). Isopropilamina bertindak sebagai stabilisator kompleks.

5. Reagen Mandelin

Reagen Mandelin dibuat dengan penambahan 100 mL asam sulfat pekat (95-98%) pada 1 gram amonium vanadat.



Gambar 4. 8 Kit Reagen Mandeline

Sumber: Lancashire, 2011

Larutan asam amonium vanadat-sulfat, untuk uji strychnine pertama kali diusulkan oleh Mandelin. Beberapa alkaloid selain strychnine akan memberi reaksi warna dengan reagen ini. Menurut Witthaus, alkaloid berikut memberikan reaksi mirip strychnine dengan reagen ini:

- a. Curarin memberi warna yang sama, tapi timbulnya warna lambat. Curarin, tidak diekstraksi dengan pelarut organik dalam larutan alkali.
- b. Gelsemin menghasilkan warna ungu atau merah violet.
- c. Yohimbine, alkaloid yang diperoleh dari kulit kayu *Corynanthe yohimbe*, memberi warna ungu yang sama dengan reagen Mandelin terhadap strychnine. Namun setelah pengenceran dengan air warna ungu yang dihasilkan oleh strychnine berubah menjadi warna merah mawar, sedangkan dengan yohimbine tidak ada warna yang terjadi pada pengenceran. Warna yang khas terjadi dari dua puluh tiga dari alkaloid umum diperoleh.
- d. Apomorphine dan papaverin menghasilkan warna violet atau biru-violet.

6. Reagen Ehrlich

Pereaksi ini adalah larutan p-dimethylamino benzaldehyde dan asam klorida pekat.



Gambar 4. 9 Kit Reagen Ehrlich

Sumber: Lancashire, 2011

Uji ini didasarkan pada reaksi kondensasi satu molekul LSD dengan satu molekul p-dimethylamino benzaldehyde, terbentuk carbinole. Setelah air protonasi dieliminasi membentuk ion karbenium, yang kemudian bereaksi dengan penambahan molekul kedua LSD, kemudian teroksidasi menjadi sianin ungu.

7. Reagen Duquenois-Levine

Tes ini awalnya dikembangkan oleh Pierre Duquenois, dan diadopsi WHO sebagai tes yang untuk ganja. Reagen terdiri dari 2 gram vanillin dan 2,5 mililiter asetaldehida sampai 100 mililiter etanol.



Gambar 4. 10 Kit Reagen Duquenois-Levine
Sumber: Lancashire, 2011

Tes Duquenois-Levine menggambarkan penentuan resin ganja dengan membentuk produk berwarna ungu di atas, yang dapat diekstraksi dengan kloroform.

8. KN (Fast Blue B Salt) Reagen

KN = Kanto-Shin'etsu, *Control Narcotics Office*, Jepang

Tes presumtif ini dirancang untuk mengidentifikasi keberadaan THC pada marijuana, hashish atau *hash oil*. Hal ini juga dirancang untuk bereaksi dengan bahan daun hijau Marijuana segar. Setelah pecahnya ampul kedua, akan terjadi dual lapisan dan lapisan bawahnya akan berwarna merah tomat untuk tes positif.

Reagen KN mengandung larutan naphthanil diazo blue B dalam kloroform dan larutan natrium hidroksida dalam air.



Gambar 4. 11 Kit Reagen KN
Sumber: Lancashire, 2011

9. Reagen Mecke Modifikasi

Reagen Mecke digunakan sebagai uji sederhana untuk menduga alkaloid dan senyawa lainnya. Reagen yang dibuat dengan penambahan 100 mL asam sulfat pekat dengan 1 g asam selenat diteteskan ke zat yang diuji.

Warna biru ke hijau yang dihasilkan oleh Reagen Mecke dengan morfin diperkirakan timbul dari *rearrangement* awal hingga apomorphine, yang dengan adanya asam selenat dioksidasi menjadi o-kuinon apomorphine.



Gambar 4. 12 Kit Reagen Mecke

Sumber: Lancashire, 2011

B. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) atau *thin layer chromatography (TLC)* adalah teknik yang banyak digunakan untuk pemisahan dan identifikasi obat. Hal ini berlaku juga untuk obat-obatan dalam keadaan murni, yang diekstraksi dari formulasi farmasi, bahan-bahan yang diproduksi secara tidak resmi, dan sampel biologis.

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu contoh kromatografi planar disamping kromatografi kertas. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya dikemas dalam kolom, maka pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya adalah berupa lapisan seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik (Gandjar dan Rohman, 2009).

Fase gerak atau pelarut pengembang akan bergerak naik sepanjang fase diam karena adanya gaya kapilaritas pada sistem pengembangan menaik (*ascending*). Pemilihan fase gerak baik untuk TLC maupun HPTLC didasarkan pada keterpisahan senyawa-senyawa dalam analit yang didasarkan pada nilai **Rf** atau **hRf (100Rf)**. Pemisahan senyawa terjadi berdasarkan kompetisi pengikatan solut dan solven pada fasa diam. Nilai Rf diperoleh dari membagi jarak pusat kromatogram dari titik awal dengan jarak

pergerakan pelarut dari titik awal. Penghitungan nilai R_f ditunjukkan dengan persamaan dibawah ini.

$$R_f = \frac{\text{jarak tempuh komponen}}{\text{jarak tempuh eluen}}$$

1. Fase diam (*stationary phase*)

Pelat KLT konvensional dapat disiapkan di laboratorium dengan metode standar, namun persiapan lapisan yang dapat direproduksi lebih mudah dicapai dalam pengaturan pembuatan dan beberapa laboratorium menyiapkan plat mereka sendiri hari ini. Pelat *precoated* untuk kinerja tinggi, KLT konvensional dan preparatif tersedia dalam berbagai ukuran dan ketebalan lapisan yang berbeda, didukung pada lembaran aluminium, kaca atau plastik. Untuk memberikan stabilitas mekanis dan ketahanan abrasi yang diinginkan digunakan lapisan pengikat, seperti poli (vinil alkohol), poli (vinil pirolidon), gipsium atau pati dalam jumlah dari 0,1% sampai 10% (b / b) dimasukkan ke dalam lapisan. Indikator ultraviolet (UV), seperti zinc silikat yang diaktivasi mangan dengan ukuran partikel yang serupa dengan sorben, dapat ditambahkan ke lapisan untuk memvisualisasikan sampel terpisah dengan pendinginan fluoresensi. Pelat KLT dengan zona preadsorbent sempit yang terletak di sepanjang satu tepi lapisan tersedia untuk membantu aplikasi contoh secara manual.

Silika gel adalah fase diam yang paling penting untuk KLT, dengan adsorben oksida anorganik lainnya, seperti alumina, kieselguhr (silika gel dengan luas permukaan rendah) dan Florisil (magnesium silikat sintetik). Sebagian besar sorben silika gel memiliki ukuran pori rata-rata 6 nm dan dirancang untuk pemisahan molekul kecil (massa molekular relatif <700).

2. Fase gerak (*mobile phase*)

Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Berikut ini beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak: fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik sensitif; daya elusi harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2 – 0,8; polaritas fase gerak dapat mempengaruhi kecepatan migrasi solut dan penentuan harga R_f ; untuk campuran ionik dan polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya dengan perbandingan tertentu.

3. Aplikasi (Penotolan)

Obat diteteskan ke plate KLT sebagai titik atau pita dengan ukuran minimum dengan distribusi bahan homogen di dalam zona awal. Untuk lapisan berkinerja tinggi, dengan diameter titik awal yang diinginkan sekitar 1,0 sampai 2,0 mm, ini sesuai dengan volume sampel 100 sampai 200 nL jika diaplikasikan dengan dosimeter (mikropipet). Untuk pelat KLT konvensional, volume sampel lima sampai sepuluh kali lipat lebih besar dapat diterima. Sifat yang diinginkan dari larutan sampel dirangkum dalam Tabel 4. Jika pemindaian densitometri digunakan untuk deteksi, contoh aplikasi manual dengan perangkat genggam tidak memadai. Untuk densitometri, posisi awal setiap titik harus diketahui secara akurat, yang dicapai dengan mudah dengan alat mekanis yang beroperasi pada mekanisme grid yang tepat. Sampel juga harus diterapkan pada lapisan tanpa mengganggu permukaan, sesuatu yang hampir tidak mungkin dicapai dengan menggunakan aplikasi manual.

Contoh perangkat aplikasi untuk TLC mencakup berbagai kecanggihan dan otomasi. Perangkat yang paling populer untuk TLC kuantitatif menggunakan teknik spray-on. Atomiser nitrogen yang terkontrol menyemburkan sampel dari semprot atau kapiler, untuk membentuk pita homogen yang sempit pada permukaan pelat. Pelat dipindahkan bolak-balik di bawah atomiser pada tahap translasi untuk menerapkan pita dengan panjang antara nol (titik) dan panjang transit maksimum kepala semprot. Band biasanya berukuran 0,5 atau 1,0 cm, dengan pita yang lebih panjang digunakan terutama untuk pemisahan skala preparatif. Tingkat deposisi sampel juga dapat disesuaikan untuk mengakomodasi larutan sampel dengan volatilitas dan viskositas yang berbeda. Keuntungan dari semprotan pada perangkat adalah volume volume larutan standar tunggal yang berbeda dapat diterapkan untuk keperluan kalibrasi dan metode penambahan standar kuantifikasi dilakukan dengan mudah dengan membolak-balik sampel yang telah diterapkan pada lapisan dengan larutan standar. Aplikator sampel otomatis lengkap dapat diprogram untuk memilih sampel dari rak botol dan menyimpan volume tetap sampel, pada tingkat yang terkontrol, ke posisi yang dipilih di piring. Aplikator secara otomatis membilas dirinya sendiri di antara aplikasi sampel dan dapat melihat atau mengencangkan seluruh piring dengan sampel dan standar yang berbeda tanpa intervensi operator.

Penggunaan KLT dapat berupa analisis kualitatif dan analisis kuantitatif. Pada analisis kualitatif, KLT dapat digunakan untuk uji identifikasi senyawa baku. Parameter pada KLT yang digunakan untuk identifikasi adalah nilai R_f . Dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai R_f yang sama jika diukur pada kondisi KLT yang sama. Untuk meyakinkan identifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan lebih dari 1 fase gerak dan jenis pereaksi semprot.

Untuk analisis kuantitatif pada KLT dapat digunakan dua cara. Pertama, bercak pada plat KLT diukur langsung pada lempeng dengan menggunakan ukuran luas atau dengan teknik densitometri. Cara kedua adalah dengan mengerok bercak lalu menetapkan kadar senyawa yang terdapat dalam bercak tersebut dengan metode analisis yang lain, misalkan dengan metode spektrofotometri.

Teknik pengembangan (elusi) utama di TLC bersifat linier, melingkar dan anticircular, dengan kecepatan fase gerak yang dikendalikan oleh gaya kapiler. Analisis kuantitatif dari suatu senyawa yang telah dipisahkan dengan KLT biasanya dilakukan dengan densitometer langsung pada lempeng KLT (atau secara *in situ*). Densitometer dapat bekerja secara serapan atau fluoresensi, dimana kebanyakan densitometer mempunyai sumber cahaya yang diarahkan menuju monokromator (untuk memilih rentang panjang gelombang yang cocok antara 200-800), sistem untuk memfokuskan sinar pada lempeng, pengganda foton, dan rekorder.

Densitometer dapat bekerja secara serapan atau fluoresensi. Kebanyakan densitometer mempunyai sumber cahaya monokromator (rentang panjang gelombang 190 s/d 800 nm) untuk memilih panjang gelombang yang cocok, sistem untuk memfokuskan sinar pada lempeng, pengganda foton, dan rekorder. Penggunaan monokromator lebih menguntungkan karena memudahkan pengubahan panjang gelombang dan menghasilkan berkas sinar dengan sedikit panjang gelombang. Jenis sumber cahaya tergantung pada panjang gelombang cahaya yang digunakan, yaitu: lampu hidrogen, raksa atau, ksenon untuk pengukuran sinar UV dan lampu wolfram untuk panjang gelombang sinar tampak. Output detektor dikonversikan menjadi signal dan diamplifikasi. Sebagai tambahan untuk scanning instrumen densitometer dilengkapi dengan digital konverter, dan data akan diproses secara digitalisasi oleh komputer. Analisis dapat bekerja dengan densitometri pada jangkauan panjang gelombang 190 s/d 800 nm. Terjadinya penyimpangan baseline yang disebabkan oleh variasi ketebalan dan ketidakseragaman lapisan pada densitometer sangat kecil dan level signalnya relatif tinggi.

Prinsip kerja spektrofotodensitometri berdasarkan interaksi antara radiasi elektromagnetik dari sinar UV-Vis dengan analit yang merupakan noda atau bercak pada plat. Radiasi elektromagnetik yang datang pada plat diabsorpsi oleh analit, ditransmisi atau diteruskan jika plat yang digunakan transparan. Radiasi elektromagnetik yang diabsorpsi oleh analit atau indikator plat dapat diemisikan berupa fluoresensi dan fosforesensi. Sumber radiasi pada spektrodensitometri ada tiga macam tergantung pada rentang panjang gelombang dan prinsip penentuan. Lampu deuterium dipakai untuk pengukuran pada daerah ultraviolet (190-400 nm) dan lampu tungsten digunakan untuk

pengukuran pada daerah sinar tampak (400-800 nm) sedangkan untuk penentuan secara fluoresensi digunakan lampu busur merkuri bertekanan tinggi.

Untuk penentuan kadar, yang ditetapkan adalah absorpsi maksimum kurva absorpsi. Jika absorpsi ini untuk penentuan kadar adalah sangat rendah atau senyawa mula-mula mengabsorpsi di bawah 220 nm, maka seringkali senyawa diubah dulu menjadi suatu zat warna melalui reaksi kimia, dan absorpsi ditentukan dalam daerah sinar tampak (kolorimetri). Walaupun pada semua penentuan kadar absorpsi yang diukur, penyelesaian percobaannya sangat berbeda. Berikut ini adalah contoh penyelesaiannya :

- a. Menggunakan Hukum Lambert Beer

$$A = \epsilon c d$$

A adalah daya serap, ϵ adalah daya serap molar (dalam mole cm^{-1}), c adalah kadar (dalam mole liter $^{-1}$) dan d adalah panjang jalur (dalam cm).

Persamaan di atas berlaku menyeluruh sebagai dasar pokok analisis kuantitatif pada spektroskopi serapan. Suatu cara sederhana untuk mengkuantitasi suatu bahan penyerap ialah dengan mengukur daya serapnya pada panjang gelombang tertentu dan menyubstitusikan A, ϵ dan d ke persamaan di atas untuk mendapatkan c.

- b. Menggunakan Kurva Kalibrasi

Bila ϵ tidak diketahui dan terakan murni analit tersedia, kurva kalibrasi dapat dibuat (daya serap terhadap kadar). Lereng kurva tersebut adalah ϵd dan bila d diketahui maka ϵ dapat dihitung. Terakan tunggal yang diketahui kadarnya dapat digunakan untuk menentukan ϵ , tetapi hal ini kurang handal daripada penggunaan kurva kalibrasi. Selain itu kadar terakan yang tak diketahui dapat dibaca langsung dari kurva kalibrasi dengan mencari daya serap yang tak diketahui pada kurva dan menarik garis tegak lurus ke bawah pada sumbu kadar (sumbu x). Metode ini sangat bermanfaat terutama jika nyata terlihat adanya penyimpangan terhadap hukum Beer (non linear).

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Jelaskan tujuan tes *screening* pada pemeriksaan obat-obat terlarang!
2. Jelaskan kelebihan dan kekurangan pemeriksaan narkotika dan psikotropika dengan metode test warna!
3. Jelaskan prinsip KLT!
4. Apa yang dimaksud fase diam dan fase gerak pada KLT?
5. Bagaimana cara memilih fase gerak pada KLT?

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Tes *screening* meliputi tujuan, metode, kelebihan dan kekurangan masing-masing.
2. Kromatografi lapis tipis meliputi prinsip, teknik, dasar pemilihan fase diam dan fase gerak (eluen)

Ringkasan

Pada pemeriksaan penyebab kasus toksikologis ada banyak sekali kemungkinan penyebabnya, oleh karena itu perlu dilakukan uji penyaring (*screening test*) untuk mengarahkan pemeriksaan. Uji penyaring yang sering digunakan adalah tes warna. Meskipun terdapat beberapa kelemahan antara lain spesifitas rendah akibat gugus fungsi senyawa yang mirip dapat memberikan hasil yang positif, dan subyektifitas penafsiran hasil. Saat melakukan tes warna, penting untuk selalu melakukan analisis secara bersamaan dengan sampel uji, yaitu: tes blanko sampel urin bebas analit atau dapat digunakan akuades, dan control positif yang mengandung analit dengan konsentrasi yang diketahui atau menggunakan urin.

Kromatografi lapis tipis merupakan metode yang dapat digunakan baik tujuan pemisahan atau untuk uji penyaring. KLT juga bisa digunakan untuk uji konfirmasi yang dapat dilanjutkan ke uji kuantitasi. Deteksi terhadap bercak yang timbul pada dipakai cara menyemprot lempeng dengan pereaksi yang sesuai, beberapa menggunakan pereaksi pada uji warna. Data yang diperoleh dari KLT adalah nilai RF yang berguna untuk identifikasi senyawa. Nilai RF untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan nilai RF dari senyawa standar.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Uji warna perlu dilakukan sebagai pengarah pemeriksaan toksikologis. Apakah kelebihan dan kekurangan metode ini?
 - A. Sensivitas rendah, spesifitas tinggi
 - B. Sensitivitas tinggi, spesifitas rendah
 - C. Pengerjaan cepat, reagen mahal
 - D. Pengerjaan mudah, pengamatan sulit
 - E. Alat minimal, tidak aman

2. Suatu zat yang dicurigai pada kasus penyalahgunaan obat direaksikan dengan pereaksi Marquis menghasilkan warna ungu. Senyawa apakah yang paling mungkin?
 - A. LSD
 - B. Ganja
 - C. Morfin
 - D. Cocain
 - E. Amfetamin

3. Suatu zat yang dicurigai pada kasus keracunan obat direaksikan dengan pereaksi FeCl_3 menghasilkan warna ungu. Senyawa apakah yang paling mungkin?
 - A. Asam salisilat
 - B. Emfetamin
 - C. Alcohol
 - D. metanol
 - E. Sianida

4. Jika dari hasil uji warna dinyatakan positif, langkah apakah yang selanjutnya tepat dilakukan?
 - A. Langsung melaporkan hasil uji
 - B. Melakukan uji konfirmasi
 - C. Membuang sisa sampel
 - D. Menyimpan sisa sampel
 - E. Mengulang tes warna

5. Kromatografi lapis tipis adalah salah satu metode pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kecepatan migrasi zat. Bilamana suatu tes dinyatakan positif?
 - A. Bila arah bercak sama dengan standar
 - B. Bila warna bercak sama dengan standar
 - C. Bila bentuk bercak sama dengan standar
 - D. Bila kadar bercak sama dengan standar
 - E. Bila nilai R_f sama dengan R_f standar

Topik 2

Metode Analisis Toksikologi Modern

A. **POINT OF CARE TEST (POCT)**

Point-of-care test (POCT), mengacu pada pengujian yang dilakukan secara dekat terhadap pasien atau subjek, dengan tujuan memberikan hasil yang segera. *Laboratory Medicine Practice Guideline (National Academy Clinical Biochemistry)* mendefinisikan POCT sebagai pengujian laboratorium klinis yang dilakukan di dekat lokasi perawatan pasien, biasanya oleh petugas klinis yang ketrampilan utamanya tidak dalam ilmu laboratorium klinis atau bisa dilakukan oleh pasien (*self-testing*). Dengan demikian, POCT dapat dianggap sebagai pengujian yang dilakukan di luar laboratorium tradisional dan dapat juga disebut sebagai uji laboratorium pengawasan perawatan di tempat, pengujian di samping tempat tidur, pengujian dekat-pasien (*Near Patient Test=NPT*), pengujian di rumah dan perawatan diri sendiri.

POCT dalam toksikologi lebih ditujukan untuk pengujian terhadap obat yang disalahgunakan dan alkohol. POCT dapat ditinjau dari beberapa sudut pandang.

Berdasarkan dasar reaksinya terdapat beberapa jenis, yaitu:

1. Reaksi aglutinasi
2. Antibody kromogenik
3. Obat kromogenik – konjugat

Berdasarkan pengamatan hasil bisa secara:

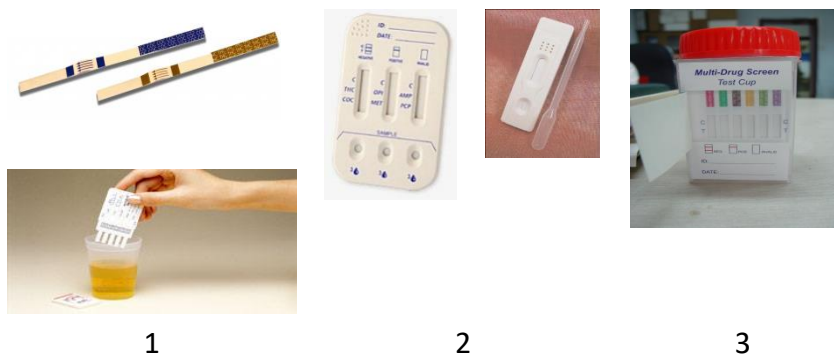
1. Visual
2. Semi otomatis

Berdasarkan bentuknya terdapat bentuk: (Gambar 4.4)

1. Strip dan *dip card* (kartu celup)
2. *Cassette*
3. *Test-cup*
4. Automatic

Sampel pengujian POCT dapat berupa:

1. Urin
2. Udara ekspirasi
3. Saliva atau *oral fluid*
4. Keringat



Gambar 4.13 Bentuk-bentuk Media Test POCT

Sumber: Innova Bio Sciences, 2017,

Metode yang dikembangkan adalah didasarkan pada reaksi aglutinasi lateks yang lebih dikenal dengan *laminar flow immunoassay (LFI)*.

Penggunaan sistem POCT dapat dilakukan untuk membantu diagnosis penyakit, pemantauan terapi, atau mendeteksi racun. Namun, dalam konteks toksikologi analitis, istilah ini umumnya diterapkan pada skrining obat-obatan terlarang. Sifat tes yang dilakukan juga akan tergantung pada di mana tes itu dilakukan. Perangkat yang bisa digunakan pada pengujian pinggir jalan atau pintu masuk untuk digunakan oleh petugas polisi atau petugas bea cukai yang terlatih harus portabel, tangguh dan dapat diandalkan, sementara perangkat POCT untuk pengujian di tempat kerja harus mudah digunakan dan memberikan hasil yang tidak ambigu.

Jika hasilnya dapat menyebabkan tindakan hukum, dalam keadaan ini, penting agar sampel diambil untuk analisis konfirmasi oleh GC-MS atau HPLC-MS hasil uji POCT obat terlarang (*drugs of abuse*).

1. Sampel dan pengumpulan sampel

POCT menggunakan sampel yang hanya memerlukan penanganan minimal sebelum analisis, matrik umum berupa urine, darah, cairan oral atau keringat. Selain itu, udara nafas digunakan untuk mendeteksi dan mengukur etanol dan karbon monoksida.

Pengujian penyalahgunaan obat terlarang biasanya dilakukan dengan urin, dengan menggunakan sistem POCT berdasarkan *immunoassays*. Cairan oral telah disarankan sebagai alternatif pengganti untuk sampel air liur, karena lebih dapat diawasi, dan terhindar dari kemungkinan terjadinya gangguan dan pemalsuan. Namun, sampel air liur lebih cenderung menular daripada urin dan volume sampel mungkin terbatas.

Air liur memiliki pH rata-rata 6,5, namun stimulasi aliran air liur dapat meningkatkan pH ini sampai pH 8 yang dapat memberi efek nyata pada plasma: rasio air liur dari elektrolit lemah. Senyawa *lipophilic* lebih mudah berdifusi dari plasma menjadi air liur dan jadi obat induk: rasio metabolit mungkin berbeda dalam air liur dibandingkan dengan plasma dan urine.

Kokain: rasio benzoylecgonine, misalnya, lebih tinggi dalam air liur daripada di plasma dan urine. Dengan demikian, kit POCT yang dirancang untuk digunakan dengan sampel cairan oral mungkin perlu menargetkan analit yang berbeda daripada yang digunakan saat menguji urin dan pastinya target konsentrasi akan lebih rendah. Keuntungan dari cairan oral untuk pengujian di lapangan adalah bahwa hasilnya berhubungan langsung dengan konsentrasi obat dalam darah, dibandingkan dengan adanya obat dalam urin.

Seperti air liur, produksi keringat tidak seragam dalam jumlah maupun komposisi. Keringat *insensible* adalah keringat yang keluar dari tubuh melalui kulit yang tidak membentuk tetesan. Keringat *sensible*, yaitu keringat yang bisa dilihat sebagai cairan, dapat menetes, timbul dari dua jenis kelenjar, apokrin dan eccrine. Yang pertama, yang cenderung berada di daerah aksila, kemaluan dan mammae, lebih besar dan mengeluarkan zat yang lebih banyak. Permukaan kulit juga ditutupi dengan sekresi sebaceous, terutama lipid, konsentrasi tinggi ditemukan di kulit kepala dan dahi. Dengan demikian, cairan yang dikumpulkan untuk analisis pada umumnya adalah campuran sekresi. Seperti halnya rambut, kontaminasi permukaan oleh paparan penggunaan narkoba oleh orang lain (misalnya merokok kokain atau ganja) adalah masalah potensial.

Ada dua metode pengumpulan dan pengujian keringat. Salah satunya adalah dengan *Drugwipe*, yang bisa juga digunakan untuk air liur. Bentuk lainnya adalah 'plester lengket' *tamper-proof* yang bisa digunakan untuk mengumpulkan keringat selama beberapa hari dan umumnya digunakan di klinik. Ada konsistensi yang baik antara hasil untuk metadon, morfin dan opiat, tapi tidak untuk benzoylecgonine, dalam keringat yang dikumpulkan di tempat yang berbeda.

Darah, yang digunakan untuk pengukuran glukosa POCT oleh penderita diabetes, tidak digunakan untuk analisis obat terlarang, walaupun setidaknya ada satu tes untuk lithium yang menggunakan darah utuh. Matriks lain, seperti rambut dan kuku, tidak secara khusus disesuaikan dengan teknologi POCT saat ini.

2. Analit

a. Etanol

Untuk menentukan gangguan saat mengemudi atau mengoperasikan mesin, penting untuk mengukur atau menurunkan konsentrasi etanol dalam darah. Gas chromatography GC-FID adalah metode yang paling andal untuk mengukur etanol darah, namun ini jelas tidak sesuai untuk pengujian di pinggir jalan atau di tempat kerja. Namun, pada konsentrasi kesetimbangan, kadar alkohol dalam udara pernafasan, urin dan cairan oral berkorelasi dengan konsentrasi dalam darah dan matriks ini dapat digunakan sebagai alternatif darah. Korelasi konsentrasi alkohol dalam darah (blood alcohol concentration=BAC) dengan keringat kurang dapat diandalkan sehingga sampel keringat paling baik digunakan untuk tujuan kualitatif saja.

1) Etanol dalam udara pernafasan

Dasar analisis etanol dalam udara pernafasan adalah Hukum Henry, yang menyatakan bahwa dalam wadah tertutup pada suhu dan tekanan tertentu, zat terlarut dalam larutan akan berada dalam ekuilibrium dengan udara di atasnya. Distribusi etanol antara darah dan udara alveolar pada 34°C adalah 2100: 1 dan ini adalah faktor yang digunakan untuk mengubah BrAC (*breath alcohol concentration*) menjadi BAC. Dengan demikian, 2100 liter udara alveolar akan mengandung jumlah etanol yang sama dengan 1 liter darah.

Instrumen modern menggunakan sel bahan bakar di mana oksidasi etanol menghasilkan arus (misalnya Intoksilyzer) atau perangkat oksida semikonduktor yang menggunakan sensor spesifik etanol. Sensor oksida semikonduktor diklaim menawarkan banyak manfaat, termasuk biaya rendah, konsumsi daya rendah dan ukuran kecil, meski mereka membutuhkan kalibrasi lebih sering daripada perangkat sel bahan bakar. Instrumen berbasis laboratorium menggunakan penyerapan inframerah pada dua panjang gelombang (337 dan 344 m) untuk mengidentifikasi dan mengukur etanol. Dengan menggunakan rasio panjang gelombang mengurangi risiko interferensi.

2) Etanol saliva

Rasio etanol saliva: darah akan terjadi keseimbangan sekitar 30 menit setelah penghentian minum dan akan tetap selama paling sedikit 6 jam. Dengan demikian, cairan oral memberikan alternatif pengukuran etanol dalam darah dan pernafasan. Reagen stik atau strip untuk pengukuran etanol semi kuantitatif telah diproduksi. Prinsipnya adalah etanol dioksidasi oleh enzim alkohol-oksidase, dan hidrogen peroksida yang dihasilkan bereaksi dengan tetrametilbenzidin dengan adanya peroksidase. Metanol, etanol dan alil alkohol memberikan hasil positif. Oksidator kuat akan memberi positif palsu dan zat pereduksi, termasuk asam askorbat dan L-DOPA, akan mengurangi sinyalnya.

b. Obat-obatan terlarang dalam urin

Secara keseluruhan, tes skrining obat dapat dilakukan secara cepat, sederhana secara teknis, dan ekonomis. Umumnya tes ini sensitif, artinya mereka bisa mendeteksi sejumlah kecil obat atau metabolit obat. Namun, mereka kurang spesifik dan kurang dapat diandalkan daripada tes konfirmasi. Dengan kata lain, tes skrining obat diketahui menghasilkan hasil tes *false-positive* dan *false-negative*.

Tes skrining biasanya dengan sampel dalam jumlah banyak bersama-sama, yang berarti bahwa beberapa sampel urin dites bersama. Bila sejumlah sampel urin banyak ditemukan positif, sampel urin individu dapat diuji ulang untuk mengidentifikasi spesimen positif. Setelah sampel urin diidentifikasi sebagai pengujian positif dengan tes skrining, spesimen diuji ulang dengan tes konfirmasi yang lebih spesifik (dan lebih mahal). Dua tes skrining yang lebih umum adalah kromatografi lapis tipis (KLT) dan HPLC.

c. Uji cairan mulut

Pengujian cairan mulut dapat menggunakan Sistem ORALscreen (Avitar) terdiri dari perangkat pengumpulan cairan oral dan perangkat uji berdasarkan membran immunoassay membran lateral. Paired cairan oral dan sampel urin dikumpulkan dari pengguna narkoba dan hasil dari cairan oral dibandingkan dengan analisis laboratorium urin (Barrett et al., 2001). Kesepakatan yang baik untuk mendeteksi kokain dan opiat hingga saat ini 2,5 hari, dan untuk THC sampai 1 hari, penggunaan pasca dilaporkan. Korelasi yang baik antara hasil cairan urin dan cairan oral juga dilaporkan untuk sampel positif metamfetamin.

Baru-baru ini, evaluasi enam perangkat uji cairan mulut, termasuk Drugwipe, yang dapat digunakan dengan cairan oral dan juga keringat, telah dilaporkan. Perangkat diuji dengan kontrol negatif, dan sampel pada 0,5, 2 dan 10 kali konsentrasi target melonjak menjadi air liur manusia. Konsentrasi target yang diusulkan SAMHSA adalah untuk air liur, selain dari THC (lihat di bawah). Larutan uji diuji dengan teknik MS untuk memverifikasi bahwa konsentrasinya benar.

Pengujian keringat

Drugwipe adalah detektor seukuran pena yang bisa digunakan untuk mendeteksi obat di permukaan, keringat atau air liur. Ini dikembangkan untuk penggunaan mengidentifikasi obat-obatan terlarang. Obat generasi kedua, dengan sensitivitas yang meningkat, dikembangkan secara khusus untuk pengujian polisi lalu lintas jalan raya. Keringat dahi biasanya diambil sampelnya. Beberapa perangkat tersedia: Drugwipe II mendeteksi analit tunggal: opiat, kokain, amfetamin (metamfetamin / MDMA), ganja, atau benzodiazepin. Drugwipe II Twin mendeteksi pasangan jenis obat: opiat / kokain atau ganja / amfetamin. Drugs-wipe 5 secara bersamaan mendeteksi lima analit. Sensitivitas yang diberikan adalah 20-300 g / L untuk keringat atau air liur dan 2-50 ng/cm² untuk permukaan. (Flanagan, 2007)

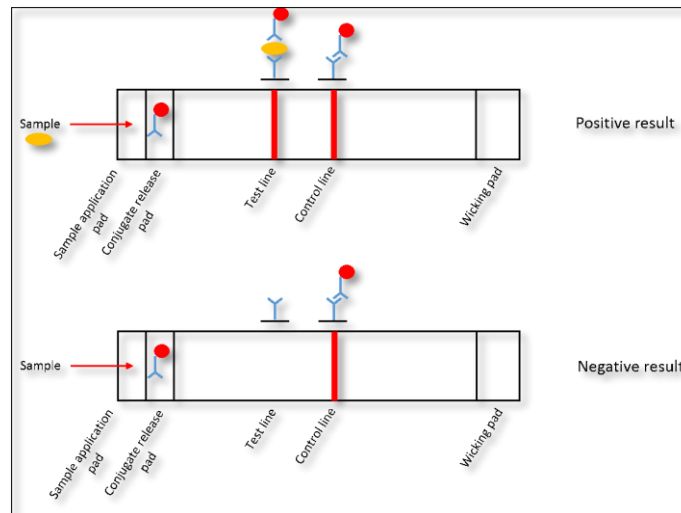
3. Tes Immunoassay

Perangkat yang lebih baru untuk skrining obat terlarang didasarkan pada immunoassays aliran lateral (*immunoassays lateral flow=ILF*)(Gambar 4.1). Bentuk strip biasanya memiliki sumbu untuk dicelupkan ke dalam sampel atau reservoir (sumur) ke dalam sampel yang dipipetisasi. Saat sampel bermigrasi di sepanjang jalur, antibodi yang diberi label dengan emas koloid, manik-manik lateks atau label visualisasi lainnya yang sesuai, dibawa dalam aliran cairan. Antigen yang diimobilisasi, yang biasanya terikat sebagai garis pada strip pada jarak yang sesuai dari titik asal, akan menangkap antibodi terikat *nondrug* untuk menghasilkan garis antibodi berlabel yang terlihat. Intensitas garis akan maksimal bila tidak ada obat dalam sampel. Bila ada cukup analit dalam sampel untuk mengikat semua antibodi, tidak ada garis yang akan terlihat. Dengan demikian, dengan menentukan jumlah antibodi yang tepat, perangkat dapat diproduksi untuk memberikan nilai *cut-off* yang dibutuhkan.

Prinsip ILF didasarkan pada 2 pendekatan utama yaitu format pengujian langsung

(*sandwich*) dan format uji kompetitif.

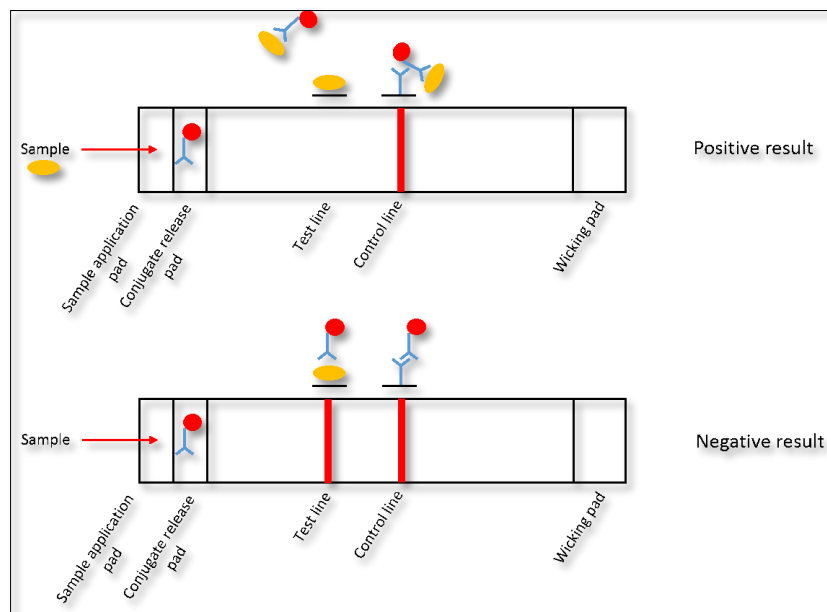
- 1) Format *sandwich*: analit ditangkap di antara dua antibodi komplementer. Salah satu antibodi ini dikonjugasikan ke reagen deteksi dan ditahan di pad pelepasan konjugasi, sedangkan antibodi lainnya diimobilisasi pada garis uji pada membran. Setiap kelebihan antibodi berlabel akan ditangkap pada garis kontrol. Intensitas warna yang terlihat pada garis uji dapat menunjukkan jumlah analit yang ada dalam sampel. Jenis tes ini umumnya digunakan untuk analisis yang lebih besar dengan beberapa sisi antigenik.



Gambar 4.14. Prinsip metode LFI format Sandwich.

Sumber: Innova Bio Science, (2017).

- 2) Format kompetitif digunakan untuk analit yang lebih kecil yang memiliki satu determinan antigenik tunggal dan oleh karena itu tidak dapat mengikat dua antibodi secara bersamaan. Dalam jenis format *assay* ini, antigen biasanya diimobilisasi pada garis uji. Jika analit ada dalam sampel akan bereaksi dengan antibodi pendeteksi yang kemudian tidak dapat mengikat pada garis uji. Oleh karena itu, kurangnya sinyal pada garis uji mengindikasikan hasil positif.



Gambar 4.15. Prinsip metode LFI format Kompetitif

Sumber: IBS, <https://www.innovabiosciences.com/guides/...guides/guide-lateral-flow-immunoassays>

Strip kontrol sering disertakan di luar antigen terikat. Reaksi positif menunjukkan bahwa sampel telah mencapai zona (sampel cukup) dan reaktan berfungsi dengan baik. Beberapa antigen dapat ditempatkan pada satu strip, memberikan serangkaian tes. Satu sistem menggunakan turunan obat berlabel, antibodi immobilisasi terikat ke membran, sehingga hasilnya positif ditunjukkan oleh munculnya garis. Dengan kedua jenis perangkat tersebut, garis samar harus dibaca sebagai negatif.

a. Cara kerja

Siapkan Card/Strip Test untuk pemeriksaan masing-masing obat

1) Card Test

- a) Teteskan 3 tetes spesimen urin pada lubang spesimen yang terdapat dalam masing-masing card test
- b) Tunggu beberapa saat sesuai dengan petunjuk manual

2) Strip Test

- a) Celupkan strip test ke dalam urin sampai batas yang ditentukan
- b) Tunggu beberapa saat sesuai dengan petunjuk manual

b. Pembacaan hasil

1) Card Test

- a) Hasil - (negatif) bila tampak 2 garis pada huruf C dan T
- b) Hasil + (positif) bila tampak 1 garis pada huruf C

- c) Atau sesuai petunjuk manualnya
- 2) Strip Test
 - a) Hasil - (negatif) bila tampak 2 garis pada huruf C dan T
 - b) Hasil + (positif) bila tampak 1 garis pada huruf C
 - c) Atau sesuai petunjuk manualnya

Pemilihan metode, peralatan serta reagen untuk skrining haruslah yang mempunyai batas deteksi sama atau lebih rendah dari batas deteksi (*cut off*) yang direkomendasikan pada Tabel 4.5 di bawah ini :

Tabel 4.5 Batas Deteksi Pemeriksaan Skrining	
<i>Jenis / golongan zat</i>	<i>Batas deteksi (ng/mL)</i>
<i>Kanabis</i>	50
<i>Kokain</i>	300
<i>Opiat</i>	300
<i>Metadon</i>	300
<i>Amfetamin</i>	1000
<i>Benzodiazepin</i>	200
<i>Methaqualone</i>	300
<i>Propoksifen</i>	300
<i>Barbiturat</i>	200
<i>Fensiklidin</i>	25

Sumber: UK Laboratory Guidelines for Legally Defensible Workplace Drug Testing dan SAMHSA (Substance Abuse and Mental Health Services Administration) AS.

Catatan:

1. Pemeriksaan skrining yang memberikan hasil negatif tidak dilanjutkan dengan pemeriksaan konfirmasi.
2. Bila hasil pemeriksaan Card/Strip Test Positif belum menjamin + (positif) untuk spesimen yang diperiksa, pemeriksaan harus dilanjutkan dengan uji konfirmasi.
3. Untuk pemeriksaan penyidikan/penegakan hukum, pemeriksaan konfirmasi yang diakui adalah yang menggunakan metoda GC-MS/HPLC.
4. Untuk menjaga mutu pemeriksaan setiap 10 kali pemeriksaan spesimen urin dilakukan pemeriksaan minimal terdapat 1 kontrol urin positif dari jenis zat yang diperiksa dan kontrol negatif (blanko urin).

B. SPEKTROFOTOMETRI

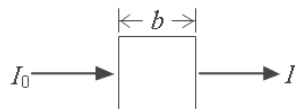
Bila senyawa diiradiasi dengan radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang yang sesuai maka akan menyerap energi. Energi yang diserap ini dapat dipancarkan sebagai radiasi pada panjang gelombang (lebih lama) yang lebih energik (fluoresensi atau pendar), terdisipasi sebagai panas, atau menimbulkan reaksi fotokimia. Sinar gamma dan sinar X menempati spektrum panjang gelombang pendek (energi tinggi) dari spektrum. Urutannya adalah radiasi ultraviolet (UV), visibel, inframerah dan gelombang mikro dan akhirnya, gelombang radio.

Penyerapan berbagai jenis radiasi menghasilkan efek yang berbeda. Cahaya UV dan cahaya tampak mengeksitasi elektron dari keadaan dasarnya ke keadaan energi tinggi (terekstitasi). Panjang gelombang (λ) absorbansi maksimum dilambangkan λ_{maks} .

Radiasi inframerah (IR) menginduksi getaran molekul (ikatan), sementara gelombang mikro digunakan untuk menginduksi transformasi putaran elektron dalam spektroskopi reseptor spin elektron (ESR). Spektroskopi resonansi magnetik nuklir (*nuclear magnetic resonance*=NMR) menggunakan panjang gelombang antara gelombang radio dan televisi untuk mendeteksi putaran elektron nuklir.

Hukum Beer-Lambert

Dalam spektrometri UV atau sinar tampak (*visible*), analit menyerap beberapa energi cahaya masuk sebagai hasil elektron dalam molekul yang tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi.



Gambar 4.16 Hukum Lambert-Beer

Sumber: Flanagan, 2007

Jika intensitas cahaya masuk adalah I_0 dan energi cahaya yang ditransmisikan adalah I , maka transmisi (T) adalah:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Hukum yang mengatur hubungan antara intensitas cahaya yang masuk dan meninggalkan sel adalah Hukum Beer-Lambert. Ini menyatakan bahwa, untuk larutan pelarut yang menyerap dalam pelarut transparan, fraksi cahaya yang diserap sebanding dengan jumlah molekul zat terlarut di lintasan cahaya (Hukum Beer) dan panjang lintasan (Hukum Lambert):

$$\text{Absorbance} = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon cb$$

dimana I_0 adalah intensitas cahaya yang terjadi, I adalah intensitas cahaya yang ditransmisikan, c konsentrasi zat terlarut (mol L^{-1}), ϵ adalah absorptivitas molar, yang sebelumnya dikenal sebagai koefisien kepunahan ($\text{L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), dan b adalah panjang lintasan (cm).

Absorptivitas molar adalah ciri khas analit, namun juga bergantung pada suhu, panjang gelombang dan pelarut. Absorbansi (A) berhubungan linear dengan konsentrasi zat terlarut dan panjang lintasan hanya untuk larutan encer. Dalam buku teks yang lebih tua itu dikenal sebagai kepadatan optik (OD) atau ekstinksi (E), namun istilah ini sekarang sudah usang. Absorbansi spesifik ($A_{1\%, 1 \text{ cm}}$) adalah absorbansi 1% larutan (w/v) zat terlarut dalam sel panjang sel 1 cm, dan biasanya ditulis dalam bentuk yang singkat= **A1**.

Beberapa factor penyebab penyimpangan Hukum Beer-Lambert:

1. Konsentrasi analit
 - a. Pada konsentrasi tinggi ($> 0,01 \text{ mol L}^{-1}$) interaksi elektrostatik antar spesies mengurangi absorbansi
 - b. Perubahan indeks bias pada konsentrasi analit tinggi
2. Interaksi atau adanya dekomposisi
3. Analit memisah atau bereaksi dengan pelarut
 - a. Adanya partikel di celah cahaya
 - b. Phosphorescence atau fluoresensi pada sampel
 - c. Penyerapan oksigen menjadi terbatas pada panjang gelombang di bawah 205 nm
4. Instrumental
 - a. Polikromatik (tidak monokromatik) cahaya masuk. Lebar celah cahaya yang terbatas, sehingga cahaya masuk lebih dari satu panjang gelombang. Karena ϵ bervariasi dengan panjang gelombang, ini menyebabkan penyimpangan dalam Hukum Beer. Untuk lebar celah yang ada variasi dalam ϵ akan lebih besar pada kemiringan puncak absorpsi daripada maksimum, maka pengaruhnya berkurang dengan melakukan pengukuran maksimal.
 - b. Efek cahaya menyimpang dari radiasi tercermin dalam monokromator yang mencapai pintu keluar celah menjadi lebih jelas pada absorbansi yang lebih tinggi.

C. KROMATOGRAFI GAS

Kromatografi gas (*gas chromatography*=GC) berlaku untuk berbagai senyawa yang menarik bagi ahli toksikologi, ahli kimia farmasi dan industri, ahli lingkungan dan dokter. Jika suatu senyawa memiliki volatilitas yang cukup untuk molekulnya berada dalam fase gas atau uap pada atau di bawah 400°C , dan tidak terurai pada suhu ini, maka senyawa tersebut dapat dianalisis dengan GC.

1. Prinsip Kromatografi Gas

Pemisahan dilakukan dalam kolom (mengandung fase stasioner padat atau cair) yang memiliki aliran fase gerak terus menerus yang melewatinya (biasanya gas pembawa inert), namun baru-baru ini cairan superkritis (*super critical fluid=SCFs*) telah digunakan untuk beberapa aplikasi], digunakan dalam oven dengan suhu yang diatur. Bila campuran zat diinjeksikan pada saluran masuk, masing-masing komponen partisi antara fase diam dan fasa gas akan dibawa ke arah detektor. Molekul yang memiliki afinitas lebih besar untuk fase diam lebih lama tinggal di fase itu dan akibatnya butuh waktu lebih lama untuk mencapai detektor. Detektor menghasilkan sinyal yang sebanding dengan jumlah zat yang melewatinya, dan sinyal ini diproses dan dimasukkan ke integrator atau perangkat perekam lainnya. Setiap substansi yang mengelusi dari kolom memiliki waktu retensi (*retention time=RT*) karakteristik, yang didefinisikan sebagai interval waktu dari respon injeksi ke puncak detektor.

Dalam toksikologi analitik, kromatografi gas (*gas chromatography=GC*) memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan teknik lain yang banyak digunakan seperti HPLC dan *immunoassay*. Pertama, GC memiliki berbagai detektor sensitif, seperti FID 'universal' dan detektor NPD, ECD dan MS selektif, yang dapat digunakan secara paralel. Kedua, stabil, efisiensi tinggi, kolom (kapiler) GC sekarang banyak tersedia. Ketiga, GC mudah untuk berinteraksi dengan teknik yang memberikan informasi langsung tentang identitas senyawa seperti spektrofotometri elektron-ionisasi MS (EI-MS) dan Fourier-transform inframerah (FTIR) (Flanagan, 2007).

Dengan GC, seperti HPLC, informasi kualitatif dan kuantitatif dapat diperoleh dalam analisis yang sama asalkan prosedur kalibrasi dan QC yang tepat diikuti. Pemrograman suhu pada GC analog dengan elusi gradien pada HPLC, namun lebih mudah dilakukan dan memungkinkan analisis senyawa volatile (mudah menguap) yang berbeda dalam satu analisis. Selain itu, kembalinya ke kondisi awal sangat mudah dan hubungan antara bobot molekul (*massa relative=Mr*), waktu retensi dan suhu kolom sangat berharga dalam membantu penetapan puncak di STA. Selain itu, retensi data GC dapat diperoleh kembali pada hari, kolom, instrumen, operator yang berbeda.

Keuntungan GC dalam toksikologi analitis

- a. Dapat diinjeksikan campuran berair untuk beberapa aplikasi seperti etanol, dan berbagai senyawa volatil.
- b. Rentang kolom kapiler stabil dan efisien
- c. Tersedia detektor Sensitive universal (FID) dan selektif (NPD, ECD, MS) detektor
- d. Bisa digunakan untuk uji kualitatif dan kuantitatif
- e. Kolom kapiler lebar yang digunakan dengan pelapis injeksi memudahkan kerja kuantitatif
- f. Hubungan antara waktu elusi, suhu kolom, dan bobot molekul berharga dalam uji kualitatif

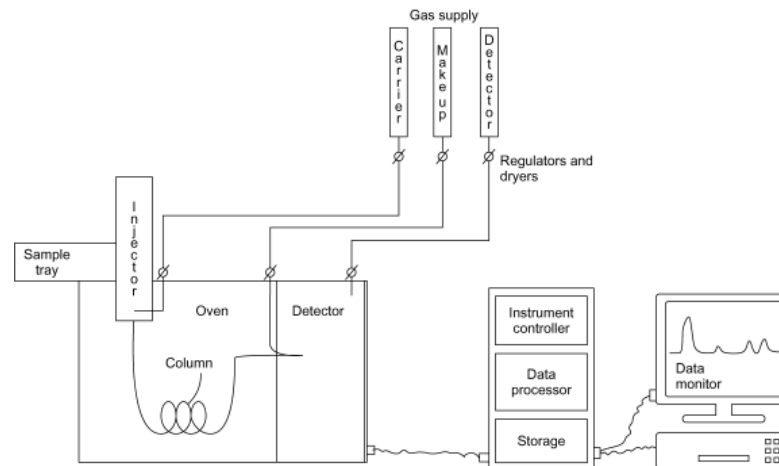
- g. Retensi data GC dapat diperoleh kembali pada hari, kolom, instrumen, operator yang berbeda
- h. Pemrograman suhu dan interfacing ke MS atau FTIR mudah - memerlukan beberapa jenis kolom karena daya penyelesaiannya tinggi terutama dengan GC-MS
- i. Dapat menghasilkan spektrum EI dari GC-MS
- j. Indeks puncak utama berharga dalam identifikasi majemuk
- k. Dapat digunakan untuk berbagai macam gas dan pelarut

Keterbatasan metode GC antara lain:

Kekurangan GC mencakup persyaratan bahwa analit atau turunannya harus volatil dan stabil pada suhu yang dibutuhkan untuk analisis (dalam prakteknya di bawah 400°C atau lebih). Selain itu, zat dengan gugus fungsi yang sangat polar atau dapat diionisasi dapat memberikan kinerja yang buruk (luas, puncak *tailing*), dan diperlukan preparasi sampel. Selain itu, beberapa senyawa yang mungkin ada dalam ekstrak sampel mungkin bersifat labil terhadap panas dan produk dekomposisi dapat mengganggu analisis. Jadi, selain pilihan prosedur preparasi sampel, kolom dan kondisi kromatografi dan pendeteksiannya, pertimbangan harus diberikan pada faktor lain termasuk pengumpulan dan penyimpanan sampel, pilihan standar internal dan penjaminan mutu. Dengan kata lain, GC tetap menjadi metode pilihan untuk gas dan volatil lainnya seperti etanol dan anestesi inhalasi. GC juga dapat digabungkan dengan mass spectrophotometry (GC-MS) banyak digunakan dalam analisis senyawa lain, karena keuntungan utamanya adalah spektrum EI dapat diperoleh (Flanagan, 2007).

2. Peralatan

Biasanya sistem GC terdiri dari unit kontrol gas, yang memasok gas pembawa ke kolom dan juga gas, seperti udara tekan dan hidrogen, ke detektor, sistem injeksi sampel, kolom analisis, dan detektor dengan perolehan data yang terkait (Gambar 4.17). Oven injektor, kolom dan detektor biasanya dipanaskan secara terpisah, detektor umumnya dijaga pada suhu yang lebih tinggi daripada suhu maksimum yang dicapai oleh oven kolom untuk meminimalkan risiko fraksinasi atau kondensasi komponen sampel dalam detektor. Pertimbangan yang sama berlaku untuk oven injector dalam operasi isothermal.



Gambar 4.17 Bagan Kromatografi Gas
(Sumber: Analytical Toxicology, 2017)

3. Preparasi sampel

Sebelum dilakukan kromatografi, diperlukan isolasi senyawa target dari matriks biologis (plasma, urin, isi perut, rambut dan jaringan) atau matriks lainnya, seperti tanah, udara atau air. Penghilangan bahan asing dan pemekatan senyawa target biasanya terjadi secara bersamaan. Kelarutan air yang tinggi dari beberapa metabolit obat (misalnya konjugat glucuronide) memerlukan konversi kimiawi menjadi senyawa yang kurang polar untuk memungkinkan isolasi dari sampel berbasis air, dan prosedur hidrolisis sering digunakan untuk tujuan ini.

a. Presipitasi protein

Jika analit ada dalam darah dalam konsentrasi tinggi, langkah pengendapan protein sederhana sering memberikan ekstrak yang sesuai, walaupun kemungkinan kehilangan sejumlah analit dengan endapan harus dipertimbangkan. Pencampuran dengan larutan merkuri klorida atau barium sulfat mudah mengendapkan protein plasma, dan sentrifugasi memberi supernatan untuk injeksi langsung ke kolom kromatografi. Penggunaan asam perklorat atau trikloroasetat (10%) tidak disarankan, kecuali larutan yang dihasilkan dinetralkan sebelum diinjeksikan. Dimetilformamida adalah pereaksi presipitasi organik yang baik yang dapat ditoleransi dengan baik oleh sebagian besar fase stasioner GC. Agen pengendapan organik lainnya adalah metanol, aseton dan asetonitril, yang semuanya harus ditambahkan dalam proporsi dua jilid pada setiap volume darah. Sedangkan ekstraknya masih berbasis air, sebagian besar kolom dengan pemuatan fase stasioner tinggi (ketebalan lapisan 5 μm) dapat mentoleransi injeksi 1 μL air. Jika kolom tidak tahan terhadap air, adalah mungkin untuk menguap sejumlah kecil supernatan ke kekeringan untuk rekonstitusi dalam pelarut yang lebih sesuai.

b. Ekstraksi cair – cair

Ekstraksi cair-cairan adalah metode yang paling sering digunakan untuk mengisolasi dan mengkonsentrasikan larutan untuk GC. PH spesimen disesuaikan untuk memastikan agar senyawa yang diekstraksi tidak terionisasi (dasar untuk basa, asam untuk senyawa asam). Mengingat bahwa sebagian asam atau basa berair akan larut dalam pelarut, penggunaan asam mineral kuat atau alkali tidak disarankan karena hal ini mempengaruhi kinerja kolom. Hasil terbaik diperoleh dengan buffer asam (fosfat atau asetat) dan dengan ammonium hydroxide atau buffer dasar (borat), dengan menggunakan rasio pelarut 5: 1 terhadap spesimen. Pelarut yang dipilih harus cukup polar untuk memisahkan senyawa yang diminati tanpa mengekstraksi ekstraksi kontaminan polar berlebihan. Untuk obat yang larut dalam air, seperti β -blocker, penambahan 2 sampai 10% pelarut polar (misalnya isopropanol atau butanol) sangat membantu, atau natrium klorida padat dapat ditambahkan ke '*salt out*' analit. Jika langkah derivatisasi akan dilakukan selanjutnya, penggunaan pelarut yang kompatibel dengan derivatisasi menghilangkan kebutuhan akan tahap penguapan. Penggunaan pelarut dengan densitas yang lebih tinggi daripada sampel (misalnya diklorometana) dapat menyebabkan kesulitan dalam mengisolasi fase organik. Pemurnian ekstrak dengan ekstraksi kembali (ekstraksi ulang analit dari pelarut organik pada pH yang berlawanan diikuti dengan ekstraksi ulang ke pelarut pada pH asli) dapat membantu untuk analisis jejak. Penggunaan pelarut volume kecil untuk ekstraksi akhir berfungsi sebagai tahap konsentrasi tanpa kebutuhan pemisahan dan penguapan fasa organik.

c. Ekstraksi padat-cair atau padat

Ekstraksi cairan padat menggunakan kartrid polipropilena dengan kemasan berbahan dasar berkapasitas tinggi (1 sampai 20 mL) dengan basis kecil (200 mg sampai 3 g) di dasar waduk. Pada pengenalan matriks sampel, senyawa bunga ditahan oleh pengepakan. Kotoran kemudian dibilas secara selektif dari kolom, dan elusi terakhir melepaskan senyawa yang diminati. Penguapan yang diikuti dengan rekonstitusi dalam pelarut yang sesuai memberikan sampel konsentrat bersih yang siap untuk dianalisis dengan GC. Paket fase berikat yang telah dimodifikasi dengan penambahan berbagai kelompok fungsional tersedia. Mekanisme interaksi untuk matriks, analit dan kemasan serupa dengan LC. Fase stasioner polar mempertahankan analit polar (fasa normal) dan dielusi dengan pelarut organik, sedangkan fasa non-polar tetap mempertahankan analit non-polar (fase balik) dan dielusi dengan pelarut berair. Ekstraksi ion-ion menggunakan fase diam non polar dan analit polar, dengan ion penghubung ditambahkan ke larutan sampel, dan memungkinkan retensi analit (sekarang netral) oleh mekanisme fase balik. Dalam ekstraksi pertukaran ion, permukaan adsorben dimodifikasi dengan fungsionalitas ionisable. Analitik dengan muatan ion yang berlawanan dengan yang ada pada kemasan dipertahankan. Pelarut yang mengandung ion kontra dengan kekuatan lebih besar digunakan untuk mengeliminasi analit yang menarik dari tabung.

d. Ekstraksi mikro fase padat

Solid phase micro extraction (SPME) tidak memerlukan pelarut atau peralatan yang rumit dan dapat memusatkan senyawa volatil dan non-volatil ke dalam sampel cair dan gas. Unit ini terdiri dari serat silika leburan yang dilekatkan pada plunger stainless steel yang dilapisi dengan fase diam (dicampur dengan adsorben padat sesuai kebutuhan). Plunger dimasukkan melalui septum ke dalam botol yang berisi sampel, dan serat yang terpapar dengan menekan plunger ke dalam cairan atau *headspace* selama 20 sampai 30 menit. Serabut yang ditarik dimasukkan ke port injeksi GC, dan didesorpsi saat plunger mengalami depresi. Unit dapat direkondisi dan digunakan 50 sampai 100 kali. Untuk analisis lapangan, sampel yang teradsorpsi dapat disimpan dan diangkut dalam jarum yang disegel dalam wadah khusus untuk analisis selanjutnya oleh GC (atau LC). Pestisida yang ditemukan dari sampel air telah terbukti lebih stabil bila disimpan dengan cara ini daripada di dalam air. Pelapis injeksi volume kecil khusus sesuai dengan model kromatografi apapun, dan menghasilkan puncak yang lebih tajam karena kecepatan gas linier yang lebih tinggi, dengan sedikit atau tanpa rontok. Fasa stasioner yang sesuai adalah:

- 1) 100 μm dimetil-film PSX untuk senyawa dengan berat molekul rendah atau volatil, atau film tipis (7 μm) untuk senyawa semivolatile berat lebih besar
- 2) 85 μm film poliakrilat untuk senyawa polar
- 3) 65 μm film dimetil-PSX-divinil benzena untuk alkohol dan amina yang mudah menguap
- 4) untuk surfaktan, resin Carbowax-templated 50 μm
- 5) untuk senyawa volatil, fase Carbowax-carboxen 75 μm sangat sesuai.
- 6) Pendekatan alternatif menggunakan batang pengaduk magnet kecil yang dienkapsulasi dalam kaca dan dilapisi dengan lapisan dimetil-PSX. Batang dibiarkan mengaduk dalam sampel selama 30 sampai 120 menit dan kemudian dilepaskan dan ditempatkan dalam tabung desorpsi termal. Dari situ, disambungkan ke GC bagian injector desorpsi termal. Kedua pendekatan tersebut memberikan kinerja yang sama untuk senyawa dengan pemanasan yang lebih tinggi ($> 350^{\circ}\text{C}$), sedangkan SPME lebih rendah untuk senyawa dengan pemanasan rendah seperti naftalena dan fluorena (masing-masing 218 dan 298°C) (Analytical Toxicology, 2017)

4. Aplikasi kromatografi gas dalam toksikologi analitik

a. Jaringan dan rambut

Jaringan dan rambut memerlukan *treatment* sebelum ekstraksi obat untuk memecah matriks biologis. Untuk jaringan padat, hasil yang baik diperoleh dengan menginkubasi sebagian jaringan dengan campuran kolagenase, protease dan lipase dalam buffer pH yang sesuai. Untuk sejumlah kecil jaringan (100 mg), perendaman semalam pada suhu kamar, agitasi ringan atau sesekali pencampuran mempercepat prosesnya. Untuk analisis rambut, pencucian awal untuk menghilangkan residu dari produk kosmetik atau kontaminan

lingkungan direkomendasikan, dilanjutkan dengan inkubasi dengan alkali kaustik (untuk obat-obatan basa) atau asam mineral (untuk obat asam). Setelah penyesuaian pH, dilanjutkan dengan prosedur biasa yang ditetapkan untuk senyawa spesifik yang sedang diperiksa.

1) Hidrolisis

Penemuan metabolit obat terkonjugasi dari cairan biologis dapat ditingkatkan dengan penguraian hidrolitik ikatan konjugasi sebelum ekstraksi. Ini menawarkan peningkatan sensitivitas yang besar untuk analisis kualitatif, terutama dari urin, dan sangat penting untuk mengidentifikasi obat-obatan (misalnya pencakar) yang diekskresikan hampir secara eksklusif sebagai metabolit terkonjugasi. Namun, analisis kuantitatif yang dapat diandalkan untuk metabolit terkonjugasi mensyaratkan bahwa metabolit yang tidak terkonjugasi pertama-tama harus dihilangkan atau diukur, dan kemudian metabolit total (terkonjugasi plus tidak terkonjugasi) diukur setelah hidrolisis dalam prosedur terpisah berikutnya.

2) Hidrolisis enzimatis

Penggunaan enzim spesifik untuk menguraikan ikatan kimia lebih spesifik menimbulkan biaya dan waktu tambahan. Proses menghasilkan ekstrak bersih, dan karena itu memperpanjang umur kolom kromatografi. Ada sejumlah preparat komersial glukoronidase murni dan sulfatase. Penting untuk memperhatikan pH dan suhu optimal dari preparasi enzim tertentu. Sediaan tahan panas memungkinkan pemanasan sampai 60°C, yang memungkinkan waktu inkubasi yang relatif singkat (2 jam).

3) Hidrolisis kimia

Pendekatan yang lebih cepat dan lebih murah ini dapat memberikan ekstrak yang sesuai untuk kromatografi untuk beberapa analit. Biasanya, asam mineral kuat atau alkali digunakan, seringkali dengan pemanasan atau perlakuan dalam microwave atau *pressure cooker*. Ekstrak harus dinetralkan, jika tidak akan merusak kolom kromatografi. Perhatian harus diberikan untuk memastikan stabilitas analit terhadap kondisi hidrolisis. Kondisi hidrolisis yang kuat sering menghasilkan produk sampingan yang tidak diinginkan, atau jika beberapa senyawa dapat dihidrolisis menjadi satu kesatuan, hindari identifikasi akurat dari senyawa asli yang ada. Sebagai contoh, asam dan hidrolisis enzimatis benzodiazepin menghilangkan konjugat glukuronida, namun hidrolisis asam juga mengubah dua atau tiga obat ke senyawa benzofenon yang sama (diazepam, temazepam dan ketazolam semuanya diubah menjadi 2-methylamino-5-chlorobenzophenone) (An Tox, 2017).

b. Analisis Sianida dan CO

Kromatografi gas memiliki kelebihan dibandingkan metode spektrofotometri untuk analisis karbon monoksida, terutama jika darah dan jaringan postmortem yang terurai parah harus dianalisis. Namun, karena kepekaan untuk karbon monoksida oleh FID sangat buruk, penggunaan detector TCD (thermal conductivity detector) atau reduksi analit dengan

hidrogen pada katalis Ni yang dipanaskan untuk menghasilkan metana sebelum penggunaan FID harus dilakukan. Prosedur yang terakhir ini memerlukan langkah tambahan, dan membutuhkan peralatan non-standar. Dengan pengembangan detektor ionisasi helium *discharge* (He-PDPID) dimungkinkan untuk mengukur karbon monoksida secara langsung dengan sensitivitas yang baik. Helium umumnya digunakan sebagai gas pembawa dan sebagai spesies terionisasi (Flanagan, 2007).

Konsentrasi sianida darah telah diukur dengan GC-NPD menggunakan asetronitril sebagai standar internal setelah penambahan asam fosfat ke sampel dalam botol headspace. Uji kalibrasi kalibrasi dilakukan dengan penambahan larutan potasium sianida pada darah manusia alkalin. Ruang lingkup pengenceran isotop-GC-GC menggunakan K13 C15 N atau C2 H3 CN sebagai standar internal juga telah digunakan (Flanagan, 2007).

c. Pengukuran etanol dan senyawa volatil lainnya

Metode GC-FID paling awal untuk pengukuran etanol darah melibatkan pengenceran sampel secara sederhana (seluruh darah, plasma atau urin) (50 mL) dengan larutan standar internal (0,16 g propanol/L dalam air, 500 mL) diikuti pencampuran dengan vortex (10 detik) dan injeksi langsung campuran hasil ke dalam kolom yang dikemas dengan saringan molekuler seperti Chromosorb 102. Senyawa volatil lain seperti metanol, 2-propanol dan aseton, telah diatasi dan dapat diukur jika diperlukan. Bahan karbon hitam yang dimodifikasi juga dapat digunakan.

Saat ini, sampling *headspace* statis dikombinasikan dengan GC yang diprogram pada kolom kapiler PDMS dan deteksi ganda (ECD / FID) dapat digunakan untuk menyaring tidak hanya etanol, metanol dan 2-propanol, tetapi juga untuk berbagai macam senyawa volatil lainnya dalam cairan biologis. Sebagai alternatif sistem *split injection* atau *dual column* (PDMS-PEG) dapat digunakan. Tabung seharusnya hanya dibuka saat dibutuhkan untuk analisis, dan pada suhu dingin (4°C). Antikoagulan (lithium heparin atau EDTA) harus digunakan, seperti pada metode lain dimana seluruh darah harus diuji. Jika volume sampel terbatas disarankan untuk memilih wadah yang sesuai dengan volume darah sehingga ada *headspace* minimal. Penyimpanan spesimen antara -5 dan 4°C direkomendasikan dan sodium fluorida (2% b/v) harus ditambahkan untuk meminimalkan metabolisme mikroba. Pada dugaan kasus kematian terkait penyalahgunaan obat, analisis jaringan seperti otak atau paru-paru mungkin terbukti bermanfaat karena konsentrasi senyawa volatil yang relatif tinggi dapat terjadi bahkan ketika tidak ada yang terdeteksi dalam darah (Analytical Toxicology, 2017).

Alkil nitrit yang sering disalahgunakan dengan menghirup amil nitrit adalah kasus khusus: (i) sangat tidak stabil secara *in vivo* dan dihidrolisis dengan cepat ke alkohol yang sesuai dan (ii) biasanya juga mengandung isomer lain (butil nitrit, pentil nitrit). Setiap produk yang diajukan untuk analisis biasanya mengandung alkohol dan juga nitrit organik. Propanol dan butanol juga dapat timbul, misalnya dengan tindakan mikroba dari penyusutan darah

normal secara in vitro dan dengan demikian diperlukan kehati-hatian dalam menafsirkan hasil pada kasus dimana senyawa ini terdeteksi (Flanagan, 2007).

D. KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

1. Dasar

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau lazim disebut HPLC (*high performance liquid chromatography*) sangat sesuai untuk analisis senyawa hidrofilik, termolabil dan atau bobot molekul (*massa relative=MR*) tinggi. Dalam analisis obat-obatan dan racun lainnya, HPLC memiliki kelebihan praktis fleksibilitas, umumnya biaya operasional rendah, kisaran detektor selektif, yang biasanya dapat dihubungkan secara seri, dan kemudahan otomasi. Sifat ini sering dapat dimanfaatkan untuk memudahkan analisis beberapa senyawa (misalnya obat dan metabolit) sekaligus. Penggunaan utama HPLC meliputi studi farmakokinetik dan metabolik, pengukuran konsentrasi obat-obatan dalam serum yang diberikan dalam terapi (*therapy drugs monitoring=TDM*), dan pemantauan paparan bahan toksik.

Keuntungan HPLC dalam toksikologi analitis

- Pemisahan yang cepat dan efisien, selektivitas dapat dikendalikan dengan memilih eluen
- Analisis molekul polar dengan BM tinggi yang tidak dapat dilakukan dengan KG
- Sensitif, selektif, detektor non-destruktif (UV, fluoresensi) yang bisa digunakan secara seri
- Dapat digabungkan dengan MS-ESI, APCI, deteksi yang sangat selektif untuk analit yang ditargetkan
- Dapat diinjeksikan sampel berair (tapi selektivitas berkurang dibandingkan dengan misalnya ekstrak pelarut)
- Peralatan portable, tidak diperlukan gas, oven suhu tinggi, dan sebagainya
- Relatif mudah untuk mengotomatisasi

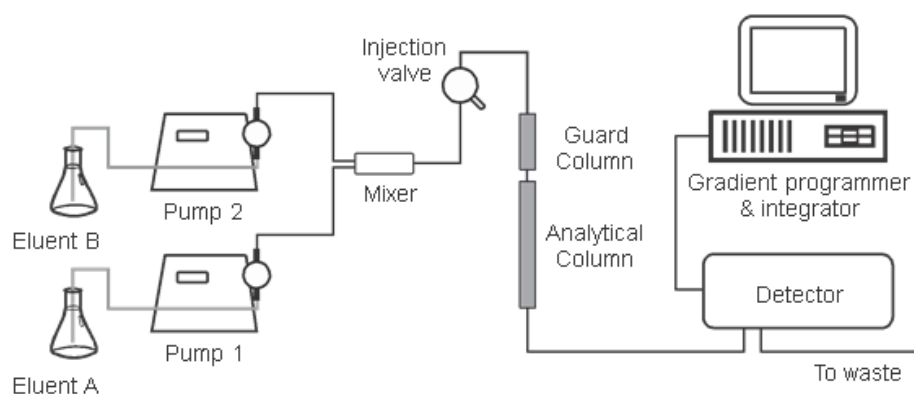
Secara umum, antikonvulsan, benzodiazepin, kafein dan xanthine lainnya dan analit yang polar seperti katekolamin, obat asam, netral atau lemah, dianalisis pada sistem fase balik. Dalam kasus xanthine, dianjurkan penambahan THF ke eluen untuk memastikan pemisahan metabolit paraxanthine dan teofilin.

KCKT atau HPLC telah menggantikan spektrofotometri UV-visible dan GC untuk pengukuran analit dan metabolit spesifik, terutama bila disesuaikan dengan selektivitas dan kepekaan yang ditawarkan oleh *Mass Spectrophotometry* (MS). Namun, kelebihan HPLC, fleksibilitas yang ditawarkan oleh kemampuan untuk memodifikasi eluen, juga merupakan kelemahan terbesarnya dalam penggunaan rutin. Pembentukan kolom tidak hanya diubah, dikompresi, atau diubah secara fisik, tetapi juga kontaminan dapat terakumulasi di bagian atas atau dalam kolom, yang menyebabkan hilangnya kinerja. Penggunaan filtrasi eluen dan kolom pra-atau buffer dapat membantu memperpanjang umur kolom. Keterbatasan dasar adalah

bahwa tidak ada detektor HPLC universal yang sensitif yang serupa dengan FID pada GC dan kedua bahwa tidak ada paralel dalam HPLC-MS seperti EI dalam GC-MS.

2. Peralatan

Sistem HPLC terdiri dari reservoir eluen, pompa bertekanan tinggi (atau pompa dengan sistem gradien pencampur bertekanan tinggi) dengan *flow controller*, sistem injeksi sampel, pelindung stainless steel dan kolom analisis yang dikemas dengan bahan fase stasioner, sebuah detektor, dan sistem pengambilan data (Gambar 4.18). Detektor yang paling umum digunakan dalam toksikologi analitik adalah UV- visible, termasuk diode array (DAD), fluoresensi, elektrokimia (ED) dan spektrometri massa (MS). Jantung dari sistem adalah kolom di mana pemisahan terjadi. Karena fasa diam terdiri dari partikel berpori berukuran mikrometer, pompa tekanan tinggi diperlukan untuk memindahkan fasa gerak melalui kolom. Proses kromatografi dimulai dengan menyuntikkan zat terlarut ke bagian atas kolom. Pemisahan komponen terjadi karena analit dan fasa gerak dipompa melalui kolom. Akhirnya, setiap komponen mengelusi dari kolom dan terdapat sebagai puncak pada perekam. Deteksi komponen eluting penting; Ini bisa jadi selektif atau universal, tergantung detektor yang digunakan. Respon detektor pada masing-masing komponen ditampilkan pada perekam grafik atau layar komputer dan dikenal sebagai kromatogram. Untuk mengumpulkan, menyimpan dan menganalisis data kromatografi, komputer, integrator dan peralatan pengolahan data lainnya sering digunakan.



Gambar 4.18 Bagian-bagian prinsip KCKT

Sumber: Analytical Toxicology, 2017

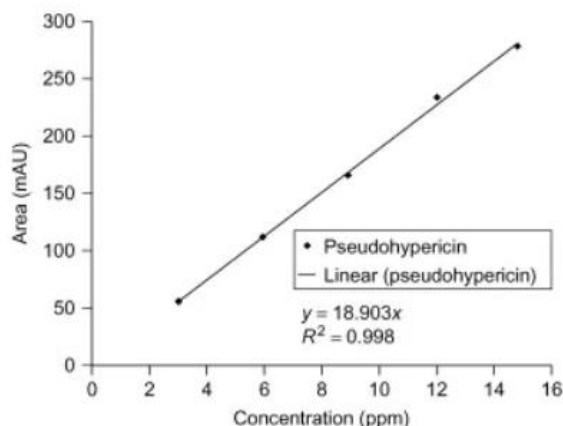
3. Mekanisme HPLC

Sistem yang digunakan dalam kromatografi ada empat tipe mekanisme yaitu: adsorpsi, partisi, pertukaran ion dan eksklusi ukuran. Kromatografi adsorpsi timbul dari interaksi antara

zat terlarut dan permukaan fase stasioner padat. Umumnya, eluen yang digunakan untuk kromatografi adsorpsi kurang polar daripada fase diam dan sistem seperti itu digambarkan sebagai fase normal. Kromatografi partisi melibatkan fase stasioner cair yang tidak bercampur dengan eluen dan dilapiskan pada pendukung inert. Sistem partisi dapat berupa fase normal (fase diam lebih polar dari eluen) atau kromatografi fase terbalik, yang disebut *reverse phase chromatography* atau RPC (fase diam kurang polar dibanding eluen). Kromatografi pertukaran ion melibatkan fase stasioner padat dengan gugus anionik atau kationik pada permukaan, dimana molekul zat terlarut memiliki muatan berlawanan akan ditarik. Kromatografi dengan eksklusi ukuran melibatkan fase stasioner padat dengan ukuran pori terkendali. Solute dipisahkan sesuai dengan ukuran molekulernya, molekul besar tidak bisa masuk ke pori-pori elusi terlebih dahulu. Namun, konsep empat mode pemisahan ini terlalu menyederhanakan. Pada kenyataannya, tidak ada batas yang berbeda dan beberapa mekanisme yang berbeda sering beroperasi secara bersamaan.

4. Analisis Kuantitatif

Metode kuantifikasi yang tergabung dalam KCKT kebanyakan berasal dari metode KG. Teori dasar untuk kuantifikasi melibatkan pengukuran ketinggian puncak atau area puncak. Untuk menentukan konsentrasi senyawa, luas puncak atau tinggi diplotkan dibandingkan konsentrasi zat (Gambar 4.19). Kurva yang baik, tinggi puncak dan luasnya sebanding dengan konsentrasi. Tiga metode kalibrasi yang berbeda, masing-masing dengan manfaat dan keterbatasannya sendiri, dapat digunakan dalam analisis kuantitatif, standar eksternal, standar internal dan metode penambahan standar.



Gambar 4.19. Contoh Kurva Kalibrasi

Sumber : Analytical Toxicology, 2017

a. Metode Standar Eksternal

Metode standar eksternal adalah metode yang paling sederhana dari ketiga metode tersebut. Keakuratan metode ini bergantung pada reproduktifitas injeksi volume sampel. Untuk melakukan metode ini, larutan standar konsentrasi senyawa yang diketahui sudah

dipersiapkan. Jumlah yang tetap, yang seharusnya serupa konsentrasi dengan yang tidak diketahui, disuntikkan. Tinggi puncak atau luas diplot versus konsentrasi untuk masing-masing senyawa. Plot harus linier dan melewati titik asal. Konsentrasi yang tidak diketahui kemudian ditentukan menurut persamaan berikut:

$$\text{Konsentrasi zat } x = \left(\frac{\text{Area sampel}}{\text{Area standar}} \right) \times \text{konsentrasi standar}$$

Konsentrasi kalibrator harus mencakup kisaran konsentrasi yang mungkin terjadi pada sampel yang tidak diketahui. Hanya konsentrasi yang dibaca dalam tingkat kalibrasi tertinggi dan terendah yang dapat diterima. Konsentrasi yang dibaca dari garis regresi ekstrapolasi mungkin tidak akurat. Ini berlaku untuk semua metode kuantifikasi.

b. Standar internal

Meskipun setiap metode efektif, metode standar internal cenderung menghasilkan hasil yang paling akurat dan tepat. Dalam metode ini, jumlah yang sama dari standar internal, komponen yang tidak ada dalam sampel, ditambahkan ke sampel dan larutan standar. Standar internal yang dipilih harus secara kimiawi mirip dengan analit, memiliki waktu retensi yang dekat dengan analit dan derivatisasi dengan cara yang sama dengan analit. Untuk sampel biologis, standar internal harus diekstraksi sama dengan analit tanpa bias signifikan terhadap standar internal atau analit. Selain itu, penting untuk memastikan bahwa standar internal stabil dan tidak mengganggu komponen sampel. Standar internal harus ditambahkan sebelum persiapan sampel sehingga efisiensi ekstraksi dapat dievaluasi. Kuantifikasi dicapai dengan menggunakan rasio tinggi puncak atau luas komponen terhadap standar internal, seperti persamaan:

$$\begin{aligned} &\text{Konsentrasi zat } x \\ &= \frac{\text{Area standar internal dalam standar}}{\text{Area standar internal dalam sampel}} \times \frac{\text{Area sampel}}{\text{Area standar}} \times \text{konsentrasi standar} \end{aligned}$$

c. Penambahan standar (*spike*).

Ini sangat berguna bila ada masalah dengan gangguan dari matriks sampel, karena ini menghilangkan efek ini. Untuk melakukan kuantifikasi ini, sampel dibagi menjadi dua bagian, sehingga jumlah analit (*spike*) yang diketahui dapat ditambahkan ke satu bagian. Kedua sampel ini, asli dan asli-plus-spike, kemudian dianalisis. Sampel dengan *spike* menunjukkan respons analitis yang lebih besar daripada sampel asli karena jumlah analit tambahan yang ditambahkan padanya. Perbedaan respons analitis antara sampel dengan *spike* dan tidak diolah berasal dari jumlah analit dalam *spike*. Ini memberikan titik kalibrasi untuk menentukan

konsentrasi analit dalam sampel aslinya. Metode ini memiliki kekurangan jika hanya sejumlah kecil sampel yang tersedia. Persamaan berikut digunakan untuk metode ini:

$$\text{Kadar senyawa } x = \frac{\text{kadar spike (luas area sampel tanpa spike)}}{\text{Luas area sampel dengan spike} - \text{luas area sampel tanpa spike}}$$

Penting untuk menggunakan metode HPLC yang telah divalidasi saat melakukan analisis. Karakteristik analisis khas yang dievaluasi dalam validasi HPLC dapat meliputi ketepatan, akurasi, spesifisitas, batas deteksi, batas kuantifikasi, linieritas dan *range*. (Analytical Toxicology, 2017).

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Jelaskan kekurangan dan kelebihan masing-masing metode berikut:
 - a. *Laminar flow immunoassay*
 - b. Spektrofotometri
 - c. Kromatografi gas
 - d. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

2. Jelaskan prinsip metode berikut:
 - a. *Laminar flow chromatography*
 - b. Spektrofotometri
 - c. Kromatografi gas
 - d. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Prinsip metode *Laminar flow immunoassay*, spektrofotometri, kromatografi gas, dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
2. Kelebihan dan kekurangan metode *Laminar flow immunoassay*, spektrofotometri, kromatografi gas, dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Ringkasan

Penggunaan sistem POCT dapat dilakukan untuk membantu diagnosis penyakit, pemantauan terapi, atau mendeteksi racun. Namun, dalam konteks toksikologi analitis, istilah ini umumnya diterapkan pada skrining obat-obatan terlarang. Pengujian penyalahgunaan obat terlarang biasanya dilakukan dengan urin, dengan menggunakan sistem poct berdasarkan *immunoassays* (*immunoassays lateral flow = ILF*). Prinsip ILF didasarkan pada 2 pendekatan utama yaitu pengujian langsung (*sandwich*) dan format uji kompetitif.

Dasar metode spektrofotometri *UV-visible* adalah cahaya UV dan cahaya tampak mengeksitasi elektron dari keadaan dasarnya ke keadaan energi tinggi (terekstitasi). Hukum yang mengatur hubungan antara intensitas cahaya yang masuk dan meninggalkan sel adalah Hukum Beer-Lambert. Ini menyatakan bahwa, untuk larutan pelarut yang menyerap dalam pelarut transparan, fraksi cahaya yang diserap sebanding dengan jumlah molekul zat terlarut di lintasan cahaya (Hukum Beer) dan panjang lintasan (Hukum Lambert).

Kromatografi gas digunakan untuk senyawa yang memiliki volatilitas yang berada dalam fase gas pada $\leq 400^{\circ}\text{C}$, dan tidak terurai pada suhu tinggi. Prinsipnya adalah bila campuran zat disuntikkan pada injektor, masing-masing komponen partisi antara fase diam dan fasa gas akan dibawa ke arah detektor. Molekul yang memiliki afinitas lebih besar pada fase diam lebih lama tinggal di fase itu dan akibatnya butuh waktu lebih lama untuk mencapai detektor (RT lebih lama). Detektor menghasilkan sinyal yang sebanding dengan jumlah zat yang melewatinya, dan sinyal ini diproses dan dimasukkan ke integrator atau perangkat perekam lainnya. Setiap substansi yang mengelusi dari kolom memiliki waktu retensi (*retention time=RT*) karakteristik, yang didefinisikan sebagai interval waktu dari respon injeksi ke puncak detektor

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau lazim disebut HPLC (*high performance liquid chromatography*) sesuai untuk analisis senyawa hidrofilik, termolabil dan atau bobot molekul (*massa relative=MR*) tinggi. Sistem pada KCKT ada empat tipe mekanisme yaitu: adsorpsi, partisi, pertukaran ion dan eksklusi ukuran. Kuantitasi dengan metode ini dapat dilakukan dengan metode standar eksternal, standar internal dan penambahan standar internal pada sampel (*spike*).

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Salah satu kelemahan metode LFI (*lateral flow immunoassay*) adalah
 - A. Spesifitas rendah
 - B. Sensitivitas rendah

- C. Hanya untuk uji kualitatif
 - D. Banyak pengganggu
 - E. Tidak reproduisible
2. Jika metode LFI berdasarkan format sandwich, maka uji positif ditunjukkan dengan
- A. Tidak muncul pita berwarna pada T dan C
 - B. Muncul 1 pita berwarna pada garis T
 - C. Muncul 1 pita berwarna pada garis C
 - D. Muncul 2 pita berwarna pada T dan C
 - E. Muncul salah satu pita berwarna
3. Salah satu keterbatasan metode kromatografi gas adalah
- A. Membutuhkan oven pemanas dan gas untuk pembakaran
 - B. Hanya dapat digunakan untuk senyawa yang mudah menguap
 - C. Hanya dapat digunakan untuk senyawa organik
 - D. Memerlukan proses pemurnian yang rumit
 - E. Hanya digunakan untuk pengujian alkohol
4. Parameter yang digunakan untuk dasar identifikasi suatu senyawa dengan metode kromatografi gas adalah ...
- A. Waktu retensi (*retention time*)
 - B. Suhu penguapan (*flash point*)
 - C. Panjang gelombang
 - D. Tinggi puncak kurva
 - E. Luas area
5. Metode yang sesuai untuk analisis senyawa mudah larut air (hidrofilik), rusak pada suhu tinggi (termolabil) dan memiliki bobot molekul (*massa relative=MR*) tinggi adalah...
- A. Spektrofotometri
 - B. Kromatografi gas
 - C. Kromatografi lapis tipis
 - D. Kromatografi cair kinerja tinggi
 - E. Kromatografi gas-spektrofotometri massa (GC-MS)

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

1. B
2. C
3. A
4. B
5. E

Test Formatif 2

1. A
2. C
3. B
4. A
5. D

Daftar Pustaka

- Analytical, Toxicology. (2017). <https://www.analyticaltoxicology.com/en/high-performance-liquid-chromatography-hplc/> 2017).
- Flanagan, R.F., Taylor, A., Watson, I.D., Whelpton, R.(2007). *Fundamental of Analytical Toxicology*, Willey, Sussex, England.
- Ford, M.D., Delaney, K.A., Ling, L.J., Erickson, T., (2007). *Clinical Toxicology*, 2007 Elsevier Inc.
- Innova Bio Science, (2017). *Guide to Lateral Flow Immunoassays*. Diunduh dari <https://www.innovabiosciences.com/guides/...guides/guide-lateral-flow-immunoassays>
- Lancashire, J. (2011). Narcotics and Reagen Kits, [ttp://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Crime/ Reagent_Kits.html](http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Crime/Reagent_Kits.html)
- United Nation, (1994). Rapid Testing Method of Drugs of Abuse, UN International Drug Control Programme.
- United Kingdom Laboratory Guidelines for Legally Defensible Workplace Drug Testing dan SAMHSA (Substance Abuse and Mental Health Services Administration) AS.

Bab 5

NAPZA (NARKOTIKA, PSIKOTROPIKA DAN ZAT ADIKTIF)

Muji Rahayu, S.Si., M.Sc., Apt.

Pendahuluan

Setelah mempelajari perundang-undangan, toksokinetika dan dasar-dasar analisis toksikologi yang telah dibahas dalam Bab 1, 2, 3 dan 4, dalam Bab 5 ini akan Saudara aplikasikan pemahaman yang telah diperoleh sebelumnya.

Dalam bab Analisis NAPZA ini akan dibahas tentang narkotika, psikotropika dan zat adiktif meliputi klasifikasi, mekanisme aksi dan atau toksisitasnya, toksokinetika, dan analisisnya. Berhubung narkotika, psikotropika dan zat adiktif sangat banyak jenisnya, maka dalam bab ini hanya akan dibahas wakil dari masing-masing golongan. Golongan narkotika yang akan dibahas adalah ganja dan morfin serta heroin, amfetamin, metamfetamin dan benzodiazepine dari golongan psikotropika serta alcohol dari golongan zat adiktif yang bukan narkotika dan psikotropika.

Sesuai dengan profesi Saudara sebagai teknisi laboratorium medik, maka pemahaman yang lebih diharapkan adalah pada sisi analisisnya. Pada bagian analisis, Saudara harus sudah memiliki pemahaman dan ketrampilan tentang pembuatan pereaksi, dan operasional instrumentasi yang dibahas dalam mata kuliah Pengantar Laboratorium Medik dan Instrumentasi Laboratorium. Selain itu, tidak kalah penting adalah pemahaman tentang penanganan bahan kimia sehingga dapat menerapkan Kesehatan dan Keselamatan Kerja di laboratorium.

Setiap bagian analisis dipaparkan beberapa metode analisis agar dapat menjadi pilihan yang disesuaikan dengan kemampuan laboratorium masing-masing. Akan tetapi pemahaman tentang metode standar tetap menjadi tujuan, meskipun tidak dapat dipraktekkan di laboratorium. Dalam pembahasan ini hanya dipaparkan metode analisis untuk sampel biologis, untuk kecuali sediaan ganja.

Topik 1

Analisis Narkotika

A. DEFINISI NARKOTIKA

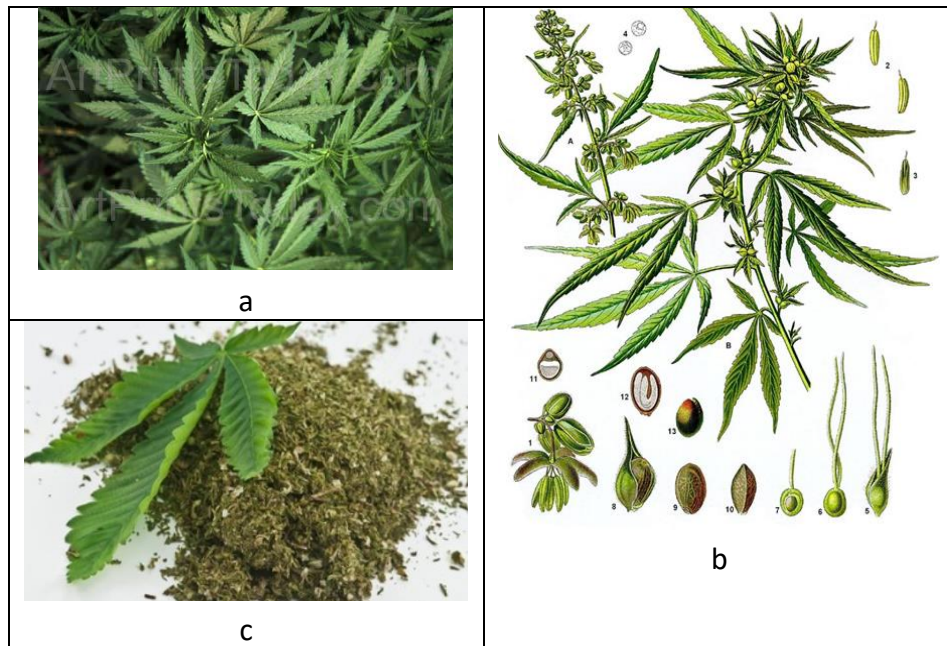
Pengertian narkotika menurut KKBI adalah obat untuk menenangkan saraf, menghilangkan rasa sakit, menimbulkan rasa mengantuk, atau merangsang (seperti opium, ganja). Narkotika berasal dari kata narkose (Yunani) yang artinya menidurkan atau membius, namun demikian narkotika bukan obat bius. Narkotika menekan saraf pusat sehingga menghasilkan efek penurunan sensitivitas terhadap rasa sakit dan aktivitas fisik, menimbulkan rasa kantuk. Narkotika dapat berasal dari bahan alami seperti golongan opium, dan sintetis. Narkotika sintetis antara lain: fentanyl, metadon, dekstropropoksifen, pethidin. Narkotika diatur dalam Undang-undang Narkotika nomor 35 tahun 2009, dengan klasifikasi menurut Permenkes nomor 2 tahun 2017 (Bab 1 Topik 2).

B. GANJA

1. Asal dan Klasifikasi Ganja

Ganja adalah tanaman yang termasuk dalam family Cannabaceae, kadang dikenal sebagai Cannabinaceae. Umumnya, ganja dianggap mono- spesifik (*Cannabis sativa* L.) yang dibagi menjadi beberapa subspecies antara lain (*C. sativa* subsp. *sativa*, *C. sativa* subsp. *Indica*, *C. sativa* subsp. *ruderalis*, *C. sativa* subsp. *spontanea*, *C. sativa* subsp. *kafiristanca*). Namun, perbedaan kimia dan morfologis dimana ganja telah terpecah menjadi subspecies ini seringkali tidak mudah terlihat, tampaknya akibat modifikasi lingkungan, dan bervariasi secara kontinyu. Oleh karena itu cukup disebut *Cannabis sativa* untuk semua jenis tanaman ganja. Ganja adalah tanaman tahunan, tegak, bervariasi dari 0,2-6 m, sebagian besar 1-3 m, bercabang, berbunga, dengan ciri morfologi seperti Gambar 5.1.

Nama dan sinonim produk kanabis: bhang, *Cannabis indica*, chanvre, charas, dagga, ganja, guaza, hashish, mariyuana, marihuana dll. Marijuana biasanya mengarah pada campuran daun dan bagian atas bunga begitu juga dengan *bhang*, *dagga*, *kif*, *maconha*. *Hashish* dan charas biasanya berupa resin. Sinonim lain dapat dicari di *The Multilingual Dictionary of Narcotic Drugs dan Psychotropic Substances under International Control*.



Gambar 5.1 Tanaman dan bagian tanaman ganja

Sumber a. BNN, b. UNODC, c. <https://pedulinapzaundip.wordpress.com>

Keterangan gambar:

- A. Inflorescence tanaman jantan (staminate)
- B. Buah betina (pistillate): 1 Staminate flower, 2 Stamen (antera dan filamen pendek), 3 benang sari, 4 Biji serbuk sari, 5 bunga pistillate (betina) dengan bract, 6 Bunga pistillate tanpa bract, 7 Bunga pistillate yang menunjukkan ovarium (membujur), 8 Benih (achen *) dengan bract, 9 Benih tanpa bract, 10 Benih (dari samping), 11 (melintang), 12 Benih (membujur), 13 Benih tanpa pericarp (dikupas)
- C. Bentuk herbal ganja

Kanabis mengandung lebih dari 60 derivat dari 2-[2-isopropyl-methylphenyl]-5-pentylresorcinol yang disebut kanabinoid. Kanabis mengandung campuran bervariasi zat kimia yang disebut kanabinoid. Empat kandungan mayor adalah :

- a. Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC)
- b. Cannabinol (CBN)
- c. Cannabidiol (CBD)
- d. Cannabichromene (CBCh)

Kandungan THC bervariasi tergantung pada bagian tanaman: 10-12% pada bunga pistillat (betina), 1-2% pada daun, 0,1-0,3% pada tangkai dan <0,03% di akar. Tetrahydrocannabinol (THC) adalah kanabinoid yang paling menyebabkan efek psikologik dari produk kanabis.

Bentuk-bentuk kanabis :

a. Marijuana (produk herbal)

Kanabis tumbuh di daerah 4 musim Eropa: Amerika Utara, Afrika Utara, Afrika Barat dan Karibia, Afrika Tengah, Afrika Selatan, Amerika Selatan, Dataran India, Asia Tenggara. Tanaman berwarna hijau terang, setelah dipanen menjadi kekuningan tapi jarang berwarna coklat, bagian bunga dan buah sebelah atas kurang mengandung resin, jadi tidak begitu lengket, terkadang mengandung biji, kanabis dari Eropa mengandung lebih banyak daun dari kanabis Amerika Utara. Karakteristik kimia bervariasi biasa dengan atau tanpa CBD dan THCV (tetrahydrocannabinol).

b. Produk Resin Kanabis

Berasal dari Afrika Utara, Mediterania Timur, Mediterania Timur Laut, India. Afrika Utara: Potongan (slab) berwarna kuning coklat, terbungkus selofan terkadang ada cetakan bentuk koin. Karakteristik kimia: kandungan CBD lebih rendah dibanding THC, THCV sangat rendah. Jumlah asam kanabinoid bervariasi antar produk. Mediterania Timur: bubuk berwarna coklat kemerahan. Karakteristik kimia: Kandungan CBD paling besar dibanding produk kanabis resin lain. Asam sebagian besar merupakan CBDA. Mediterania Timur Laut: bubuk coklat kehijauan atau terkadang bentuk mirip wafer kecil tipis terbungkus selofan. Karakteristik kimia: THC lebih banyak dari CBD. Terdapat kandungan asam dalam jumlah besar.

Dataran India: bentuk dapat berupa slab/batangan berwarna coklat gelap/hitam dan hijau gelap atau coklat tua.

c. Kanabis Cair (*hashish oil*)

Kanabis cair adalah minyak berwarna gelap dengan bau khas. Ketika diencerkan dengan pelarut organik menjadi larutan berwarna hijau atau coklat. Karakteristik kimia: profil kanabinoid mirip dengan kanabis atau resin kanabis tetapi punya satu perbedaan penting yaitu kanabis cair tidak mengandung asam kanabinoid.

Kandungan THC yang biasa terdapat dalam : kanabis herbal : 0,5-5 % ; kanabis resin : 2-10 % ; kanabis cair : 10-30 %

Jumlah tersebut hanya panduan, pada kenyataannya produk yang ditemukan mengandung jumlah yang jauh lebih tinggi. Δ^9 -THC mempunyai efek psikomimetik 20 kali lebih kuat dari Δ^8 -THC. Δ^9 -THC mudah terikat dengan gelas dan plastik, mengurangi perolehan kembali (recovery) pada proses analisis, hal ini dapat diminimalisasi dengan penggunaan peralatan gelas amber dan penyimpanan senyawa dalam larutan standar (*basic*) atau pelarut organik (BNN, 2008).

2. Mekanisme kerja

Ganja biasanya digunakan dengan cara dihisap atau sebagai rokok. Ganja yang masuk ke saluran pernapasan setelah melalui hidung atau mulut, sampai ke tenggorokan, terus ke bronkus, kemudian masuk ke paru-paru melalui bronkiolus dan berakhir di alveolus. Di dalam

alveolus, butiran “debu” zat aktif itu diserap oleh pembuluh darah kapiler, kemudian dibawa melalui pembuluh darah vena ke jantung. Dari jantung, zat aktif disebar ke seluruh tubuh.

Tetrahydrocannabinol (THC), bahan aktif utama dalam ganja, mengikat dan mengaktifkan reseptor spesifik, yang dikenal sebagai reseptor cannabinoid. Ada banyak reseptor ini di bagian otak yang mengendalikan ingatan, pikiran, konsentrasi, persepsi waktu dan kedalaman, dan gerakan terkoordinasi. Dengan mengaktifkan reseptor ini, THC mengganggu fungsi normal mereka.

Cerebellum adalah bagian otak yang terlibat dalam keseimbangan, postur tubuh, dan koordinasi gerakan. Cerebellum mengkoordinasikan tindakan otot yang dipesan oleh korteks motor. Impuls saraf mengingatkan serebelum bahwa korteks motor telah mengarahkan bagian tubuh untuk melakukan tindakan tertentu. Hampir seketika, dorongan dari bagian tubuh tersebut menginformasikan cerebellum tentang bagaimana tindakan dilakukan. Cerebellum membandingkan gerakan sebenarnya dengan gerakan yang dimaksud dan kemudian menandakan korteks motor untuk melakukan koreksi yang diperlukan. Dengan cara ini, serebelum memastikan tubuh bergerak dengan lancar dan efisien.

Hippocampus terlibat dengan formasi memori. Studi menunjukkan bahwa ganja mempengaruhi memori dengan mengurangi aktivitas neuron di daerah ini. Karena hippocampus terlibat dalam formasi memori baru, seseorang yang berada di bawah pengaruh ganja akan mengalami gangguan ingatan jangka pendek, dan pembelajaran baru mungkin terganggu. Namun, sebagian besar penelitian pada manusia menunjukkan bahwa jika seseorang berhenti menggunakan ganja, kemampuan ingatan mereka dapat pulih.

Ganja juga mempengaruhi area otak yang bertanggung jawab atas persepsi sensorik (misalnya sentuhan, penglihatan, pendengaran, rasa, dan bau) di korteks serebral. Sebagian besar informasi sensorik yang berasal dari tubuh disalurkan melalui thalamus, dan kemudian ke daerah korteks serebral yang tepat. Misalnya, korteks somatosensor menerima pesan yang ditafsirkan sebagai sensasi tubuh, seperti sentuhan. Korteks somatosensori terletak pada lobus parietal di setiap belahan bumi. Korteks somatosensori diatur sedemikian rupa sehingga seluruh tubuh terwakili, sehingga bisa menerima dan secara akurat menafsirkan impuls dari bagian tubuh tertentu. Bagian khusus lainnya dari korteks serebral menerima impuls sensorik yang berhubungan dengan melihat, mendengar, merasakan, dan mencium. Impuls dari mata bergerak di sepanjang saraf optik dan kemudian diteruskan melalui thalamus ke korteks visual di lobus oksipital. Bagian dari lobus temporal menerima pesan pendengaran dari telinga. Area untuk rasa berada di celah lateral, yang memisahkan lobus frontal dan temporal. Pusat bau ada di bagian bawah lobus frontal, bau adalah satu-satunya indera yang tidak diteruskan melalui thalamus. Saraf olfactory membawa informasi ini melewati pusat pencium dan langsung ke korteks. Marijuana mengaktifkan reseptor cannabinoid di berbagai daerah korteks

ini, yang menyebabkan persepsi sensoris yang berubah yang dialami pengguna di bawah pengaruhnya.

Efek akut ganja bervariasi, termasuk tertawa dan cekikikan, peningkatan nafsu makan, perubahan persepsi dan mood, dan efek stimulan atau sedatif. Dengan dosis yang sangat besar, pasien mungkin juga mengalami halusinasi, kegelisahan, paranoid, kekurangan memori jangka pendek, dan gaya berjalan yang tidak stabil. Penggunaan ganja secara intravena dapat menyebabkan kolaps kardiovaskular, koagulopati intravaskular diseminata, atau kematian. Penurunan memori dan perhatian telah dikaitkan dengan penggunaan ganja jangka panjang (UNODC, 2014)

Sensasi euphoria ringan, relaksasi, dan persepsi pendengaran dan visual yang diperkuat dihasilkan oleh ganja berpengaruh pada reseptor cannabinoid di otak. Reseptor ini terdapat di seluruh otak, dan molekul endogen yang mengikatnya secara alami telah diidentifikasi yaitu anandamide. Anandamide terlibat dalam mengatur mood, memori, nafsu makan, rasa sakit, kognisi, dan emosi. Ketika ganja dimasukkan ke dalam tubuh, bahan aktifnya, Delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) dapat mengganggu semua fungsi ini.

THC memulai proses ini dengan mengikat reseptor CB1 untuk anandamida. Reseptor ini kemudian memodifikasi aktivitas beberapa enzim intraselular, termasuk *cAMP*, yang aktivitasnya mengurangnya. Kurangnya *cAMP* berarti kurang protein kinase A. Aktivitas enzim yang berkurang ini mempengaruhi saluran kalium dan kalsium sehingga mengurangi jumlah neurotransmitter yang dilepaskan. Rangsangan umum jaringan saraf otak juga berkurang.

Namun, pada rangkaian sistem *reward*, lebih banyak dopamin dilepaskan. Seperti halnya opiat, peningkatan paradoks ini dijelaskan oleh fakta bahwa neuron dopaminergik di sirkuit ini tidak memiliki reseptor CB1, namun biasanya dihambat oleh neuron GABAergik yang memilikinya. Ganja menghilangkan penghambatan ini oleh neuron GABA dan karenanya mengaktifkan neuron dopamin.

Pada pengkonsumsi ganja kronis, hilangnya reseptor CB1 di arteri otak mengurangi aliran darah, dan karenanya menurunkan glukosa dan oksigen ke otak. Hasil utamanya adalah defisit perhatian, kehilangan ingatan, dan kemampuan belajar terganggu (*The Brain, from top to bottom*).

3. Toksokinetik Ganja

a. Data Farmatokinetik

Tabel 5.1 Data Farmakokinetik

<i>Parameter</i>	<i>Data</i>
<i>Bioavaibilitas</i>	6-20 % (oral), dengan cara merokok : 18-50%
<i>Volume distribusi</i>	10 L/kg, rasio distribusi darah:plasma $\Delta 9$ -THC = 1,8
<i>Protein binding</i>	dalam plasma: $\Delta 9$ -THC dan 11-hydroxy- $\Delta 9$ -THC: 94-99%
<i>Metabolisme</i>	Hepatik 90%
<i>Waktu paruh</i>	pengguna sering, $\Delta 9$ -THC : 2 jam, asam $\Delta 9$ -THC-11-OH : 120 jam, sedangkan pada pengguna jarang berturut-turut 1,5 jam dan 144 jam.
<i>Ekskresi</i>	Urin (25%), feses 65%

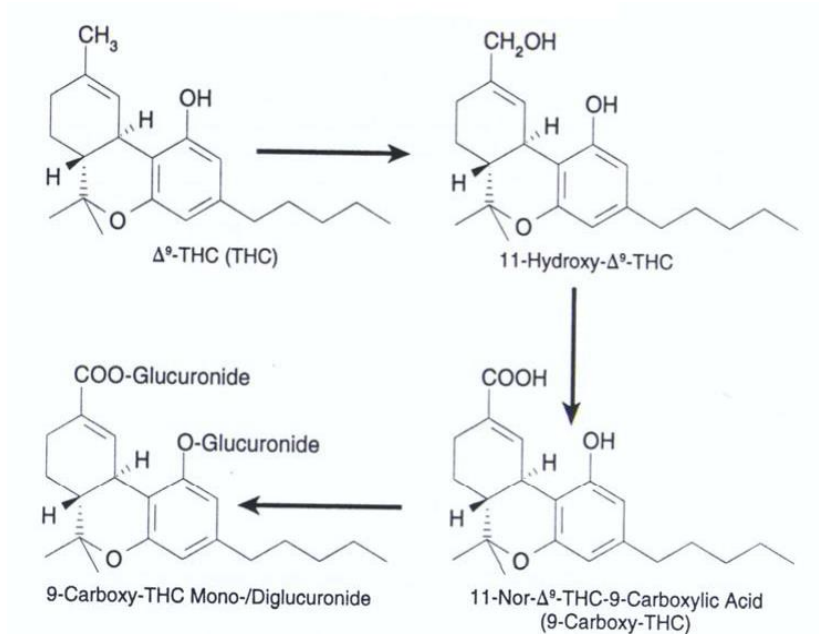
Sumber: BNN, 2008

b. Disposisi dalam Tubuh

D9-THC diserap dari saluran pencernaan tapi penyerapannya lambat dan tidak teratur. Namun, D9-THC dapat diukur dalam plasma dalam hitungan detik setelah menghirup asap ganja pertama. D9-THC bersifat lipofilik dan terdistribusi secara luas di dalam tubuh. D9-THC dioksidasi menjadi metabolit aktif 11-hidroksi-D9-THC dan 8b-hidroksi-D9-THC oleh enzim cytochrome P450 hati. Zat tidak aktif 8a-hidroksi-D9-THC dan 8a, 11-dihidroksi-D9-THC juga terbentuk. Dapat terjadi sirkulasi metabolit enterohepatik. Metabolit asam mayor, 11-nor- Δ -9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (9-carboxy-THC) diubah menjadi konjugat mono dan di-glukoronida yang merupakan bentuk terbanyak yang dikeluarkan dalam urin. Sehingga identifikasi 9-carboxy-THC dalam urin merupakan indikator terbaik untuk mendeteksi konsumsi kanabis.

Waktu paruhnya panjang dapat lebih dari 20 jam sehingga THC terdapat dalam tubuh dalam waktu lama sampai 12 hari setelah konsumsi terakhir. Pada pengguna yang jarang, metabolit dapat terdeteksi dalam urin dalam 1-3 hari tergantung dari metode pemeriksaan, pada pengguna kronis, metabolit dapat terdeteksi 1 minggu atau lebih.

Jalur metabolic THC



Gambar 5.2 Jalur Metabolisme THC

Sumber: BNN, 2008

c. Ekskresi

Hampir 25% dari dosis diekskresikan melalui urin dalam 3 hari, terutama sebagai glucuronide asam 11-nor-D₉-THC-9-carboxylic, bersama-sama dengan bentuk karboksilat dalam bentuk bebas dan terkonjugasi. D₉-THC-O-glucuronide juga terdeteksi dalam urin. Ditemukannya asam karboksilat dalam urin menunjukkan indikasi positif penggunaan kanabis yang baru saja dilakukan. Rute ekskresi utama adalah melalui faeces, sampai sekitar 65% dari dosis diekskresikan dalam 5 hari, terutama sebagai 11-hidroksi-D₉-THC dan karboksilat dalam bentuk terkonjugasi. Metabolit D₉-THC terdeteksi dalam urin hingga 12 hari setelah dosis oral tunggal. Senyawa ini dapat melintasi plasenta dan didistribusikan ke dalam ASI.

4. Analisis Ganja dalam Cuplikan Herbal, Resin dan *Hashis Oil*

Kriteria minimal untuk identifikasi positif ganja

Bagian berikut menjelaskan sejumlah metode untuk pemeriksaan dan analisis produk ganja. Pilihan metodologi dan pendekatan analisis serta keputusan apakah diperlukan metode tambahan bergantung pada ketersediaan instrumentasi yang sesuai dan tingkat bukti legal yang dapat diterima secara hukum di tempat analisis bekerja. Untuk produk ganja yang menunjukkan karakteristik botani, kombinasi uji warna, kromatografi lapis tipis dan pemeriksaan fisik (makroskopis dan mikroskopis) dianggap sebagai pendekatan analitik minimum yang dapat diterima untuk identifikasi positif.

a. Uji Makroskopis

Karakteristik morfologi dan variasi warna tanaman ganja dipengaruhi oleh strain benih dan juga oleh faktor lingkungan seperti cahaya, air, nutrisi dan tempat tumbuh.

Sebagai ramuan dioecious, bunga pada tanaman individu bersifat uniseksual, namun seringkali ada bunga peralihan dan bunga dari lawan jenis yang berkembang kemudian. Tanaman jantan biasanya lebih tinggi tapi kurang kuat dibanding tanaman betina. Batang berwarna hijau, tegak, berongga dan beralur longitudinal (Gambar 5). Tingginya dapat bervariasi dari 0,2-6 m, meskipun sebagian besar tanaman mencapai ketinggian 1-3 m. Luas percabangan, juga bergantung pada faktor lingkungan dan keturunan serta metode budidaya. Cabang samping bervariasi dari yang oposit dengan alternate pada bagian batang utama manapun.

Susunan daun berubah dari *decussate* (tersusun berlawanan) menjadi alternate pada bagian ekstremitas tanaman. Batang daun (petioles) panjangnya 2-7 cm dengan alur sempit di sepanjang sisi atas. Daunnya adalah palmate dan terdiri dari 3-9 lembar lanseolat lurus 3-15 x 0,2-1,7 cm. Tepinya bergerigi kasar, gerigi mengarah ke ujungnya; pembuluh keluar dengan miring dari pelepah ke ujung gerigi. Permukaan bawah (abaxial) berwarna hijau pucat dengan kelenjar resinous yang tersebar, putih sampai kekuning-kuningan, (Gambar 5.3).

b. Karakteristik Mikroskopis

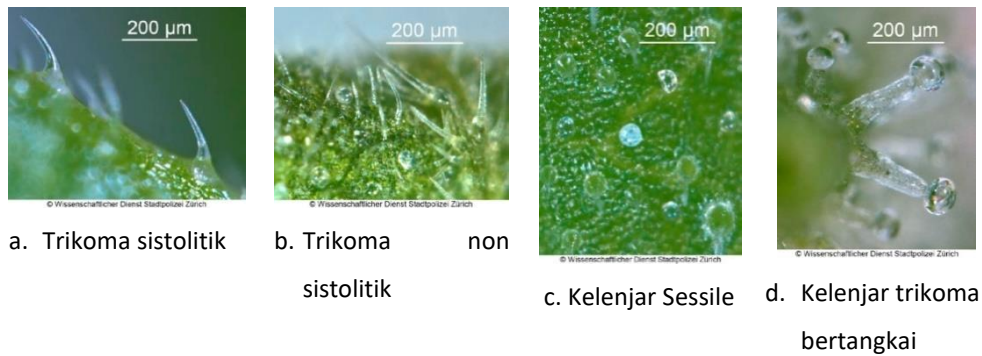
Cannabis sativa dapat diidentifikasi dengan struktur mikroskopik permukaan tanaman, yaitu ditandai oleh trikoma (seperti proyeksi rambut dari sel epidermis tumbuhan). Dua jenis trikoma dapat diamati dengan mikroskop binokuler dengan faktor pembesaran 40 seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5. 3. a,b,c,d:

(a) Trichome non-glandular sangat banyak, tidak bulat, kaku dan melengkung, dengan ujung ramping yang runcing:

(1) Cystolithic trichome yang ditemukan di permukaan atas daun ganja memiliki bentuk cakar beruang yang khas dan mungkin memiliki kristal kalsium karbonat (*cystoliths*) yang terlihat di pangkalannya. Seringkali, trichome rusak dan sistolis terbebas (a);

(2) Trikoma non-kistolitik berada terutama pada sisi bawah daun, bract dan bracteola dan tidak memiliki dasar yang membesar (b);

(3) Trikoma berbentuk cakar beruang di permukaan atas dan trikoma *non-cystolithic* yang halus dan ramping pada permukaan bawah daun adalah karakteristik ganja.



Gambar 5.3. Gambaran mikroskopis trikoma tanaman ganja

Sumber: UNODC, 2009

Trikoma glandular terjadi sebagai:

- (1) Kelenjar sessile, yaitu trikoma tanpa tangkai, yang umumnya ditemukan di epidermis bagian bawah (c);
- (2) Kelenjar bulbous bulat kecil dengan tangkai bersel satu;
- (3) Batang multiselular panjang pada bracteola mengelilingi bunga betina (trichom glandular trisomal multisel)(d).

Trichom kelenjar adalah struktur dimana resin ganja diproduksi dan disimpan. Ini terutama terkait dengan struktur bunga (tumbuhan pistillate sangat kaya akan struktur ini) tetapi juga dapat ditemukan di bagian bawah daun dan kadang-kadang pada batang tanaman muda.

Beberapa tanaman memiliki trikoma yang mungkin mirip dengan yang ada pada *Cannabis sativa* namun, kombinasi rambut sistolitik pada permukaan atas daun dan trikoma yang lebih panjang dan kelenjar sessile di permukaan bawah, yang unik untuk *Cannabis sativa*, memungkinkan identifikasi positif dari bahan yang terfragmentasi sekalipun.

c. Preparasi

1) Preparasi ganja herbal

Bahan tanaman segar (basah) dikeringkan pada suhu kamar selama beberapa hari atau dikeringkan pada suhu 70°C sampai daunnya menjadi rapuh. Pada tahap ini, kandungan air dari bahan tanaman biasanya 8-13 persen.

Bahan kering kemudian dipilih secara kasar (hanya bunga dan daun yang digunakan), dilumatkan (sebaiknya dengan pemotong dengan kecepatan tinggi, yaitu 100 rps) dan disaring (ukuran mesh 1 mm).

2) Preparasi resin (damar) ganja

Damar ganja dipotong kecil atau dengan parutan. Sebagai alternatif untuk bahan yang lengket, sampel didinginkan dengan nitrogen cair dan segera dilumatkan.

3) Preparasi minyak ganja (*Hashis oil*)

Minyak ganja bisa langsung dianalisis.

d. Tes presumtif

1) Tes warna

Tes warna positif hanya memberi indikasi kemungkinan adanya bahan yang mengandung ganja dan bukan identifikasi pasti ganja. Oleh karena itu, wajib bagi analis untuk mengkonfirmasi hasil tersebut dengan menggunakan teknik tambahan yang lebih spesifik. Sebagai contoh, sebuah laboratorium memungkinkan kombinasi tes warna, kromatografi lapis tipis dan mikroskopi untuk bahan tanaman ganja untuk identifikasi positif, asalkan setidaknya tiga cannabinoids diidentifikasi oleh KLT. Analisis juga sangat disarankan untuk menganalisa sampel kontrol ganja (misalnya bahan referensi yang mengandung campuran standar referensi cannabinoid) dan *blind sampel* untuk memverifikasi hasil pengujian dan fungsionalitas serta keandalan semua reagen uji.

a) Tes Fast Corint V

(1) Pereaksi:

Reagen A: petroleum eter, reagen B: garam Fast Corint V (1% w/w Dichloro zinc; 2-methoxy- 5-methyl-4- (4-methyl- 2-nitrophenyl) diazenyl- benzenediazonium; di chloride dalam sodium sulfat anhidrat, reagen C: 1% w/w sodium bikarbonat dalam air.

(2) Prosedur

Lipat dua kertas saring yang diletakkan satu di atas yang lain, lipat membentuk corong, letakkan sedikit sampel bubuk ke bagian tengah kertas atas. Tambahkan dua tetes reagen A yang memungkinkan cairan untuk menembus ke kertas saring yang lebih rendah. Buang kertas saring atas dan biarkan kertas saring yang bawah mengering. Tambahkan sedikit pereaksi B ke bagian tengah kertas saring dan tambahkan dua tetes reagen C.

(3) Pengamatan

Adanya bercak berwarna merah ungu di bagian tengah kertas saring adalah indikasi dari produk yang mengandung ganja. THC, CBN dan CBD menghasilkan rona yang sama.

b) Tes Fast Blue B

(1) Pereaksi:

Reagen A: petroleum eter, reagen B: garam Fast Blue B (1% w/w Di-o-anisidinetetrazolium chloride dalam sodium sulfat anhidrat, reagen C: 10% w/w sodium bikarbonat dalam air

(2) Prosedur, sama seperti pada prosedur Fast Corin V.

(3) Pengamatan :

Bercak berwarna merah ungu di bagian tengah kertas saring adalah indikasi dari

produk yang mengandung ganja. Warna ini adalah kombinasi dari warna cannabinoids yang berbeda yang merupakan komponen utama ganja: THC = merah, CBN = ungu, CBD = orange.

Catatan: Garam Fast Blue B harus disimpan dalam kulkas, agar tidak mengeras.

c) Rapid Duquenois test (Duquenois-Levine test)

Silahkan dibaca di Bab 4 Topik 1. Bisa menggunakan cara manual dengan tabung reaksi atau menggunakan reagen kit.

e. Uji Konfirmasi (Prosedur seperti pada Sampel Biologis)

- 1) KLT (TLC)
- 2) KG (GC / GC-MS)
- 3) KCKT (HPLC)

5. Analisis Marijuana dalam Sampel Biologis

a. Test Skrining

- 1) Sampel : urine
- 2) Metode : Immunochromatografi Kompetitif
- 3) Prinsip : Test didasarkan pada kompetisi penjenjuran IgG anti-narkoba yang mengandung substrat enzim(ada dalam keadaan bebas di zone S) merupakan **“Antibodi Pendeteksi dalam Strip”** oleh narkoba sampel/urine **“Antigen dalam Sample”** atau narkoba yang telah dikonjugasi enzim **“Antigen dalam Strip Test”** (ada dan terfiksir di zone T). Jika dijenuhi oleh narkoba dalam sampel (sampel positif narkoba), maka IgG anti narkoba-substrat tidak akan berikatan dengan narkoba-enzimnya, sehingga tidak terjadi reaksi enzim-subtrarat yang berwarna. Sebaliknya jika tidak dijenuhi (sampel negatif narkoba) atau hanya sebagian dijenuhi (sampel mengandung narkoba dalam jumlah di bawah ambang batas pemeriksaan/*cut off value*), maka IgG anti-narkoba-substrat akan berikatan dengan narkoba-enzimnya secara penuh atau sebagian, sehingga terjadi reaksi enzim-substrat yang berwarna penuh atau samar-samar.

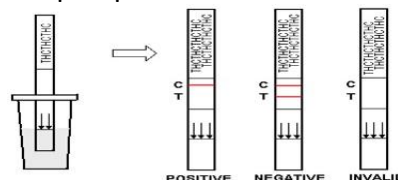
Valid tidaknya test dikontrol dengan mengikutsertakan pada zone S suatu kontrol validitas yang berupa IgG *goat-substrat*. Karena IgG goat bukan antibodi spesifiknya narkoba, maka baik pada sampel urin yang ada, ada dalam jumlah di bawah ambang batas pemeriksaan atau tidak ada sama sekali narkobanya, semuanya tidak akan menjenuhi dan hanya akan mendifusikan *IgG goat-substrat* dari zone S ke zone C untuk menemui dan mengikat IgG anti-IgG goat yang dikonjugasi enzim sehingga terjadi reaksi enzim-substrat yang berwarna di zone C.

- 4) Alat dan Bahan : Strip test Narkoba
- 5) Cara Kerja :
 - a) Biarkan strip test dalam suhu kamar.
 - b) Buka penutup strip test, kemudian celupkan strip test tersebut secara vertical ke dalam sample urine selama 10-15 detik.
 - c) Ketika strip test dicelupkan tidak boleh melewati batas garis yang paling bawah Zona Sample (S).
 - d) Tempatkan test strip itu pada bidang datar, baca hasil setelah 5-10 menit.
- 6) Interpretasi Hasil

Positif : Hanya terbentuk pita pink pada Control (C)

Negative : Terbentuk dua pita pink pada Control (C) dan pada Test (T)

Invalid : Tidak terbentuk pita pink pada Control (C) dan pada Test (T) atau terbentuk pita pink pada Test (T) sedangkan pada Control (C) tidak terbentuk pita pink



Gambar 5.4 Hasil Pemeriksaan Ganja dengan Metode ICT Strip-test

Sumber: Moffats, 2011

b. Uji Konfirmasi

1) Analisis THC Metode Kromatografi Lapisan Tipis (KLT)

2) Prinsip :

Residu hasil hidrolisa yang dilanjutkan dengan ekstraksi yang dielusi dengan pelarut tertentu akan membentuk bercak yang berwarna khas.

3) Perlatan:

a) Alat KLT

- (1) Plate KLT (20 x 20 cm, 10 x 10 cm, 10 x 5 cm)
- (2) Bejana kromatografi
- (3) Pipet kapiler pipet mikro
- (4) Botol semprot sprayer

b) Oven dan lampu UV

4) Reagen :

a. Lapisan tipis Silica Gel G

b. Eluen, dipilih salah satu :

A : Etil asetat-metanol-amonia-akuades (12 : 5 : 1 : 0.5)

B : Kloroform-metanol-amonia (70 : 30 : 2)

c. Larutan penampak bercak Fast Blue B, harus dibuat baru:

Larutan Fast Blue B Salt 0,1% dalam air, apabila dalam air tidak timbul warna, dapat ditambahkan NaOH encer.

d. Larutan standar

Larutan 9-carboxy-THC 1 mg/mL dalam metanol

5) Cara Kerja:

a) Persiapan specimen

(1) Hidrolisis

Hidrolisis alkali

Pipet 10 ml urin kedalam tabung gelas bertutup, untuk pemeriksaan dengan KG ditambah standar internal. Tambahkan 2ml kalium hidroksida 10 N, tutup tabung dan inkubasi pada 50°C selama 20 menit dengan sekali-kali diaduk. Lanjutkan dengan ekstraksi.

(2) Ekstraksi

Prinsip ekstraksi:

9 karboksil THC dari urin yang telah dihidrolisa diekstraksi dalam suasana asam. Hasil ekstraksi diuapkan pada suhu 35-40°C. Residu siap untuk pemeriksaan dengan KLT dan KG.

Cara ekstraksi ada 2

a) Cair-cair

- (1) Spesimen hasil hidrolisa setelah didinginkan, pindahkan ke dalam corong pisah, pH diatur sampai 2HCl 2N atau H₂SO₄ 2 N
- (2) Tambahkan 15 mL Sikloheksan-etil asetat (7:1, v/v)
Ekstraksi dengan mengocok selama 10 menit.
- (3) Pindahkan lapisan organik, saring melalui natrium sulfat kering kedalam tapered tube, cuci saringan dengan 5 mL pelarut (sikloheksan-etil asetat)
- (4) Uapkan sampai kering pada temperatur kamar dengan aliran udara atau gas nitrogen, larutkan kembali residu dalam 0,2 mL methanol atau asetonitril-methanol (3:1, v/v) dengan pengocokan atau sonikator.

b) *Solid-phase extraction (SPE)*

- (1) Kolom SPE yang sesuai dicuci dengan mengalirkan pelan-pelan masing-masing 3 mL methanol, air suling, methanol dan air.
- (2) plastic syringe 10 ml dipasangkan pada kolom sebagai reservoir. Gunakan vakum dengan kecepatan rendah untuk menaikkan kecepatan aliran.

- (3) Urin yang sudah dihidrolisa (2ml) masukkan kedalam kolom, cuci dengan 10 ml HCL 0,1 N dan 25 mL larutan asam fosfat 50 M dalam asetonitril 10%.
- (4) Elusi 9 – carboxy – THC dengan 1 mL aseton.
- (5) Uapkan larutan dibawah aliran gas nitrogen, larutkan kembali dengan 0,1 mL methanol.

b) Pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis

- (1) Totolkan 5-10 µl larutan standart dan hasil ekstraksi pada plate dengan jarak 2 cm, kemudian elusi dalam bejana kromatografi dengan salah satu larutan eluen.
- (2) Keluarkan plate dari bejana kromatografi, kemudian plate dikeringkan sebelum disemprot dengan penamoak bercak.
- (3) Pengeringan dapat dilakukan pada suhu kamar atau dalam oven pada suhu 120°C selama 10 menit atau dengan menggunakan udara panas dari blower.
- (4) Plate yang telah dikeringkan disemprot dengan larutan penampak bercak kemudian amati dibawah lampu UV.
- 5) Pembacaan hasil :Bandingkan nilai Rf ekstrak dengan Rf standart

$$R_f \times 100$$

Senyawa	Eluen	
	A	B
9-carboxy-THC	35-40	25-38

Sumber: Ditjenyanmed, 2004.

C. Heroin dan Morfin

1. Asal dan Klasifikasi

Opioid digunakan secara klinis untuk analgesia dan anestesi dan tersedia secara tidak sengaja untuk penyalahgunaan oral, inhalasi, atau parenteral. Tanaman opium, *Papaver somniferum*, adalah sumber opium. Tanaman ini mengandung lebih dari 20 alkaloid, termasuk morfin dan kodein. Mengubah struktur morfin menghasilkan banyak opioid semisintetik, termasuk heroin, hydrocodone, hydromorphone, dan thebaine (prekursor oxycodone dan naloxone).

Morfin, kodein, opium dan derivat semi sintetik dari morfin, termasuk golongan obat yang disebut opiat. Opiat adalah anlgesik yang kuat juga merupakan obat yang sering disalahgunakan karena menyebabkan euphoria, relaksasi, serta rasa senang yang berlebihan. Opiat dihasilkan dari cairan getah opium poppy yang diolah menjadi morfin kemudian dengan proses tertentu menghasilkan *putauw* dimana *putauw* mempunyai kekuatan 10 kali melebihi morfin. Opioid sintetik yang mempunyai kekuatan 400 kali lebih kuat dari morfin.

Melalui proses kimia dan transformasi dalam perdagangan gelap, heroin ada dalam berbagai bentuk. Berikut ini adalah sebagian contohnya:

a. Dua tipe Heroin Asia Barat Daya

Tipe 1: warna dari coklat muda sampai coklat tua, bentuk bubuk, dengan bau opium, kemurnian mencapai 60%. Kandungan yang biasa didapat: Asetilkodein (5%), O-monoasetilmorfin (3%), Narkotin (10%), Papaverin (4%)

Tipe 2: bubuk kering sangat halus, putih sampai krem, kemurniannya 80-90%, heroin berada dalam bentuk garam hidroklorida. Kandungan di dalamnya adalah: Asetilkodein (3%), O-monoasetilmorfin (2%), Narkotin (tak terdeteksi) Papaverin (tak terdeteksi)

b. Dua tipe Heroin Timur Tengah

Tipe 1

Bubuk halus berwarna coklat (*beige*), kemurnian rata-rata adalah 50%. Kandungan biasa terdapat adalah: Asetilkodein (3%), O-monoasetilmorfin (2%), Narkotin (tak terdeteksi), Papaverin (tak terdeteksi). Tipe ini sering terdapat zat lain (*adulterant*), terkadang zat obat seperti prokain.

Tipe 2

Bubuk halus berwarna putih (*off white*). Sebagian mengandung heroin 70-80%, sebagian lagi kemurniannya hanya 30-40%. Alkaloid dan derivat ada dalam bentuk hidroklorida. Kandungan alkaloid dan derivat yang biasa terdapat di dalam heroin dengan kemurnian tinggi adalah: Asetilkodein (2-3%), O-monoasetilmorfin (2%). Sedangkan yang sudah diencerkan hanya mengandung asetilkodein, o-monoasetilmorfin, narkotin, papaverin dalam jumlah sangat kecil (*trace*).

c. Dua tipe Heroin Asia Tenggara

Tipe 1 : Heroin yang dihisap (*Smoking Heroin*) ' Chinese No. 3'.

Bahan bergranul keras, warna biasanya abu-abu, kadang coklat kotor, beberapa variasi warna granulnya adalah merah atau merah muda. Kandungan bahan berwarna abu-abu atau coklat kotor adalah Kafein (40%), Heroin (20%), O-monoasetilmorfin (5%), Alkaloid (sedikit).

Tipe 2 : Heroin yang diinjeksi ' Chinese No. 4'

Bubuk putih halus mengandung heroin dengan kemurnian tinggi, terdiri dari: Monoasetilmorfin (<3 %), Asetil kodein (5%), Narkotin (tak terdeteksi), Papaverin (tak terdeteksi). Dalam analisis laboratorium perlu diperhatikan struktur kimia heroin dan opiat yang berkaitan seperti morfin dan kodein.

Menurut UU Narkotika No. 35 tahun 2009 dan Permenkes No. 2 tahun 2017 heroin termasuk golongan I narkotika, tidak diijinkan digunakan untuk terapi, karena menimbulkan

efek ketergantungan tinggi, sedangkan morfin termasuk golongan II narkotika, diijinkan digunakan untuk terapi, menimbulkan efek ketergantungan sedang.

2. Toksokinetika

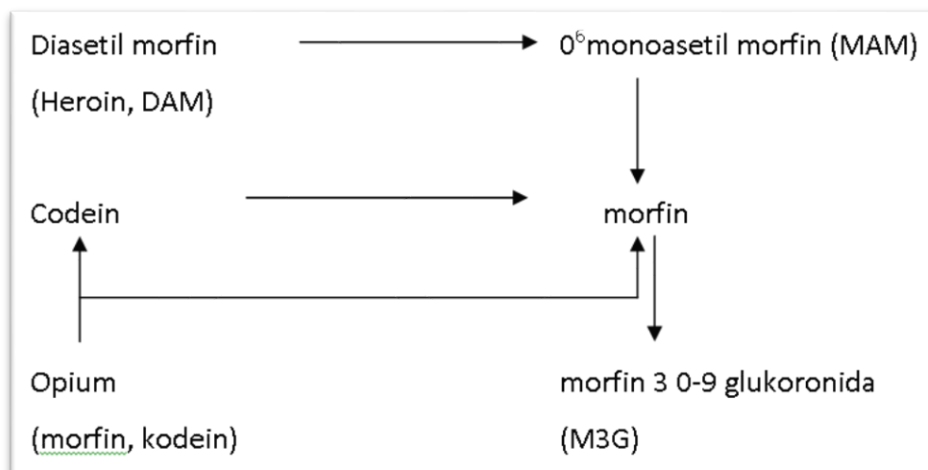
a. Absorpsi dan distribusi

Sebagian besar opioid oral diserap sepenuhnya dari saluran pencernaan dan mencapai kadar puncak dalam 1 sampai 1 ½ jam. Metabolisme lintas pertama (*first-pass*) signifikan, menghasilkan bioavailabilitas rendah. Sebagai contoh, bioavailabilitas morfin oral hanya 22-24%. Sebaliknya, kodein dan metadon memiliki rasio potensi oral/parenteral yang lebih tinggi dan memiliki bioavailabilitas 60-79%. Ikatan protein morfin 0% sedangkan metabolitnya 20 – 40%. Morfin dan meperidin sering diberikan secara intramuskular, namun penyerapan meperidin tidak menentu oleh rute ini. Menghirup asap heroin atau merokok yang dicelupkan ke dalam heroin menunjukkan farmakokinetik serupa dengan heroin intravena. Heroin yang dihirup dan intravena mencapai kadar puncak dalam waktu 1 sampai 5 menit dan dengan cepat menurun ke tingkat deteksi dalam 30 menit. Heroin masuk ke dalam tubuh, dengan berbagai cara termasuk hirupan, isapan, suntikan subkutan, atau intravena.

b. Metabolisme dan Ekskresi

Metabolisme secara hepatic dengan baik dalam bentuk morfin-o- glukoronida dan hanya sebagian kecil (2-12%) diekskresi tanpa mengalami perubahan bentuk. Metabolit yang terbesar (60-80%) diekskresi melalui urine dan hanya jumlah kecil 5-14% diekskresi di dalam feses. Konsentrasi morfin dalam urin dalam dosis terapeutik sebesar 10 µg/ml. Seperti juga morfin, kodein mengalami metabolisme dalam tubuh (Gambar 5.3). Jumlah besar diekskresikan dalam bentuk kodein glukoronida. Dalam jumlah kecil (10-15%) didemetilasi membentuk morfin dan norkodein, diekskresi dalam urine terutama dalam bentuk glukoronida.

Jika masuk melalui suntikan heroin dengan cepat mengalami reaksi deasetilasi menjadi MAM (*Mono Asetil Morfin*), kemudian terhidrolisa menjadi morfin secara perlahan-lahan. Sebagian besar metabolit heroin (38,2%) yaitu morfin 3-glucuronida (M3G) ditemukan dalam urine dalam waktu 20-40 jam setelah pemberian secara intravena. Metabolit lainnya yaitu MAM (1,3%), Morfin bebas (4,2%), Heroin yang tidak berubah (0,1%), dan Norformin



Gambar 5.4 Metabolisme morfin, codein, heroin

Sumber: Ditjenyanmed, 2004.

Karena metabolisme yang cepat, heroin tidak dapat dideterminasi langsung dalam cairan tubuh (*half life* 2-3 menit). Biasanya dilakukan dengan penentuan morfin, yang merupakan metabolit yang terutama dalam urine. Penggunaan heroin dapat dikonfirmasi dengan penemuan MAM dalam urine.

Metabolit yang spesifik tersebut (MAM) hanya dapat ditentukan segera setelah konsumsi heroin (2-8 jam), setelah itu MAM mengalami perubahan relative cepat menjadi morfin (waktu paruh 0,6 jam). Pemeriksaan MAM membutuhkan modifikasi prosedur ekstraksi dan peralatan yang canggih.

c. Toksisitas

Trias toksisitas opioid klasik adalah depresi SSP, depresi pernapasan, dan miosis. Tingkat kesadaran dapat bervariasi dari euforia hingga disforia dan dari sedasi ringan sampai koma. Pasien dapat mengalami hyporeflexic, hypothermia, atau hypotensi.

Penyalahgunaan opioid secara intravena dapat menyebabkan banyak komplikasi medis, termasuk endokarditis; emboli paru septik; pneumonia aspirasi; tuberkulosis; trombosis vena; talk dan tepung maizena (dari bahan pencampur) sampai ke retina, paru-paru, hati, dan ginjal; nefropati heroin-morfin; tetanus; hepatitis; infeksi virus imunodefisiensi; pneumotoraks; pseudoaneurysms; aneurisma mycotic; abses; selulitis; septic arthritis; myopathy; osteomielitis; botulisme luka; myelitis; dan pseudo obstruksi usus sekunder akibat impaksi feses.

2. Analisis Morfin-Heroin dalam Sampel Biologis

a. Penanganan Spesimen

1) Pengambilan Sampel Urin

- Spesimen urin diambil dalam keadaan segar.
- Jika tidak segera diekstraksi disimpan dalam pendingin (*freezer*).

- c) Urin ditampung pada wadah botol plastic yang kering bersih dan bertutup ulir dengan volume tidak boleh kurang dari 20 mL dan diberi tanda sebagai berikut: nama pasien, tanggal pengambilan, tempat pengambilan dan informasi lain yang dibutuhkan.
- d) Urin dapat disimpan dalam suhu kamar selama 24 jam pada 4-10°C selama 2-3 hari, bila lebih dari 3 hari dibekukan dalam freezer.

b. Ekstraksi

1) Prinsip :

Heroin yang terdapat dalam urine terdeteksi dengan adanya metabolitnya (MAM) yang mengalami perubahan relative cepat menjadi morfin. Morfin diekstraksi dengan pelarut organik pada pH 8,5-9, hasil ekstraksi disaring dan dikeringkan sehingga didapat residu yang dapat dianalisa secara kualitatif (KLT) dan kuantitatif (KG).

2) Peralatan :

- a) *Vortex mixer*
- b) Shaker
- c) Sentrifuge
- d) Tapered tube berskala 10 ml
- e) Corong pisah
- f) Corong
- g) Batang gelas pengaduk
- h) Penangas air
- i) Sonikator

3) Reagen

- a) Pelarut organik
 - (1) Kloroform : isopropanol (9:1 v/v)
 - (2) Diklorometan : isopropanol (9:1 v/v)
 - (3) Etil asetat
- b) Asam klorida (HCl 0,5 M)
- c) Methanol
- d) Natrium sulfat (Na_2SO_4) anhidrat
- e) Gas nitrogen
- f) Kertas saring
- g) Kertas saring silicon

4) Cara kerja :

- a) Hidrolisa

Hidrolisa dapat dilakukan dengan salah satu cara di bawah ini:

- (1) Hidrolisa dengan Asam

Dalam tabung bertutup volume 50 ml, masukkan 10 ml urine tambahkan 1 ml HCl pekat campur baik-baik. Buka tutupnya, inkubasi dalam penangas air pada suhu 100°C selama 60 menit. Didinginkan, kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi.

(2) Hidrolisa enzimatik

Specimen urine (5-10 ml) atur pH sampai 7 dengan penambahan asam asetat apabila bereaksi basa. Kemudian tambahkan 0,1 ml buffer Natrium asetat, asam asetat (pH 5,5) dan 0,002 ml enzim β glukoronidase (75 unit/ml) per ml urine.

Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C atau selama 1 jam pada suhu 55°C. suhu tidak boleh lebih dari 55°C untuk mencegah denaturasi enzim.

Kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi.

Hidrolisa asam dan hidrolisa enzimatik merubah MAM menjadi morfin.

b) Ekstraksi

- (1) pH urine diatur pada 8,5-9 dengan penambahan amonia campur dalam vortex mixer. Ekstraksi dengan salah satu pelarut organik yaitu, kloroform-isopropanol (9:1 v/v), diklorometan-isopropanol (9:1 v/v), etil asetat, yang volumenya 2 kali volume urine.

Ekstraksi dilakukan dengan cara ekstraksi dengan pelarut organik 2 kali, tiap kali dengan 10 ml.

- (2) Biarkan lapisan air memisah sempurna dari lapisan pelarut organik kumpulkan lapisan organik.
- (3) Apabila terjadi emulsi, saring dengan kertas saring silikon untuk menyaring ekstrak. Pecahkan emulsi dengan sonikator.
- (4) Supaya ekstrak dalam keadaan bening/bersih, ekstraksi kembali larutan organik dengan 6 ml HCl 0,5 M.
- (5) Tampung lapisan organik. pH lapisan air diatur pada 8,5 – 9, kemudian diekstraksi kembali dengan salah satu pelarut diatas.
- (6) Pisahkan lapisan organik, jadikan satu dengan lapisan organik sebelumnya, saring larutan melalui sedikit Na_2SO_4 kering, cuci saringan dengan 5 ml fase organik.
- (7) Pekatkan larutan sampai 1-2 ml dan uapkan pelarut dibawah gas nitrogen atau dengan penangas air pada suhu tidak lebih dari 55°C sampai kering. Pemekatan dengan rotary evaporator atau Kuderna Danish Konsentrator. Untuk pemeriksaan dengan Kromatografi Gas pemekatan disarankan dengan KG Konsentrator.

- (8) Untuk pemeriksaan KLT atau analisa kromatografi gas larutkan kembali residu dalam 0,1 ml methanol atau methanol-kloroform (9:1).
Apabila sampel cepat kering, larutkan kembali dengan methanol atau methanol-kloroform 1-2 ml.

c. Metode pemeriksaan

a. Pemeriksaan secara kualitatif dengan Kromatografi Lapisan Tipis

1) Prinsip :

Residu hasil ekstraksi dielusi dengan eluen tertentu, kemudian ditetapkan secara KLT sehingga terbentuk bercak yang berwarna khas.

2) Peralatan :

a) Alat KLT lengkap :

- (1) Plate kaca 20 x 20 cm, 10 x 10 cm, 10 x 5 cm
- (2) Bejana kromatografi
- (3) Botol semprot atau sprayer
- (4) Pipet kapiler/pipet mikro

b) Lampu UV 254 nm

c) pH meter

d) Sentrifuge

e) Oven

3) Reagen :

a) Adsorben : silica gel G, tebal 0,2 mm

b) Eluen, dipilih salah satu :

- (1) Sistem A : toluene- acetone- etanol- ammonia (45 : 45 : 7 : 3)
- (2) Sistem B : Etil asetat- Methanol - Ammonia (85 : 10 : 5)

c) Penampak bercak dipilih salah satu:

(1) Kalium iodoplatinat:

Larutkan 0,25 g platina klorida dan 5 g KI dalam air suling sampai 100, tambahkan 2 ml HCl pekat.

(2) Reagen Dragendorff

Larutan A: Campur 2 gr bismuth subnitrat (bismuth oksinirat), 25 ml asam asetat glacial atau pekat dan 100 ml air suling.

Larutan B: Larutan 40 gr KI dalam 100 ml air suling.

Campur 10 ml larutan A dan 10 ml larutan B, + 20 ml asam asetat glacial + 100 ml air suling.

(3) Reagen fluoresensi :

(a) Buffer AMP (2-amino 2-metil 1,3 propandiol:

Tambahkan 105 mg 2-amino 2-metil 1,3 propandiol ke dalam 18,8 ml HCl pekat dan encerkan dengan air sampai 1000 ml ($\text{pH} = 9,3 \pm 0,2$)

(b) Larutan kalium ferri sianida :

Larutkan 58 mg kalium ferri siabercak dalam 100 ml air suling.

Simpan dalam lemari es, siapkan larutan yang baru 1 minggu.

d) Standar Morfin dan codein

Buat larutan standar 1 mg/ml dalam methanol.

Garam atau basanya bisa digunakan sebagai standar, karena pada KLT senyawa tersebut akan terpisah sebagai basa bebas

c) Cara kerja KLT

(1) Totolkan 5-10 μl larutan standard dan hasil ekstraksi pada plate dengan jarak 2 cm, kemudian elusi dengan bejana kromatografi dengan salah satu larutan eluen.

(2) Keluarkan plate dari bejana kromatografi kemudian plate dikeringkan sebelum disemprot dengan larutan penampak bercak.

(3) Pengeringan pada suhu kamar atau di dalam oven pada suhu 120°C selama 10 menit atau dengan menggunakan udara panas dari blower.

(4) Plate yang telah kering disemprotkan dengan larutan penampak bercak. Kemudian setelah kering diamatai.

Catatan :

Eluen dengan system A akan memberikan hasil lebih bagus apabila menggunakan penampak bercak Dragendorf.

Eluen dengan system B akan memberikan hasil yang lebih bagus apabila menggunakan penampak bercak iodoplatinat.

(5) Pembacaan hasil :

Bandingkan R_f ekstrak dengan R_f standar.

$R_f \times 100$ (values)

Senyawa	Eluen		Penampak bercak		
	A	B	UV	Iodoplatinat	Dragendorff
Morfin	19	20	fluoresensi	Biru-ungu	Biru dengan latar belakang kuning
Kodein	40	35			

b. Pemeriksaan secara kuantitatif dengan kromatografi gas

1) Prinsip :

Derivatisasi hasil ekstraksi dilarutkan dengan pelarut tertentu, diinjeksikan ke dalam injektor pada kondisi tertentu, sehingga dapat diketahui waktu retensi, luas area dan puncak kromatogram yang dihasilkan.

2) Peralatan :

a) Derivatisasi :

- (1) *Tapered tube* (tabung runcing berskala) 10 ml
- (2) Labu ukur 10 ml

b) Kromatografi gas

3) Reagen :

a) Standar kalibrasi : morfin, nalorfin

b) Derivatisasi :

- (1) BSA (N,O-bis(trimetil silil)asetamin)
- (2) MSTFA (N-metil N-trimetilsilil trifluoroasetamid)
- (3) HMDS (Heksan metal disilasan)
- (4) TMCS (Trimetil Klorosilan)
- (5) Piridin
- (6) PFTA (Penta fluoro propionat anhidrat)
- (7) Etil asetat

c) Kromatografi gas

- (1) Gas nitrogen
- (2) Kolom

4) Cara Kerja :

a) Pembuatan larutan standar kalibrasi

Dibuat larutan induk morfin, nalorfin dengan kadar 1 mg/mL dalam methanol.

Dari larutan induk tersebut dibuat larutan standar kalibrasi dalam air suling dengan konsentrasi antara 0-10 µg/mL morfin dalam 5 µg nalorfin.

Nalorfin digunakan sebagai standar internal.

b) Derivatisasi spesimen ada 2 pilihan

(1) Sililasi :

(a) Ekstrak urin diuapkan sampai kering dengan uap nitrogen

(b) Residu yang terbentuk di derivatisasi dengan 20 µl N, O-bis trimetil sililasetamid (BSA) dalam vial tertutup dengan pemanasan 85 °C selama 15 menit (BSA dapat diganti dengan campuran reagen sililasi dan piridin = 1 : 1 v/v).

Campuran tersebut disuntikkan ke dalam kromatografi gas.

Jika dipakai detektor NPD, reagen silisasi seperti N-metil-N-trimetilsilil trifluoroasetamid (MSTFA) atau campuran heksa metildisilasan (HMDS), trimetil klorosilan (TMCS) dan piridin.

- (c) Derivatisasi harus dipersiapkan segera sebelum dianalisa, karena reagen derivatisasi silil tidak stabil. 1-2 µl larutan standar kalibrasi dan hasil derivatisasi diinjeksikan ke dalam injektor.

(2) Asilasi :

- (a) Tambahkan 50 µl penta fluoropropionik anhidrat (PFPA) ke dalam hasil ekstraksi urin, panaskan campuran tersebut selama 30 menit pada 65 °C di dalam tabung tertutup.
- (b) Uapkan kelebihan reagen PFPA dengan uap nitrogen.
- (c) Larutkan residu dengan 50 µl etil asetat.
- (d) Derivatisasi stabil dalam reagen selama beberapa bulan dan setelah penguapan reagen, stabil dalam waktu 24 jam.
1-2 µl larutan standar kalibrasi dan hasil derivatisasi diinjeksikan ke dalam injektor.

c) Kromatografi gas dengan kondisi sebagai berikut :

- (1) Detektor FID atau NPD
- (2) Kolom : packed kolom 2 m x 2-4 mm ID
 - (a) Dimetil silicon (SE 30, OV-1)
 - (b) Phenil metal silicon, 50% phenil (OV-17)
- (3) Gas nitrogen: kecepatan aliran nitrogen pada 70 ml/menit.
- (4) Suhu :
 - (a) Injektor 275 °C
 - (b) Oven 230 °C
 - (c) Detektor 275 °C

5) **Pembacaan hasil** : Hasil pemeriksaan tercantum pada *print out*.

6) **Perhitungan**

Konsentrasi zat yang dianalisa $\frac{A_x/A_{RS} \text{ Spesimen}}{A_{RS}/A_{RS} \text{ Spesimen}} \times C_{RS}$

Dimana :

A_x = tinggi / luas area dari zat yang dianalisa.

$A_{IS} \text{ Spesimen}$ = tinggi / luas area internal standar kromatogram spesimen.

A_{RS} = tinggi / luas standar dari kromatogram standar.

$A_{RS} \text{ Standar}$ = tinggi / luas area internal standar kromatogram standar.

C_{RS} = Konsentrasi standar.

D. KOKAIN

1. Klasifikasi

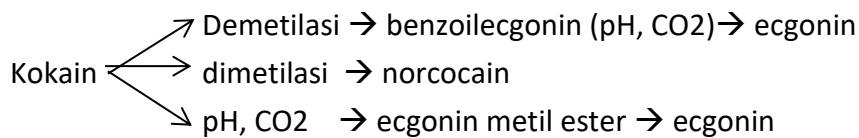
Kokain termasuk narkotika golongan I. Kokain adalah alkaloid dengan nama kimia benzoilmetilecgonin yang didapatkan dari daun tanaman *Erytoxylyus coca*. Kokain merupakan salah satu narkotika yang banyak disalahgunakan. Bentuk yang dihisap disebut “crack” atau kokain base yang bersifat sangat adiktif, dan efeknya cepat.

2. Toksokinetika

Kokain masuk ke dalam tubuh dengan berbagai cara seperti intra nasal, intra vena, intra muskuler, oral dan dihirup. Kokain merupakan stimulant yang kuat terhadap susunan saraf pusat, mempertinggi kesiagaan, mencegah nafsu makan, menyebabkan keinginan untuk tidur dan euphoria (perasaan senang yang berlebihan) yang kuat.

Kokain mengalami metabolisme dalam tubuh, hanya 1% dari dosis yang dikeluarkan dalam urin dalam bentuk yang tidak berubah. Sebagian besar metabolit kokain adalah benzoilecgonin (BE, 25-40% dari dosis) dan Ecgonin metil ester (EME, 18-22% dari dosis). Sebagian kecil metabolit berupa ecgonin, merupakan hasil hidrolisis lanjut dari BE dan EME.

Metabolisme kokain:



Gambar 5.5 Metabolisme kokain

3. Analisis Kokain dalam Sampel Biologis

a. Pengambilan spesimen

Spesimen urin diambil dalam keadaan segar, jika tidak segera diekstraksi, disimpan dalam freezer bisa sampai >3 hari. Urin ditampung dalam wadah botol plastic kering, bersih, bertutup ulir dengan volume tidak kurang dari 20 ml, diberi label. Urin disimpan dalam suhu kamar 24 jam, 4 – 10 C selama 2 – 3 hari

b. Uji screening

Metode LFI atau ICT

c. Ekstraksi

- 1) Reagen buffer boraks
- 2) Buffer ammonia
- 3) Pelarut ekstraksi : diklorometana-isopropanol (85:15); kloro-iso (50:50)
- 4) Na₂SO₄ kering

Spesimen diatur pHnya sampai 9 (8 – 9,5) dengan buffer, ekstraksi dengan pelarut 2 x 20 ml. Tampung pelarut, saring, cuci penyaring, uapkan dengan vakum kemudian kerjakan KLT

d. Metode Kromatografi Lapisan Tipis (KLT)

1) Prinsip :

Residu hasil ekstraksi dielusi dengan eluen tertentu, kemudian ditetapkan secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sehingga terbentuk bercak yang berwarna khas.

2) Peralatan :

a) Alat KLT : Plate KLT (20X20 cm, 10x10cm, dan 10x5 cm), bejana kromatografi

b) Lampu UV

3) Reagen

a) Eluen, dipilih salah satu :

A : Metanol – ammonia (100 : 1,5)

B : Kloroform – methanol (50 : 50)

b) Larutan penampak bercak , dipilih salah satu :

(1) Reagen Dragendorf:

Larutan A :

Campur 2 gr Bismut subnitrat (Bismut Oksinitrat), 25 ml asam asetat glasial pekat atau 100 ml air.

Larutan B :

Larutan 40 gr KI dalam 100 ml air

Campur 10 ml larutan A dan 10 ml larutan B + 20 ml asam asetat galsial + 100 ml air suling

(2) reagen: Kalium Iodoplatinat yang diasamkan

Larutan 0,25 gr platinat klorida dan 5 gr KI dalam air suling sampai 100 ml, tambahkan 2 ml HCL pekat

(3) asam sulfat pekat 1 ml ditambahkan perlahan-lahan pada 10 ml larutan ferri klorida (5% w/v) dan campurkan

c) Larutan Standar :

Larutan standar 1 mg/ml BE (Benzoylecgonine), kokain base dan Ecgonin metil ester dalam metanol.

4) Cara Kerja

a) Ekstraksi

Prinsip Ekstraksi :

Kokain diekstraksi dengan pelarut organik dalam suasana basa pada PH 8-9,5. Spesimen diatur pH sampai 9 (8 – 9,5) dengan buffer yang tepat. Hasil ekstraksi diuapkan, residu siap untuk pemeriksaan dengan alat KLT dan alat KG.

Cara Ekstraksi :

(1) Membuat larutan buffer

- Buffer borax (PH 9-9,6)

19,07 gr natrium tetraborat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) dalam 1 liter air

- Buffer Ammonia (PH 9,5)

10,7 gr ammonium klorida dilarutkan dalam 40 ml larutan ammonia 5 M tambahkan air suling sampai 1 L.

- (2) Spesimen urin sebanyak 20 ml diatur PH-nya sampai 9 (8-9,5) dengan buffer.
- (3) Dengan pelarut ekstraksi diklorometan – isopropanol (85 : 15 v/v) sebanyak 40 ml atau kloroform isopropanol (50:50 v/v) dua kali, tiap kali dengan larutan ekstraksi 20 ml.
- (4) Diamkan lapisan memisah, lapisan air (atas) dan lapisan ekstrak organik (bawah). Apabila terjadi emulsi gunakan kertas saring silikon
- (5) Tampung ekstrak organik, saring melalui kertas saring yang berisi sedikit natrium sulfat kering.
- (6) Saringan dicuci dengan pelarut ekstraksi 5 ml, hasil ekstraksi diuapkan sampai kering dengan pompa vakum atau uap nitrogen. Ekstrak siap dipakai untuk penetapan secara Kromatografi Lapisan Tipis (KLT) dan Kromatografi Gas (KG).

b) Pemeriksaan Kromatografi Lapisan Tipis

- (1) Ekstrak urin yang sudah dikeringkan dilarutkan dalam 50 ul metanol
- (2) Totolkan 5-10 ul larutan standar dan hasil ekstraksi pada plate dengan jarak 2 cm, kemudian elusi dalam bejana kromatografi dengan salah satu larutan eluen
- (3) keluarkan plate dari bejana kromatografi kemudian dikeringkan
- (4) pengeringan dapat dilakukan pada suhu kamar atau dalam oven pada suhu 120°C selama 10 menit atau dengan menggunakan udara panas dari blower
- (5) plate yang telah kering disemprot dengan larutan penampak bercak, kemudian diamati dengan lampu UV

5) Pembacaan Hasil :

Bandingkan nilai R_f ekstrak dengan R_f standar

$R_f \times 100$

Senyawa	Eluen	
	A	B
Kokain	59	61
Benzoilecgonine	25	28
Ecgonine	65	-

Warna bercak yang timbul dengan penampak bercak

Senyawa	UV	Iodoplatinat	Dragendorff
---------	----	--------------	-------------

Kokain	Hitam	Ungu	Orange
Benzoilecgonine	Hitam	Negatif	Orange
EME	Negatif	Biru	Orange

e. Metode Kromatografi Gas (KG)

1) Prinsip :

Residu hasil ekstraksi yang dilanjutkan dengan derivatisasi dilarutkan dengan pelarut kloroform, metanol disuntikkan kedalam kromatografi gas dengan kondisi tertentu sehingga dapat diketahui waktu retensi (Rt) luas area dan puncak kromatografi yang dihasilkan.

2) Peralatan :

Derivatisasi :

- a) Vortex mixer
- b) Heating block
- c) Pipet mikro
- d) Kromatografi gas

3) Reagen

Derivatisasi:

- a) Pentafluoropropionik anhidrida (PFPA)
- b) Pentafluoro-propanol (PFPOL)
- c) Etil asetat
- d) Gas nitrogen
- e) Larutan Standar Kalibrasi

Pembuatan larutan kalibrasi :

Buat larutan induk 1 mg/ml dari kokain, BE dan ecgonine metil ester dari internal standar dalam methanol.

Siapkan larutan standar urin dari larutan induk yang mengandung kokain 0,5 ug/ml, benzoilecgonin dan ecgonine metil ester 0-25 ug/ml internal standar = 25 ug/ml

Larutan standar kalibrasi dikerjakan dengan cara yang sama dengan spesimen

4) Cara Kerja

- a) Ekstraksi (Lihat Ekstraksi Metoda KLT)
- b) Derivatisasi

- (1) Urin tambahkan 50 µl PFPA dan 25 µl PFPOL ke dalam ekstrak kering hasil ekstraksi. Kocok di atas *vortex mixer* dan panaskan di atas heating block pada suhu 90°C selama 15 menit.

- (2) Biarkan tabung sampai dingin dan uapkan ekstrak spesimen sampai kering pada suhu 48⁰ C dengan aliran gas nitrogen, kemudian larutkan residu dalam 25 µl etil asetat.
 - (3) Injeksikan 1-2 µl larutan standar kalibrasi dan hasil derivatisasi ke dalam injektor
 - (4) Derivat PFPA stabil dalam reagen 1 bulan dan 24 jam setelah reagen diuapkan.
- c) Pemeriksaan Kromatografi Gas
- Kondisinya sebagai berikut :
- (1) Detektor : NPD atau FID
 - (2) Kolom : Packed column *) :
 - i. Dimetil silikon (SE-30, OV-1)
 - ii. Fenil metil silikon, 50% fenil (OV-17)
 - (3) Suhu :
 - i. oven : 220⁰ C
 - ii. Injektor : 220⁰ C
 - iii. Detector : 300⁰ C
 - (4) Gas : Nitrogen dengan kecepatan alir 30 ml/menit
 - i. Hidrogen dengan kecepatan alir 30 ml/menit
 - ii. Cappilary Column yang sesuai

(Ditjenyanmed, 2004)

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Sebutkan 3 senyawa utama pada tanaman ganja!
2. Sebutkan ciri khas mikroskopis ganja!
3. Jelaskan metabolisme dan ekskresi :
 - a. Ganja
 - b. Heroin
 - c. Kokain
4. Sebutkan spesimen yang dapat digunakan untuk pemeriksaan :
 - a. Ganja
 - b. Heroin
 - c. Kokain
5. Sebutkan metode tes presumptive sampel yang diduga ganja serta hasilnya!

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Ganja, meliputi: senyawa aktif, ciri mikroskopis, metabolisme dan ekskresi, sampel serta cara pemeriksaan.
2. Heroin, meliputi metabolisme dan ekskresi, sampel, serta cara ujinya
3. Kokain, meliputi metabolisme dan ekskresi, sampel, serta cara ujinya

Ringkasan

Ganja termasuk narkotika golongan I, dapat berupa tanaman utuh, herbal, resin dan minyak mengandung zat aktif utama THC, CBN dan CBD. Metabolisme ganja, 9-carboxy-THC diubah menjadi konjugat mono dan di-glukoronida yang merupakan bentuk terbanyak yang diekskresikan melalui urin.

Heroin dan kokain merupakan narkotika golongan I, sedangkan morfin termasuk narkotika golongan II. Sebagian besar metabolit heroin (38,2%) yaitu morfin 3-glucuronida (M3G) diekskresi dalam urine. Sedangkan metabolit kokain adalah benzoilecgonin (25 -40%).

Analisis ganja, heroin, morfin dan kokain dapat dilakukan terhadap specimen biologis maupun cuplikan atau bahan yang dicurigai. Metode analisisnya meliputi tes presumtif (*screening*) dengan uji warna (Marquis, Duquenois-Levine dsb), metode ICT, mikroskopis (untuk ganja). Uji konfirmasi dapat menggunakan KLT, KG, dan KCKT.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Jika diterima suatu sampel berupa herbal kering untuk pemeriksaan ganja, uji screening apakah yang tepat dilakukan?
 - A. Makroskopis
 - B. Mikroskopis
 - C. Uji warna Mayer
 - D. Uji warna Marquis
 - E. Metode LFI atau ICT
2. Jika hasil pemeriksaan sampel urin untuk pemeriksaan dugaan penggunaan ganja dengan metode LFI atau ICT didapatkan hasil positif, tindakan apa yang selanjutnya tepat dilakukan?
 - A. Sampel urin segera dibuang
 - B. Sampel urin segera diberi pengawet
 - C. Hasil positif didokumentasikan dengan foto

- D. Uji kuantitasi atau penetapan kadar
 - E. Uji konfirmasi dengan KLT
3. Senyawa apakah yang terdeteksi pada sampel urin pada pengguna morfin?
- A. Heroin
 - B. Dimetil morfin
 - C. Benzoilecgonin
 - D. Monoasetilmorfin
 - E. Morfin glukoronida
4. Heroin dalam tubuh akan dimetabolisir menjadi bentuk senyawa yang masih mempunyai aktivitas tinggi. Apakah senyawa tersebut?
- A. Morfin
 - B. Codein
 - C. Cocain
 - D. Benzoilecgonin
 - E. Dimethyl-morfin
5. Jika sampel berupa serbuk yang diduga kokain, uji screening apakah yang sesuai dilakukan di lapangan?
- A. Makroskopis
 - B. Mikroskopis
 - C. Uji warna Scott
 - D. Uji warna Simon
 - E. Uji warna Marquis

Topik 2

Psikotropika

Menurut pasal 1 angka 1 Undang Undang No. 5 Taun 1997 tentang Psikotropika, pengertian psikotropika adalah zat atau obat, baik alamiah maupun sintetis bukan narkotika, yang berkhasiat psikoaktif melalui pengaruh selektif pada susunan saraf pusat yang menyebabkan perubahan khas pada aktivitas mental dan perilaku. Psikotropika digolongkan menjadi 4 golongan. (Lihat lagi Bab 1 Topik 2).

A. AMFETAMIN DAN METAMFETAMIN

1. Klasifikasi

Data fisika amfetamin: biasanya berupa bubuk atau tablet warna putih dan keabu-abuan, dapat berupa kapsul atau cairan. Merupakan senyawa sintetis dengan rumus kimia $C_9H_{13}N$. Amfetamin dan metamfetamin termasuk psikotropika golongan II. Sedangkan rumus kimia metamfetamin $C_{10}H_{15}N$ dengan nama kimia *n-methyl-1-phenyl-propan-2-amine*. Biasanya berupa bubuk atau tablet warna putih dan keabu-abuan, dapat berupa kapsul atau cairan. Digunakan dengan cara oral, injeksi, rektal, inhalasi, dengan waktu paruh 9 – 15 jam.

Selama 10 sampai 15 tahun terakhir, penyalahgunaan ATS (*Amphetamine type stimulant*), yang melibatkan amfetamin (amfetamin dan metamfetamin) dan zat dari kelompok "ekstasi" (MDMA, MDA, MDEA, dll.), telah menjadi masalah global.

2. Toksikinetika

a. Absorpsi dan distribusi

Cara pemakaian amfetamin secara oral, intravena, rektal, inhalasi, bawah lidah (sub lingual), dengan bioavailabilitas oral 20-25 %, nasal 75 %, rektal 95-99%, injeksi intravena 100 %. Sedangkan bioavailabilitas metamfetamin oral 62,7%, nasal 79%, rokok 90,3%, rektal 99%, injeksi intravena 100%. Kebanyakan derivat amfetamin dengan cepat diabsorpsi dari saluran pencernaan.

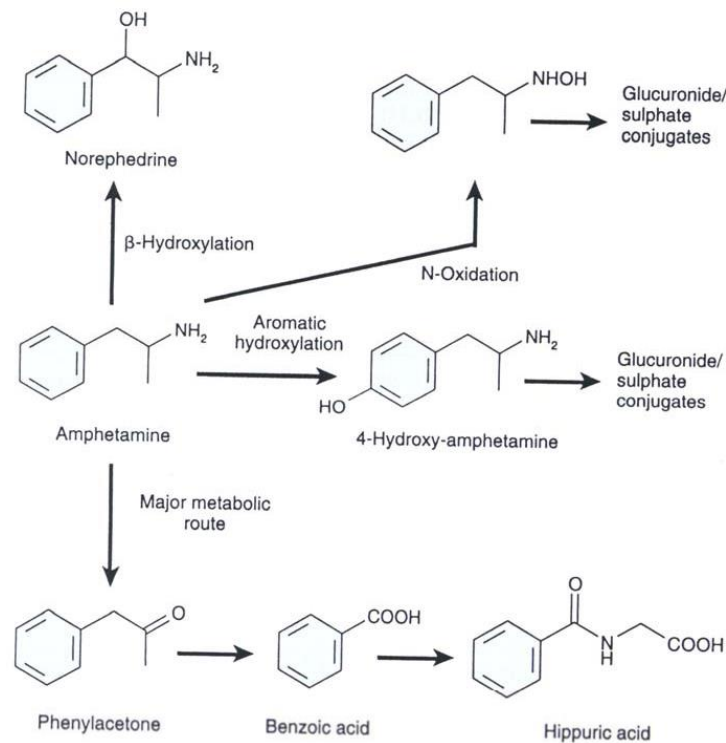
b. Metabolisme dan ekskresi

Setelah mengkonsumsi dosis oral sebanyak 2,5-15 mg amfetamin, kadar puncak dalam plasma sebesar 30-170 $\mu\text{g/mL}$ akan dicapai dalam 2 jam, dan waktu paruh dalam plasma 8-12 jam. Kadar dalam darah yang menyebabkan kematian biasanya di atas 500 $\mu\text{g/mL}$.

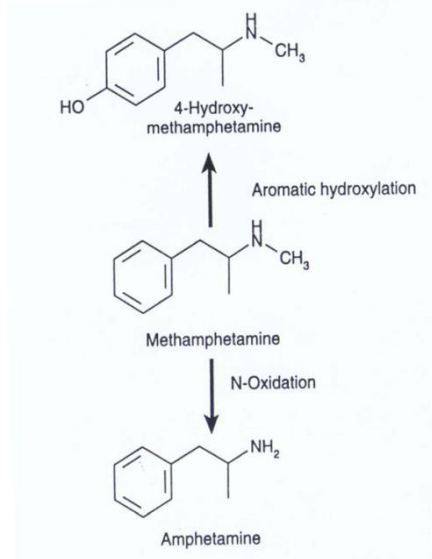
Metamfetamin dan Amfetamin mulai terdeteksi dalam urin 20 menit setelah pemakaian. Amfetamin dikeluarkan dalam bentuk aslinya 20-30%,

sedangkan 25% adalah bentuk asam hipurat dan asam benzoat (deaminasi) serta metabolit terhidroksilasi sebagian sebagai konjugat. Kecepatan dan jumlah zat yang dikeluarkan dalam bentuk aslinya bergantung pada pH urin. Dalam urin alkali 45% zat yang dikeluarkan dalam 24 jam, 2% adalah bentuk asli, sedangkan dalam urin asam, 78% dikeluarkan dalam 24 jam, 68% adalah bentuk bebas.

Metabolisme amfetamin terjadi di hepar sebagai berikut:



Jalur metabolisme metamfetamin dalam hepar:



Gambar 5.6 Jalur metabolisme hepatic amfetamin dan metamfetamin

Sumber: BNN, 2008

Metamfetamin dikeluarkan dalam bentuk aslinya (44%) dan metabolit mayornya yaitu amfetamin (6-20%) dan 4-hidroksimethamfetamin (10%). Seperti amfetamin, keasaman urin meningkatkan kecepatan ekskresi dan prosentase zat dalam bentuk asli yang dikeluarkan. Target analisis adalah metamfetamin dan atau amfetamin dalam bentuk bebas.

Tabel 5.2 zat-zat derivat amfetamin

Nama kimia	Singkatan
<i>n-methyl-1-phenyl-propan-2-amine</i>	Metamfetamin, Met
<i>3,4-Methylenedioxyamphetamin</i>	MDA
<i>3,4 -MethylenedioxyMetamphetamin</i>	MDMA, Ecstasy
<i>3,4 - Methylenedioxyethylamphetamin</i>	MDE, MDEA
<i>5 - Methoxy - 3,4 - Methylenedioxy amfetamin</i>	MMDA
<i>4 - Methoxyamphetamin</i>	PMA
<i>4 - MethoxyMetamphetamin</i>	PMMA
<i>2,5 - Dimethoxyamphetamin</i>	DMA
<i>2,5 – Dimethoxy – 4 – methyl amphetamin</i>	DOM, STP
<i>2,5 – Dimethoxy – 4 - ethylamphetamin</i>	DOET
<i>3,4,5 - Trimethoxyamphetamin</i>	TMA
<i>4 – Bromo – 2,5 – dimethoxy amphetamin</i>	DOB, Bromo- STP

Sumber: BNN, 2008

3. Analisis

b. Analisis Amphetamin dan Derivatnya pada Sampel Biologis

a) Screening test

Untuk sampel urin: Metode LFT atau ICT

c. Metode Kromatografi Lapisan Tipis (KLT)

a. Prinsip :

Residu hasil ekstraksi yang dielusi dengan eluen tertentu sehingga terbentuk bercak dengan warna yang khas.

b. Peralatan :

a) Alat KLT

- Plate KLT (20x20 cm, 10x10 cm, 10x5 cm)
- Bejana kromatografi
- Pipa kapiler / pipet mikro
- Botol semprot / sprayer

- b) Oven
- c) Lampu UV

c. Reagen :

- a) Lapisan tipis silica gel G / F
- b) Eluen, pilih salah satu :
 - A: Metanol – Ammonia (100 : 1,5)
 - B : Etil asetat – methanol – ammonia (85 : 10 : 5)
- c) Larutan penampak bercak,pilih salah satu :
 - (1) Fast Black K Salt :
 - Larutan A : Fast Black K Salt 1% dalam air
 - Laruatn B : Natrium hidroksida 1M
 - (2) Ninhidrin
 - Siapkan larutan ninhidrin 10% dalam etanol.
 - (3) Reagen fluoeskamin (fluram)
 - Siapkan larutan 10mg fluoeskamin dalam 50ml aseton.
 - (4) Simons :
 - Larutan A : Natrium karbonat at encer 20%
 - Larutan B : Natrium nitroprusid encer 1%
- d) Larutan standar
 - Larutan standar amfetamin dan metamfetamin: siapkan larutan standar dalam metanol mengandung masing-masing 5 mg/mL

d. Cara Kerja :

a) Ekstraksi

- (1) Prinsip ekstraksi: Amfetamin dan metamfetamin yang terdapat dalam urin diekstraksi dengan pelarut organik sehingga terbentuk residu, yang dapat dianalisa secara kualitatif dengan alat KLT atau kuantitatif dengan alat KG.
- (2) Cara ekstraksi :
 - (a) Masukkan 2mL urin spesimen ke dalam tabung runcing 50mL dan 0,25mL larutan standar (larutan 2 metil feniletilamin; 8µg/mL)
 - (b) Tambahkan NaOH 1M,air suling 5mL dan diklorometan 20mL dan kocok.Tabung ditutup, kocok sentrifus dengan kecepatan rendah selama 5 menit,lapisan atas dibuang.
 - (c) Tambahkan 2mL asam sulfat 0,15 M tabung ditutup, kocok dan sentrifus.

- (d) Lapisan air sebelah atas dipindahkan ke dalam tabung runcing 15mL tambahkan 1mL natrium hidroksida 1M dan 2,5 mL 1-klorobutan atau diklorometan.
- (e) Tutup tabung vortex dengan berat dan disentrifus lapisan organik pindah ke dalam tabung yang bersih,tambahkan 50 μL larutan metanolic-asam klorida (9:1 v/v)
- (f) Residu siap diperiksa dengan alat KLT atau alat KG.
- (g) Ekstrak diuapkan dengan vakum sampai kering.

b) Pemeriksaan Kromatografi Lapisan Tipis

- a) Hasil ekstraksi yang telah dikeringkan dilarutkan kembali dengan methanol
- b) Totolkan 5-10 μL larutan standar dan hasil ekstraksi pada plate dengan jarak 2cm,kemudian elusi dalam bejana kromatografi dengan salah satu larutan eluen.
- c) Keluarkan plate dari bejana kromatografi kemudian sebelum disemprot dengan larutan penampak bercak.
- d) Pengeringan pada suhu kamar atau di dalam oven pada suhu 120°C selama 10 menit atau dengan menggunakan udara panas dari blower.
- e) Plate yang telah kering disemprot dengan larutan penampak bercak, kemudian diamati dengan lampu UV.
- f) Penampakan bercak :
 - (1) Fast Black K Salt
 - (a) Semprot plate dengan larutan A dan amati warna bercak, untuk amin sekunder misalnya metamfetamin akan segera menghasilkan bercak. Semprot dengan larutan B sedikit berlebih, akan menghasilkan warna bercak untuk amin primer misalnya amfetamin.
 - (b) Keringkan plate pada udara kering dan semprot sekali lagi dengan larutan A, supaya menghasilkan bercak yang lebih intensif.
 - (c) Warna bervariasi dari ungu untuk amfetamin sampai merah muda untuk metamfetamin
 - (d) Batas deteksi untuk amfetamin dan metamfetamin adalah 0,05 – 0,1 μg .
 - (2) Reagen ninhidrin
 - (a) Semprot dengan reagen ninhidrin.
 - (b) Plate keringkan dalam oven pada suhu 120°C sekurang-kurangnya 15 menit.

- (c) Bercak warna ungu atau merah muda dihasilkan oleh amfetamin dan bercak dengan warna lebih kuat oleh metamfetamin.
- (3) Reagen fluoorskamin
- Semprot dengan reagen fluoorskamin.
 - Plate keringkan dengan udara panas dari blower.
 - Amati plate dibawah sinar UV pada panjang gelombang 365nm.
 - Amfetamin memberikan bercak warna kunign berfluoresensi.
 - Batas deteksi amfetamin dan amin primer lainnya adalah μg .
 - Metamfetamin tidak terdeteksi.
- (4) Reagen Simons
- Semprot plate dengan larutan A, kemudian semprot lagi dengan larutan B.
 - Masukkan plate dalam bejana kromatografi yang kosong dan beker glass kecil yang berisi asetalhid ke dalam bejana kromatografi yang kosong, tutup bejana kromatografi.
 - Uap asetildehyd menyebabkan metamfetamin memberikan bercak yang berwarna biru.
 - Deteksi minimum untuk metamfetamin dalam urin $\pm 0,1\mu\text{g/mL}$.
 - Amfetamin dan amin primer lainnya memberikan bercak warna merah muda sampai merah dan reaksi kurang sensitif.

c) Pembacaan Hasil :

Bandingkan nilai Rf ekstrak dengan Rf standar.

$R_f \times 100$

Senyawa	Eluen	
	A	B
Amfetamin	44	66
Metamfetamin	33	63

4. Metoda Kromatografi Gas (KG)

a. Prinsip :

Derivatisasi hasil ekstraksi dilarutkan dengan pelarut etil asetat dan pelarut tertentu sesuai dengan metodenya, diinjeksikan ke dalam injektor dengan kondisi tertentu, sehingga dapat diketahui waktu retensi (*retention time*=Rt), luas area dan puncak kromatogram yang dihasilkan.

b. Peralatan :

- Derivatisasi :

- a. Tabung runcing berskala
 - b. Labu ukur 10 ml
- 2) Kromatografi gas
- c. **Reagen**
 - 1) Larutan standar kalibrasi
Dibuat dari larutan induk amfetamin, metamfetamin dan larutan standar internal dengan kadar 1 mg/ml dalam etanol. Larutan standar kalibrasi dibuat dari larutan induk dalam urin dengan konsentrasi antara 0-5 $\mu\text{g/ml}$, dan standar internal konsentrasi 5 $\mu\text{g/ml}$.
 - 2) Derivatisasi ada tiga pilihan, dipilih salah satu :
 - a) Larutan HFBA (heptafluorobutyric acid):
 - (1) 50 μL HFBA ditambahkan dalam residu kering
 - (2) Tabung ditutup, kocok dengan vortex mixed dan diinkubasi pada suhu 75°C selama 20 menit.
 - (3) Buka tutup tabung dan keringkan dengan udara atau nitrogen pada suhu 30°C, kemudian larutkan dalam 50 μL etil asetat.
 - (4) Volume zat yang diinjeksikan dalam injektor 1-2 μL
 - b) Larutan TFAA (trifluoroacetic anhydride):
 - (1) Tambahkan 50 μL TFAA dan 100 μL etil asetat ke dalam ekstrak urin kering dalam tabung.
 - (2) Tabung dikocok dan diinkubasi pada suhu 60°C selama 20 menit

B. DERIVAT AMFETAMIN

1. Metoda Spektrofotometri

Metoda ini digunakan untuk pemeriksaan derivat amfetamin dalam sediaan tunggal dan dosis tinggi yang terdapat dalam sisa bahan makanan, minuman, obat yang diduga menyebabkan keracunan.

a. Prinsip :

3,4 methylene dioxyamphetamin (MDA) diekstraksi dari spesimen dengan pelarut chloroform dan kemudian dilarutkan dalam asam sulfat 0,1 M diukur pada spektrofotometer pada 340-220 nm secara kuantitatif.

b. Peralatan :

- 1) Corong pisah 250 mL
- 2) Tabung sentrifus & sentrifus
- 3) Spektrofotometer & pencatat
- 4) Kertas saring

c. Reagen :

- 1) NaOH 20% (20 g/dL)

Larutkan 20g NaOH larutkan dalam 100 mL air.

2) NaOH 2 % (2 g/dL)

Larutkan 2 g NaOH larutkan dalam 100mL air.

3) Kloroform

4) Asam sulfat 0,1 M

a) 2,8 mL asam sulfat pekat masukkan ke dalam 100mL air perlahan-lahan.

b) Dinginkan dan larutkan ke dalam air sampai 1L.

d. Cara Kerja :

- (1) Ke dalam corong pisah 250mL, masukkan 10mL spesimen (darah, urine, cairan lambung dan larutan standar darah MDA) dengan larutan NaOH 20%
- (2) Ekstrak 2 kali dengan 100mL kloroform (CHCl_3) selama 5 menit.
- (3) Cuci lapisan campuran CHCl_3 dengan 10mL NaOH 2%, kemudian dengan 20mL air. Pisahkan lapisan air.
- (4) Saring dengan kertas saring lapisan CHCl_3 . Ke dalam corong pisah 250mL yang lain tambahkan 5 mL 0,1 N asam sulfat dan ekstraksi selama 5 menit.
- (5) Pisahkan lapisan asam sulfat dan sentrifus.
- (6) Tempatkan 3 mL ekstrak Asam Sulfat dalam kuvet dan 0,1 N Asam Sulfat dalam sel standard.
- (7) Catat absorban pada 340-220 nm.
- (8) Absorbsikan pada 285 nm dan 234
- (9) Ukur absorban pada panjang gelombang 285 nm.

e. Perhitungan

Hitung konsentrasi MDA dengan perbandingan

$$C_S = \frac{A_S}{A_R} \times C_R$$

A_S = Absorsi spesimen pada 285 nm

A_R = Absorsi pada larutan standar pada 285 nm

C_R = Konsentrasi larutan standar

C_S = Konsentrasi pada spesimen

C. BENZODIAZEPIN

1. Klasifikasi

Benzodiazepin adalah suatu kelompok obat-obatan yang berfungsi sebagai anti kejang, relaksan otot, hipnotik dan *tranquilizer* (obat penenang), termasuk golongan IV psikotropika. Kelompok obat ini sering diberikan bersama dengan obat-obatan anti depresan. Jenis zat golongan benzodiazepin yang paling banyak disalahgunakan yaitu: diazepam (valium), klordiazepoksid (librium), nitrazepam (mogadon), bromazepam

(lexotan).

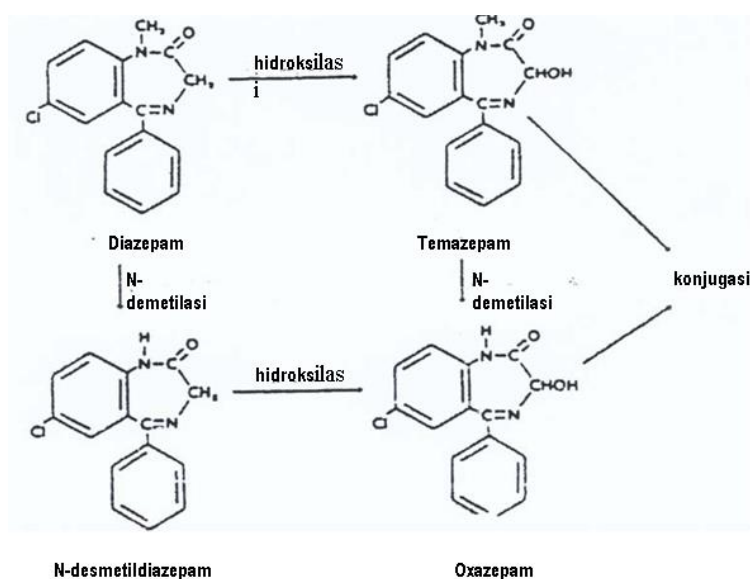
2. Toksikinetika

a. Absorpsi dan distribusi

Benzodiazepin digunakan secara oral, injeksi, dan sublingual. Diabsorpsi secara cepat dan menyeluruh setelah konsumsi oral dengan puncak kadar plasma dicapai dalam waktu 30-90 menit. Bioavailabilitas 70% dengan protein binding dalam plasma masing-masing diazepam (98-99%), desmethyldiazepam (99%),

b. Metabolisme dan ekskresi

Benzodiazepin dimetabolisir di hepar dengan reaksi N-demetilasi, 3 hidroksilasi dan konjugasi asam glukoronat. Metabolit aktif adalah desmetildiazepam serta oxazepam dan tenazepam dengan waktu paruh 20 – 40 jam. Ekskresi terutama dalam bentuk metabolitnya dalam urin. Ekskresinya lambat, 71 % dari dosis terdeteksi di urin, 10 % di feses. Diazepam dan N-desmetildiazepam tetap ada di dalam darah setelah pemberian dosis dalam waktu yang lama. Metabolisme Diazepam sebagai berikut (Gambar 5.7):



Gambar 5.7 Metabolisme Diazepam

Sumber: BNN, 2008

3. Analisis untuk Sampel Biologis

a. Screening test

Sampel urin: menggunakan metode LFI atau ICT

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

1) Prinsip

Sampel diekstraksi dengan metanol, elusi menggunakan eluen tertentu,

sehingga terbentuk bercak dengan Rf tertentu. Bercak discanning dengan spektrodensitometer, sehingga terbentuk spektrum serapan sinar ultraviolet sebelum akhirnya bercak pada pelat disemprot menggunakan penyemprot tertentu. Rf spektrum serapan sinar ultraviolet dan warna bercak hasil penyemprotan dari sampel dibandingkan terhadap baku pembanding.

2) Alat

- a) Peralatan kromatografi lapis tipis (KLT) terdiri dari : (1) Pipet kapiler, (2) Plat KLT dilapisi silika gel berfluoresensi pada λ 254 nm dengan ketebalan 0,25 mm (3) Tabung elusi (*developing tank*) (4) Lampu UV λ 254 nm
- b) Spektrofotodensitometer

3) Reagen

- a. Pelarut organik: metanol, kloroform, aseton, sikloheksan, toluen, dietiamin.
- b. Larutan Sampel
Satu dosis sampel (atau lebih kurang 50 mg cuplikan) larutkan dalam 10 mL metanol, bila perlu saring (A)
- c. Larutan Baku
Buat masing-masing larutan baku pembanding dalam metanol sebagai berikut:
 - (1) Diazepam 1 mg/mL (B₁)
 - (2) Flunitrazepam 1 mg/mL (B₂)
 - (3) Nitrazepam 1 mg/mL (B₃)
 - (4) Bromazepam 1 mg/mL (B₄)
- d. Larutan asam sulfat 2 N
5,5 mL asam sulfat pekat encerkan dengan air hingga 100 mL
- e. Penampak bercak Dragendorff
 - 1) 2 g bismuth subnitrat campur dengan 25 mL asam asetat dan 100 mL air.
 - 2) 40 g kalium iodida larutkan dalam 100 mL air.
10 mL larutan (1) dan 10 mL larutan (2) campur dengan 20 mL asam asetat glasial dan 100 mL air.

4) Cara Kerja

- a) Larutan A, B₁, B₂, B₃ dan B₄ masing-masing ditotolkan pada pelat secara terpisah dan dilakukan kromatografi lapis tipis dengan kondisi sebagai berikut:
 - (2) Fase diam : Silika gel GF 254
 - (3) Fase gerak :
 - (a) Kloroform-metanol (90 : 10)

- (b) Kloroform-aseton (80 : 20)
- (c) Sikloheksan-toluen-dietilamin (75 : 15 : 10)
- (4) Volume penotolan: larutan A, B₁, B₂, B₃ dan B₄ masing-masing 20 µl.
- (5) Jarak rambat : 15 cm
- (6) Penampak bercak :
 - (a) Sinar ultraviolet λ 254 nm, bercak berwarna ungu.
 - (b) Larutan asam sulfat 2 N, panaskan plat kromatogram pada suhu 80°C selama 5 menit, kemudian amati di bawah sinar ultraviolet λ 366 nm, bercak berfluoresensi biru.
 - (c) Larutan Dragendorff, bercak berwarna jingga.

Konfirmasi:

Sebelum pelat disemprot dengan penampak bercak, dilakukan pengukuran spektrum serapan ultra violet terhadap bercak sampel yang mempunyai harga R_f atau tinggi bercak yang sama dengan salah satu bercak baku menggunakan alat spektrodensitometer.

Interpretasi Hasil :

Cuplikan mengandung diazepam bila :

- 1) Larutan A memberi harga R_f dan warna bercak yang sama dengan harga R_f dan warna bercak larutan baku diazepam (B₁).
 - 2) Profil spektrum serapan ultraviolet *bercak* sampel sesuai dengan spektrum serapan ultraviolet bercak baku diazepam serta panjang gelombang serapan maksimum bercak sampel dan baku berimpit.
- Berlaku juga untuk zat golongan benzodiazepine yang lain.

1. METODA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)

a. Prinsip :

Hasil ekstraksi dielusi dengan eluen tertentu, sehingga terbentuk bercak dengan warna yang khas. Nilai R_f dari bercak gugus fungsional yang didapat setelah penyemprotan atau di bawah sinar lampu UV dapat mendeteksi dan mengidentifikasi berbagai jenis golongan benzodiazepine.

b. Peralatan:

Alat KLT:

- 1) Pipet mikro
- 2) Lempeng KLT dilapisi silica gel dengan ketebalan 0,25 mm
- 3) Tabung dilusi (*developing tank/chamber*)
- 4) Lampu UV

c. Reagen :

- 1) Etanol 70%
- 2) Campuran aseton : toluene : CHCl_3 = 25 : 40 : 40
- 3) Larutan baku benzodiazepine untuk ditotolkan dengan kadar 1 mg/ml
Larutkan 10 mg masing-masing bahan baku obat dalam etanol, encerkan dengan etanol sampai 10 ml
- 4) Reagen penampak bercak iodoplatinat atau Dragendorf :
 - a) Reagen iodoplatinat:
Larutkan 0,25 gram reagen platinat klorida dan 5 gram kalium iodide dalam 100 ml akuades, tambahkan 2 ml asam klorida, campur sampai homogen
 - b) Reagen Dragendorf :
Larutan A: Campur 2 gram bismuth subnitrat dan 25 ml asam asetat glacial atau pekat dan 100 ml akuades
Larutan B: Larutkan 40 gram kalium iodide dalam akuades
Campur 10 ml larutan A dan 10 ml larutan S, tambahkan 20 ml asam asetat glacial dan 100 ml akuades.

d. Cara Kerja :

1) Ekstraksi

a. Prinsip Ekstraksi

Golongan obat Benzodiazepin yang terdapat dalam specimen diekstraksi dengan pelarut organik sehingga terbentuk residu yang dapat dianalisa secara KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan KG (Kromatografi Gas)

b. Cara Ekstraksi

- (1) Tambahkan 5-20 ml specimen (darah, plasma, urin atau 10 gram hati yang sudah dihomogenkan dengan 10 ml akuades) ke dalam corong pisah yang telah berisi 100 ml dietil eter. Tambahkan 5 ml buffer fosfat pH 7 pada specimen.
- (2) Kocok kuat-kuat selama 3 menit dan sentrifus (bila perlu) untuk memecah emulsi
- (3) Buang lapisan air bagian bawah dan saring lapisan eter melalui kertas saring Whatman #1
- (4) Tambahkan 5 ml H_2SO_4 0,2 N dan kocok kuat-kuat selama 3 menit untuk mengekstraksi kelebihan obat yang bersifat basa (lihat tabel 5.3 di bawah ini)
- (5) Pindahkan lapisan asam, masukkan ke dalam corong pisah lain, pisahkan lapisan dietil eter.
- (6) Tambahkan 1 ml NaOH jenuh dan 25 ml CHCl_3 ke dalam ekstrak asam.

- (7) Kocok kuat dan saring CHCl_3 melalui kertas Whatman #1 ke dalam beker dan uapkan dengan pemanasan dan udara.
 - (8) Biarkan sampai kering pada suhu kamar dengan pengeringan udara atau nitrogen dengan hati-hati untuk mencegah peruraian atau penguapan obat.
 - (9) Tambahkan 5 ml HCl 2N ke dalam lapisan dietil eter (butir (5) dan ekstraksi dengan mengocok campuran.
 - (10) Pindahkan lapisan asam, masukkan kedalam corong pisah lain sisihkan dietil eter.
 - (11) Tambahkan dengan hati-hati 1 ml NaOH jenuh dan tambahkan 25 ml CHCl_3 kedala ekstrak asam.
 - (12) Tambahkan 5 ml NaOH 0,45 N ke dalam lapisan dietil eter, kocok kuat kuat selama 1 menit. Ambil dan buang lapisan air, saring dan uapkan dietil eter (penguapan seperti pada lapisan eter nomor (5)
- Tambahkan dengan teliti 200 μl CHCl_3 ke dalam setiap beker glass (nomor 5,6,7) dan aduk untuk memperoleh hasil ekstraksi benzodiazepine.

Tabel 5.3. Distribusi Benzodiazepin pada Fraksi

Derivat	Eter (netral)	Asam Klorida (<i>basa lemah</i>)	Asam Sulfat (<i>basa kuat</i>)	Akuades
Klorazepat	7	68	25	0
Klordiazepoksid	1	15	84	
Demoksepam			>>	
Desmetilklorida				
Zepoksid-asam				
Oksazepam	39	60	1	0
Diazepam	5	85	10	0
Desoksidemoksepam		>>		
Nitrazepam	0	90	10	0
Medazepam	1	13	86	0
Flurazepam	0	0	99	1
Klonazepam	59	31	0	0
Umum	Kafein	Beberapa Kafein	Nikotin	
Interfering	Lemak	Methakualon	Putrescines	
Bahan/ Substansi			Quinine	

Sumber: Ditjenyanmed, 2004

Keterangan :

Prosentase dari masing-masing obat yang ditemukan pada beberapa fraksi hasil dari ekstraksi benzodiazepine dalam specimen dengan buffer pH 7, dengan pelarut eter.

2) Pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis

- Totalkan 3 bercak hasil ekstraksi benzodiazepine pada lempeng kaca KLT yang sama, totalkan pula larutan standar, tempatkan lempeng kaca KLT yang telah ditotol pada bejana elusi yang berisi campuran eluen aseton: toluene: kloroform. Salah satu sisi dalam tabung elusi diberi kertas untuk merataan kecepatan elusi.
- Setelah eluen sampai tanda, angkat lempeng kaca KLT yang telah dielusi, keringkan pada suhu kamar atau dibantu dengan menyemprotkan udara dingin, kemudian amati di bawah lampu UV pada λ 254 nm.
- Bandingkan bercak yang didapat dari ekstrak specimen dengan larutan standar obat yang diketahui (Tabel 5.4)
- Jika terdapat bercak berwarna gelap yang sesuai dengan benzodiazepine dan atau metabolitnya, yang terdeteksi pada lempeng kaca KLT, semprot lempeng kaca dengan reagen penampak bercak
- Reaksi positif adalah bercak coklat keungu-unguan (asam iodoplatinat) atau jingga (Dragendorf).
- Apabila tidak ada bercak lain hanya terlihat bercak lemah uji yang lebih sensitive dapat dilakukan dengan merendam lempeng kaca sampai basah dengan H_2SO_4 2N (sampai jenuh), biarkan penguapan dengan pengeringan (tidak lebih dari 5 menit) dalam lemari asam dan amati di dalam ruangan gelap atau dalam kotak dengan lampu UV pada λ 254 nm.
- Reaksi positif untuk benzodiazepin dan metabolitnya adalah warna kuning – hijau atau bercak putih yang berfluoresensi. Obat yang mendapat perlakuan seperti ini tidak dapat dikonfirmasi dengan scanning UV. Hasil kerokan bercak pada metoda KLT ini dapat diteruskan untuk pengujian secara spektrofotometri.

Tabel 5.4 Data Kromatografi Lapis Tipis

Jenis Benzodiazepin	Rf x 100
Klorazepat	49
Klordiazepoksid	20
Demoksepam (metabolit)	36
Desmetilklordiazepoksid	08
Oksazepam	29

Diazepam	70
Desoksidemoksepam (metabolit)	47
Nitrazepam	47
Medazepam	71
Flurazepam	08
Klonazepam	48

Sumber :Ditjenyanmed, 2004

e. Sensitivitas

Batas deteksi dengan metoda KLT ini adalah 1-2 µg. Tetapi dengan kadar total 3 µg (3 ml dalam cell 5 cm) akan memberikan spectrum UV yang lebih jelas untuk semua uji benzodiazepine (Ditjenyanmed, 2004)

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Jelaskan metabolisme dan ekskresi :
 - a. Metamfetamin
 - b. Benzodiazepin
2. Sebutkan spesimen yang dapat digunakan untuk pemeriksaan :
 - a. Metamfetamin
 - b. Benzodiazepin

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Metabolisme dan ekskresi amfetamin dan derivatnya, benzodiazepine dan derivatnya
2. Metode uji dan sampel untuk pemeriksaan amfetamin dan derivatnya, benzodiazepine dan derivatnya

Ringkasan

Penyalahgunaan ATS (*Amphetamine type stimulant*), melibatkan amfetamin (amfetamin dan metamfetamin) dan zat dari kelompok "ekstasi" (MDMA, MDA, MDEA, dll.). Amfetamin diabsorbsi dengan baik di saluran cerna, kadar dalam plasma tercapai dalam 2 jam. Amfetamin dimetabolisir di hepar, diekskresikan dalam bentuk aslinya 20-30%, sedangkan 25% adalah

bentuk asam hipurat dan asam benzoat (deaminasi) serta metabolit terhidroksilasi sebagian sebagai konjugat.

Benzodiazepin adalah suatu kelompok obat-obatan yang berfungsi sebagai anti kejang, relaksan otot, hipnotik dan *tranqulizer* (obat penenang), termasuk golongan IV psikotropika. Jenis zat golongan benzodiazepin yang paling banyak disalahgunakan yaitu: diazepam (valium), klordiazepoksid (librium), nitrazepam (mogadon), bromazepam (lexotan).

Metode analisis untuk screening Amfetamin dan Benzodiazepin dalam urin sudah tersedia di pasaran, sedangkan untuk uji konfirmasi dapat menggunakan metode KLT, KG atau HPLC.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Amfetamin adalah obat psikotropika. Menurut UU No. 5 tahun 1997, termasuk golongan berapakah obat tersebut ?
 - A. I
 - B. II
 - C. III
 - D. IV
 - E. Tidak diatur dalam UU tersebut
2. Amfetamin dimetabolisir di hepar, hasil metabolisme kemudian diekskresi. Dalam bentuk apakah senyawa tersebut sebagian besar diekskresi?
 - A. MDA
 - B. MDMA
 - C. Asam urat
 - D. Metamfetamin
 - E. Amfetamin
3. Senyawa apakah yang dapat terdeteksi dalam urin pada pemeriksaan pengguna Metamfetamin?
 - A. Amfetamin
 - B. Metamfetamin
 - C. Asam urat
 - D. Asam orotat
 - E. Asam hipurat

4. Jika pada pemeriksaan benzodiazepine dengan metode KLT menggunakan penampak bercak pereaksi Dragendorf, bagaimanakan karakteristik benzodiazepine?
- A. Bercak berwarna ungu
 - B. Bercak berwarna biru
 - C. Bercak berwarna jingga
 - D. Bercak berfluoresensi hijau
 - E. Bercak berfluoresensi ungu
5. Metode apakah yang dapat digunakan untuk membedakan amfetamin dan derivatnya?
- A. LFI
 - B. KLT
 - C. KG
 - D. Spektrofotometri
 - E. Spektrodensitometri

Topik 3

Zat Adiktif

A. ALKOHOL

1. Klasifikasi

Alkohol diperoleh dari hasil peragian atau fermentasi madu, gula, sari buah atau umbi-umbian. Dari peragian tersebut dapat diperoleh alkohol sampai 15% tetapi dengan proses penyulingan (destilasi) dapat dihasilkan kadar alkohol yang lebih tinggi bahkan mencapai 100%.

Berdasarkan Peraturan Kepala Balai Pengawasan Obat dan Makanan Nomor. 14 Tahun 2016 tentang Minuman Beralkohol, minuman beralkohol digolongkan menjadi 3 yaitu golongan A; dengan kadar etanol 0%-5% (contoh:bir), golongan B; kadar etanol 5%-20% (contoh: minuman anggur atau wine) dan golongan C; kadar etanol 20%-55% (contoh: *Whiskey, Vodca, TKW, Manson House, Johny Walker*).

2. Toksikinetika

a. Absorpsi dan distribusi

Etanol bersifat larut air maupun lipida dengan volume distribusi mendekati air. Etanol cepat diserap dari saluran pencernaan dalam waktu 30 sampai 60 menit setelah konsumsi. Etanol terdistribusi ke seluruh cairan tubuh dan jaringan, dengan mudah melintasi sawar darah dan plasenta. Rata-rata volume distribusi berkisar antara 0,56 sampai 0,72 L / kg.

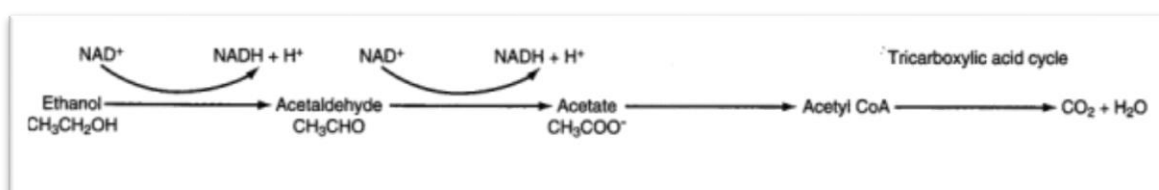
Kadar alkohol dalam darah maksimum dicapai 30-90 menit. Setelah diserap, etanol disebarluaskan ke seluruh jaringan dan cairan tubuh. Alkohol terdeteksi di dalam darah, urin dan nafas seseorang yang baru mengkonsumsi alkohol.

Kandungan alkohol pada alveoli paru-paru bisa digunakan untuk menggambarkan tingkat kandungan alkohol di dalam darah. Kecepatan penyerapan alkohol bervariasi pada setiap orang, umumnya konsentrasi maksimal dalam darah dicapai 1/2 jam - 1 jam setelah minum dan tergantung pada konsentrasi alkohol yang dikonsumsi, yang paling cepat 20% v/v. Konsentrasi maksimum alkohol dalam darah tergantung dari beberapa faktor antara lain: dosis total, kekuatan larutan, jarak waktu setelah mengkonsumsi, jarak waktu antara makan dan minum, jenis makanan yang dimakan, berat badan, kesehatan individual dan tingkat metabolisme dan ekskresi.

b. Metabolisme dan ekskresi

Metabolisme etanol dimulai di sel gastrointestinal oleh dehidrogenase alkohol mukosa lambung. Aktivitas dehidrogenase alkohol lambung ini berkurang pada wanita, pada orang tua dengan gastritis atrofi, dan pada pasien yang menggunakan obat seperti aspirin dan histamin-2 *blocker*, menghasilkan peningkatan kadar etanol pada individu-individu ini. Sebagian besar metabolisme terutama melalui dua sistem enzim hati: (1) alkohol dehidrogenase (ADH), yang umumnya merupakan mekanisme utama, dan (2) sistem pengoksidasi etanol microsomal (*microsomal ethanol oxidation system*=MEOS), yang dapat diinduksi dan memungkinkan peminum kronis untuk menurunkan etanol pada kadar tinggi. Sistem ketiga, jalur katalase peroksidase, hanya memiliki peran minimal pada manusia. Karena metabolisme dalam mukosa dan hati, dosis etanol oral akan menghasilkan kadar etanol darah lebih rendah daripada dosis setara yang diberikan secara intravena.

Sistem dehidrogenase alkohol (jalur metabolisme utama) menggunakan alkohol dehidrogenase untuk mengoksidasi etanol menjadi asetaldehida dan kemudian aldehid dehidrogenase untuk mengoksidasi asetaldehida menjadi asetat (Gambar 5.8). Asetat akhirnya menjadi asetil koenzim A (asetil-KoA), yang kemudian memasuki siklus Krebs, mengalami pembentukan badan keton, atau disintesis menjadi asam lemak. Asetat juga diubah menjadi aseton. Selama proses oksidatif ini, nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+) direduksi menjadi NADH, sehingga mengubah potensial redoks sitosol (rasio NADH/NAD^+). Perubahan rasio NADH/NAD^+ merusak proses oksidatif seluler, seperti konversi laktat menjadi piruvat dan glukoneogenesis. Karena glukoneogenesis sangat penting untuk mempertahankan homeostasis glukosa serum, kelainan metabolik yang dalam seperti asidosis, hipoglikemia, dan lainnya.



Gambar 5.8 Metabolisme etanol

Sumber: Ford, 2007

Ketika alkohol diserap ke dalam aliran darah, maka eliminasi alkohol akan segera terjadi melalui proses ekskresi dan metabolisme. Sekitar 90% - 98% alkohol yang dikonsumsi akan dimetabolisme oleh sistem enzim hati menjadi bentuk karbondioksida dan air. Sebanyak 2% - 8% diekskresikan melalui paru-paru, urin, saliva, air mata dan pernafasan. Alkohol juga diketahui dapat diekskresikan melalui air susu.

Proses eliminasi mengikuti *zero order kinetics*, artinya laju eliminasi

berbanding lurus dan tidak bergantung pada jumlah alkohol di dalam tubuh. Akan tetapi, ketika kadar maksimum alkohol di dalam darah tercapai, maka laju atau nilai pengurangan dari tingkat tersebut tetap konstan. Laju eliminasi berbeda - beda pada setiap individu, juga dipengaruhi oleh kebiasaan "minum" dari individu yang bersangkutan.

c. Toksisitas

Etanol adalah depresan SSP, namun mungkin memiliki efek bervariasi pada individu. Pada awal keracunan akut, efek stimulasi paradoks dengan euforia, pusing, dan hilangnya penghambatan dapat terjadi. Hal ini karena etanol secara selektif menekan korteks serebral, mengganggu konsentrasi dan penilaian. Depresi pusat kontrol penghambatan menghasilkan perilaku rangsang dan kehilangan pengekangan. Jika terjadi intoksikasi (kadar dalam serum sekitar 150 mg/dL pada peminum), depresi SSP menjadi umum, menyebabkan ataksia, bicara tidak jelas, dan sedasi. Hal ini dapat terjadi koma (kadar dalam serum biasanya > 200 mg/dL), hilangnya refleks perlindungan, disfungsi otonom, hipotermia, dan kematian (umumnya pada kadar etanol serum > 400 mg/dL). Selengkapnya pada table 5.5 (Ford,2007).

Tabel 5.5 Intoksikasi Akut Etanol

BAC (%)	Efek
0,02 – 0,03	Tidak kehilangan koordinasi fungsi tubuh, sedikit mengalami euforia, dan kehilangan rasa malu. Efek depresan tidak nampak.
0,04 – 0,06	Merasa segar, santai, kontrol diri yang rendah, tubuh merasakan sensasi hangat, euforia. Terjadi sedikit gangguan pada ingatan dan memberikan alasan, kewaspadaan menurun.
0,07 – 0,09	Sedikit gangguan pada keseimbangan berbicara, penglihatan, waktu bereaksi dan pendengaran. Euforia, berkurangnya pengendalian diri dan pengambilan keputusan. Kewaspadaan dan ingatan terganggu. Di beberapa negara, jika seseorang telah berada pada tingkat ini, tidak diperbolehkan mengoperasikan kendaraan bermotor.
0,10– 0,125	Gangguan secara signifikan koordinasi motorik, dan kehilangan kemampuan untuk mengambil keputusan dengan baik. Berbicara kacau, terjadi penurunan keseimbangan, waktu bereaksi dan pendengaran. Euforia. Jika seseorang telah berada di tingkat ini, tidak diperbolehkan mengoperasikan kendaraan bermotor.
0,13 – 0,15	Penurunan koordinasi motorik secara besar-besaran dan pengurangan kontrol fisik. Penglihatan kabur dan banyak

	kehilangan keseimbangan. Euforia berkurang dan disforia mulai terlihat.
0,16 – 0,20	Disforia (ansietas, lemah) sangat menonjol, mual mungkin muncul. Peminum terlihat minum dengan cara yang kacau.
0,25	Membutuhkan bantuan untuk berjalan, kebingungan mental secara keseluruhan. Disforia dengan mual dan kadang-kadang muntah.
0,30	Kehilangan kesadaran
≥ 0,40	Mulai terjadi koma, kemungkinan dapat terjadi kematian yang diakibatkan gagal pernafasan.

Sumber: Ford, 2007.

3. Pemeriksaan Alkohol

Diagnosis definitif keracunan etanol adalah kadar etanol dalam darah. Analisis alkohol pernafasan, adalah alat skrining yang berguna dan murah yang dapat digunakan dalam keadaan darurat. Pemeriksaan analisa nafas saat ini menggunakan teknologi inframerah dan umumnya memiliki akurasi dan presisi yang sangat baik, terutama bila dikalibrasi dengan baik dan digunakan dengan teknik yang baik. Hasil positif palsu terjadi jika sampel terkontaminasi dengan uap oral saat diuji setelah bersendawa, muntah, atau menelan produk yang mengandung etanol.

a. Dalam darah

Pemeriksaan dalam darah dianjurkan menggunakan metode enzimatik dan kromatografi gas. Spesimen yang dianjurkan adalah darah utuh, sedangkan plasma dan serum dapat digunakan dengan catatan hasil pemeriksaan menggunakan plasma atau serum bila akan dibandingkan dengan *whole blood* yaitu dengan dibagi 1,18 dengan rentang (1,1-1,3). Plasma mengandung lebih banyak air daripada *whole blood* sehingga kandungan alkoholnya juga lebih tinggi.

Metode enzimatik bergantung pada oksidasi spesifik enzim dari etanol menjadi asetaldehid menggunakan alkohol dehidrogenase. Oksidasi ini memerlukan reduksi dari nikotinamid adenin dinukleotida (NAD^+) menjadi NADH (tereduksi), yang disertai perubahan absorban yang dapat dimonitor dengan spektrofotometer.

Metode Kromatografi gas adalah yang paling populer saat ini. Spesimen yang dipakai adalah 200 μL aliquot darah dalam sodium florida dan potasium oksalat. Sodium florida penting untuk mencegah dan membalikkan proses degradasi alkohol oleh bakteri, sedangkan potasium oksalat adalah antikoagulan yang menjamin darah tetap homogen dan tidak berpisah menjadi sel darah merah dan serum. Kromatografi gas sebaiknya dilakukan menggunakan 2 kolom yang berbeda karena penggunaan GCMS jarang untuk memeriksa molekul dengan massa rendah (*low relative molecular mass*).

b. Dalam Napas

Spesimen ini disukai karena cepat dapat diperiksa, tidak invasif, tidak memerlukan keahlian tinggi serta biaya yang rendah.

Hal-hal yang diperlukan untuk pemeriksaan ini :

- 1) Operator yang terlatih dan tersertifikasi untuk melaksanakan pemeriksaan alkohol dalam pernapasan.
- 2) Minimal observasi 15 menit sebelum napas ditiup ke dalam alat.
- 3) Penggunaan standar peralatan internal yang telah terkalibrasi
- 4) Pengukuran dilakukan dua kali (dengan prosedur yang telah disetujui)
- 5) Standar kontrol eksternal
- 6) Tes blanko setelah semua analisis dilakukan
- 7) Hasil cetak (print out) dari semua analisis
- 8) Sistem yang bisa mendeteksi kesalahan (*error*) pada saat dilakukan pemeriksaan.

Contoh alat : Draeger Alcotest 7110



Gambar 5.9. Tes Alkohol dalam Pernafasan

Sumber: <https://www.draeger.com/Products/Content/law-regulatory-enforcement-br-9041431-us.pdf>

c. Dalam urin

Analisis dapat dilakukan dengan metode enzimatik dan kromatografi gas. Urin yang dianjurkan adalah urin yang dikeluarkan setelah kira-kira 1 jam setelah keluaran urin pertama. Masalah dengan spesimen urin adalah pengambilan spesimen dan interpretasi.

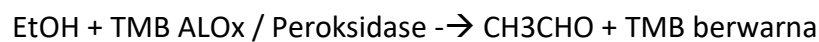
d. **Tes Alkohol dalam Saliva**

Konsentrasi alkohol darah (*blood alcohol concentration*=BAC) adalah ukuran langsung tingkat alkohol untuk berbagai keperluan seperti forensik, tempat kerja, pengaturan medis dan penelitian. Metode yang paling disukai untuk pengukuran kuantitatif alkohol adalah kromatografi gas untuk darah utuh. Namun ini memerlukan waktu, mahal dan membutuhkan keterampilan dalam teknik laboratorium. Sampai saat ini, metode non-invasif untuk memperkirakan secara kuantitatif BAC terutama menggunakan pengujian udara pernapasan. Meskipun analisis nafas memberikan hasil yang cepat, namun memerlukan kalibrasi secara teratur dan kerja sama pasien yang mungkin sulit dilakukan pada pasien yang agresif atau koma. Dengan menggabungkan

kecepatan dan reliabilitas, tes strip alkohol saliva (*Alcohol Saliva Test=AST*) telah diajukan untuk penentuan konsentrasi alkohol darah dengan mendeteksi alkohol dalam saliva yang dapat membantu penyelidikan forensik (Thokala, 2014).

1) Prinsip

Strip mengandung Tetramethylbenzidine (TMB) 0,12 mg, Alkohol Oksidaase 0,5 IU, Peroksidase 0,35 IU dan Protein 0,15 mg. Strip AST didasarkan pada spesifitas tinggi oksidase alkohol (ALOX) untuk etil alkohol dengan adanya substrat peroksidase dan enzim seperti tetramethylbenzidine (TMB) seperti yang ditunjukkan di bawah ini:



Warna yang berbeda pada *pad* reaktif dapat diamati dalam waktu kurang dari 20 detik setelah ujungnya dibasahi dengan sampel saliva dengan konsentrasi etil alkohol lebih besar dari 0,02%.

Tes alkohol saliva (AST) direkomendasikan untuk penentuan BAC >0,02% melalui air liur dalam memberikan hasil kuantitatif *on-the-spot*. AST memiliki beberapa keterbatasan, seperti: strip AST dirancang untuk digunakan dengan air liur manusia saja; Hasil positif hanya menunjukkan adanya alkohol dan tidak menunjukkan atau mengukur intoksikasi, dan ada kemungkinan kesalahan teknis atau prosedural, juga zat lain pada makanan dan obat tertentu dapat mengganggu tes dan menyebabkan hasil yang salah. Tetapi AST tetap memiliki reliabilitas dan validitas yang baik untuk estimasi BAC non invasif dan invasif, dan memiliki kelebihan dibandingkan metode lainnya.

Kelebihan metode ini adalah sebagai berikut: 1) hasil AST tidak dipengaruhi oleh adanya darah di rongga mulut, 2) sifat non invasif AST meminimalkan risiko cedera untuk staf dan tusukan jarum untuk pasien. , 3) AST memberikan penentuan BAC dalam 5 menit dan 4) juga dapat digunakan untuk menentukan kadar etanol saliva postmortem, 6). biaya AST yang relatif rendah, tes air liur bisa menjadi alternatif biaya yang efektif dalam pengaturan kesehatan masyarakat dimana orang-orang yang mabuk sedikit sampai sedang (Thokala, 2014).

4. Metoda Kromatografi Gas (KG)

a. Prinsip

Pengambilan udara yang mengandung alkohol dalam botol bertutup perforasi yang dipanaskan dalam penangas air dengan menggunakan disposable syringe dan kemudian udara yang terisap diinjeksikan ke dalam kromatografi gas.

b. Alat

- 1) Alat kromatografi gas yang dilengkapi oleh detector FID (*Flame Ionisation Detector*)
- 2) Kolom Porapak Q (mesh 80-100)

3) Disposable syringe

c. Reagen

Kondisi Kromatografi Gas :

- 1) Kolom : Porapak Q (mesh 80-100)
- 2) Suhu kolom : 160°C
- 3) Gas pembawa : Nitrogen
- 4) Aliran gas : 50 ml / menit
- 5) Detektor : FID (*Flame Ionisation Detector*)

d. Cara Kerja

- 1) Masukkan 0,5 ml sampel ke dalam botol hijau Mc. Cartney 5 ml yang mempunyai tutup perforasi. Tutup botol dengan kuat, tempatkan dalam penangas air selama 5 menit pada suhu 37°C (untuk zat dengan titik didih yang rendah) atau 56°C (untuk zat dengan titik didih yang lebih tinggi)
- 2) Tanpa pendinginan, pindahkan 1 ml udara di atas sampel menggunakan 1 ml disposable tuberkulin syringe
- 3) Sampel udaranya kemudian diinjeksikan ke dalam kromatografi gas.

e. Interpretasi Hasil

Bandingkan waktu retensi sampel terhadap standar etanol

Waktu retensi relatif*

Suhu 160°C	Senyawa
0,22	Metanol
0,44	Etanol

Keterangan : *Waktu retensi diukur dari injection point.

5. Metoda Spektrofotometri (Metoda Dubowski)

b. Prinsip

Spesimen atau hasil destilasi uap jaringan di destilasi secara langsung dalam larutan asam tungstat untuk mengendapkan protein. Cairan dari destilat dicampur dengan sejumlah tertentu larutan standar kalium dikromat dalam larutan asam sulfat sehingga mencapai keasaman 15 N dan dioksidasi pada suhu 100°C. Residu ini diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm dan konsentrasi alkohol pada spesimen dihitung dari kurva kalibrasi atau table yang disiapkan dari larutan yang diketahui kadar alkoholnya.

c. Alat

- 1) Peralatan destilasi uap dari Dubowski dan Shupe (*Sciensifiglass apparatus*)

- 2) Penangas air elektrik pada suhu 100°C atau pada suhu yang konstan pada 100°C dengan cairan yang mudah larut (cairan UCON 50-HB-280X)
 - 3) Spektrofotometer (450 nm)
 - 4) Pipet
 - 5) Labu ukur yang bertutup gelas
- d. Reagen
- 1) Reagen pengoksidasi : 0.0214 N kalium dikromat
1.0500 g $K_2Cr_2O_7$ dalam 1 liter dari 50% volume asam sulfat.
(1 ml dari reagen setara dengan 0.247 mg etil alcohol)
 - 2) Larutan Natrium tungstat 10% w/v
 - 3) Asam sulfat 2/3 N
 - 4) Larutan Asam tartrat 10% w/v
- e. Cara Kerja
- 1) Spesimen darah, urin, saliva, cairan serebrospinal, destilasi jaringan
 - a) Masukkan spesimen dan reagen ke dalam labu destilasi 125 ml.
 - b) Sedangkan untuk spesimen darah digunakan tabung 250 ml, masukkan 10 ml akuades (untuk analisa darah 20 ml), 2 ml spesimen (1 ml spesimen dapat dianalisa dengan mengumpulkan hasil destilat dalam labu ukur 5 ml dilanjutkan dengan langkah c hingga e), 5 ml asam sulfat 2/3 N dan 5 ml natrium tungstat 10%. Campur isi labu dengan memutar labu dan pasang pada alat destilasi. Destilasi dimulai ketika darah sudah terkoagulasi sempurna dan berubah menjadi warna coklat gelap.
 - c) Destilasi pelan-pelan di dalam labu ukur bertutup gelas 10 ml, hingga volume kurang dari 10 ml selama 8-10 menit, menggunakan mikroburner dengan api 2.5-4 cm, volume diatur sampai garis tanda 10 ml dengan akuades, tutup dan campur dengan baik.
 - d) Ke dalam tabung reaksi gelas borosilikat bertutup ulir dari teflon, masukkan 1 ml destilat dan 5 ml reagen pengoksidasi, campur dengan pemutaran yang kuat. Segera tutup tabung dan panaskan selama 8 menit dalam penangas air elektrik 100°C, masukkan tabung di atas level cairan.
 - e) Dinginkan tabung pada suhu kamar (25°C atau kurang), di bawah air mengalir atau dalam icebath, campur dengan memutar dan pindahkan cairan ke dalam kuvet. Baca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 450 nm, setelah alat dipasang pada 100% transmitant dengan kuvet yang berisi akuades.
 - f) Konsentrasi alkohol dalam sampel (%w/v) diketahui dengan table kalibrasi atau kurva yang disiapkan dari beberapa seri spesimen yang kadar alkoholnya telah diketahui.

2) Spesimen jaringan

- a) Cairkan dengan cepat 10 g bekuan jaringan dengan ice cold dengan diblender. Timbang segera 2 g dari spesimen yang telah cair dengan ketelitian 0.01 g dan pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu destilasi 250 ml, dengan 30 ml larutan asam tartrat 10%. Tambahkan 2-3 tetes cairan antifoam atau 0.1 g senyawa paraffin dengan titik lebur yang rendah. Campur dengan memutar dan pasangkan tabung pada peralatan destilasi.
- b) Destilasi dengan kecepatan uap yang benar dari generator yang mengandung akuades. Kumpulkan destilat kira-kira 20-30 ml dalam tabung destilat 125 ml dalam 8-10 menit
- c) Ke dalam destilat tersebut tambahkan 5 ml asam sulfat dan 5 ml natrium tungstat 10%, campur dengan memutar labu. Pasangkan pada alat destilasi dan lanjutkan seperti untuk cairan tubuh (butir b-d seperti cara kerja spesimen darah, urin, saliva di atas)
- d) Konsentrasi alkohol pada jaringan, dihitung seperti butir (e) cara kerja spesimen darah, urin, saliva di atas, dari table kalibrasi yang sama.

3) Khusus

- a) Bagian terpisah dari spesimen yang didestilasi dari larutan asam tungstat ke dalam tabung destilat 125 ml, tambahkan 10 ml merkuri klorida jenuh dan 10 ml suspensi kalsium hidroksida. Campuran ini didestilasi kembali dan analisis selanjutnya seperti cara kerja spesimen darah, urin, saliva.
- b) Untuk menentukan submikro dan ultramikro yang terbawa dalam darah segar dan urin dengan metode difusi cawan Conway.
 - (1) Untuk analisa submikro, 0,01 ml darah atau urin ditempatkan pada bagian luar dari cincin chamber dari cawan Conway, dan 1,00 ml kalium karbonat untuk memudahkan pelepasan alkohol, 2,50 ml kalium dikromat, reagen oksidasi ditempatkan di tepi cawan Conway.
 - (2) Untuk analisa ultramikro: 0,02 ml sampel ditempatkan diluar cincin chamber dari cawan Conway yang berdiameter 44 mm, bersamaan dengan 0,50 ml reagen oksidasi kalium dikromat di tepi cawan Conway.
(BNN, 2008).

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- a. Sebutkan penggolongan minuman beralkohol berdasarkan PerKB POM!
- b. Jelaskan :
 - 1) absorpsi,
 - 2) distribusi
 - 3) metabolisme
 - 4) dan ekskresi etanol!
- c. Sebutkan sampel biologis untuk pemeriksaan etanol!
- d. Jelaskan prinsip pemeriksaan etanol dengan metode cawan Conway

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Perundang-undangan tentang minuman beralkohol
2. Toksikinetika alkohol terutama etanol
3. Metode uji, sampel dan cara pemeriksaan etanol

Ringkasan

Alkohol yang dikenal sebagai minuman adalah etanol (C_2H_5-OH), merupakan senyawa adiktif non narkotika, yang mempengaruhi SSP, sehingga diatur, dalam Peraturan Kepala Balai Pengawasan Obat dan Makanan Nomor. 14 Tahun 2016 tentang Minuman Beralkohol, minuman beralkohol digolongkan menjadi 3 yaitu golongan A; dengan kadar etanol 0%-5% golongan B; kadar etanol 5%-20% dan golongan C; kadar etanol 20%-55%.

Etanol cepat diserap dari saluran pencernaan dalam waktu 30 sampai 60 menit setelah konsumsi. Etanol terdistribusi ke seluruh cairan tubuh dan jaringan, dengan mudah melintasi sawar darah dan plasenta. Sekitar 90% - 98% alkohol yang dikonsumsi akan dimetabolisme oleh sistem enzim hati menjadi bentuk karbondioksida dan air. Sebanyak 2% - 8% diekskresikan melalui paru-paru, urin, saliva, air mata dan pernafasan. Oleh karena itu, untuk pemeriksaan dapat digunakan sampel saliva, darah, urin dan udara ekspirasi. Analisis screening etanol dapat menggunakan metode LFI, sedangkan uji konfirmasi dengan metode kromatografi gas.

Tes 3

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Berdasarkan klasifikasi minuman beralkohol, berapakah kadar alcohol minuman golongan C?
 - A. <5%
 - B. 5 – 10%
 - C. 5 – 20%
 - D. 20 – 55%
 - E. >55%
2. Etanol dalam tubuh akan di metabolisir terutama di hepar. Apakah hasil metabolisme tersebut?
 - A. Asam asetat
 - B. Acetaldehid
 - C. Asam format
 - D. Methanol
 - E. Propanol
3. Diagnosis definitive keracunan etanol adalah kadarnya dalam darah. Sampel yang digunakan adalah darah utuh. Antikoagulan apakah yang paling tepat?
 - A. EDTA
 - B. heparin
 - C. Na-citrat
 - D. K-oksalat
 - E. Li-heparin
4. Jika diperlukan analisis kuantitatif kadar alcohol dalam darah, metode apakah yang paling sesuai?
 - A. Titrasi
 - B. Volumetri
 - C. Kromatografi Gas
 - D. Spektrofotometri
 - E. KLT-spektrodensitometri
5. Metode apakah yang dapat menggambarkan kadar alcohol dalam darah?
 - A. Alcohol breath test
 - B. Alcohol saliva test
 - C. Alcohol Urine test
 - D. Alcohol Sweat test
 - E. Alcohol hair test

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

1. B.
2. E.
3. D.
4. A.
5. C.

Test Formatif 2

1. B.
2. E.
3. A.
4. C.
5. D.

Test Formatif 3

1. D
2. A
3. D
4. C
5. B

Daftar Pustaka

Ford, M.D., Delaney, K.A., Ling, L.J., Erickson, T., (2001). *Clinical Toxicology, 1st Ed.*, W.B. Saunders Company, Copyright © 2007 Elsevier Inc. www.mdconsult.com

Departemen Kesehatan, (2004). *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium Toksikologi Obat*, Direktorat Jenderal Pelayanan Medik.

Peraturan Kepala Balai Pengawasan Obat dan Makanan, Nomor 14 tahun 2016 tentang Standar Keamanan dan Mutu Minuman beralkohol.

Bruno, D. *The Brain: From Top to Bottom*, http://thebrain.mcgill.ca/flash/i/i_03/i_03_m/i_03_m_par/i_03_m_par.html diakses Desember 2017

Thokala, M. R., Dorankula, S. P. R., Muddana, K., & Velidandla, S. R. (2014). *Alcohol Saliva Strip Test. Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, 8(3), 307–308. <http://doi.org/10.7860/JCDR/2014/8164.4177>

United Nation Office on Drugs and Crime (UNODC), (2009). *Recommended Methods for The Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis Products*. Manual for Use by National Drug Analysis Laboratories.

Bab 6

ANALISIS ARSEN DAN TIMBAL

Drs. Mohamad Firman Solihat, MT.

Pendahuluan

Dalam bab ini kita akan membahas tentang arsen dan timbal, meliputi jenis, sumber, sifat, akibat penggunaan dan bahan sampel pemeriksaan pada kasus toksikologi. Untuk melengkapi pengetahuan kita juga akan membahas tentang cara penanganan sampel, sampai siap untuk diperiksa. Tersedia beberapa pilihan metode analisis yang dapat digunakan sesuai dengan perkembangan teknologi. Untuk memudahkan dalam penerapannya akan dibahas metode analisis yang praktis dengan nilai akurasi dan presisi yang baik. Diperlukan penguasaan konsep kimia dan organik yang cukup baik untuk memudahkan memahami bab ini.

Toksisitas arsen merupakan masalah kesehatan global yang mempengaruhi jutaan orang. Kontaminasi arsen berasal dari sumber geologi alam menembus akuifer sehingga mencemari air tanah dan dapat juga terjadi dari hasil proses pertambangan dan industri lainnya. Arsen diketahui mampu menyebabkan keracunan karena kehadirannya di dalam air minum dan spesies arsen yang paling umum adalah arsenat dan arsenit. Pencemaran arsen dipandang cukup serius karena tingkat toksisitasnya yang sangat tinggi terhadap organisme hidup. Paparan arsen melalui air minum telah dilaporkan menyebabkan kanker pada kulit dan beberapa organ dalam serta terjadinya hiperkeratosis, perubahan pigmentasi, efek pada sistem sirkulasi dan sistem syaraf (Flora et al. 2007)

Timbal adalah logam berat yang terdapat secara alami di dalam kerak bumi dan tersebar ke alam dalam jumlah kecil melalui proses alami. Timbal yang ada di lingkungan lebih banyak dihasilkan oleh kegiatan manusia dibandingkan timbal yang berasal dari proses alami. Timbal di udara terutama berasal dari penggunaan bahan bakar bertimbal yang dalam

pembakarannya melepaskan timbal oksida berbentuk debu atau partikulat yang dapat terhirup oleh manusia.

Untuk mempermudah mempelajari bab ini kita membaginya menjadi 2 topik yaitu

1. Analisis Arsen
2. Analisis Timbal

Topik 1

Senyawa Arsen sebagai bahan toksik

A. DEFINISI ARSEN

Arsen dikenal dengan simbol As, memiliki nomor atom 33, merupakan unsur yang terdapat di berbagai tempat dan terbentuk secara alami di dalam lapisan bumi. Keberadaan arsen di alam sangat berlimpah, menduduki peringkat ke-20 di dalam lapisan kerak bumi, peringkat ke-14 di air laut dan ke 12 dalam tubuh manusia (Mandal dan Suzuki 2002). Arsen terjadi dalam bentuk organik maupun anorganik, memiliki perbedaan valensi meliputi +5 (arsenate), +3 (arsenite) dan -3 (arsine). Arsen yang bergabung dengan elemen lain seperti oksigen, sulfur dan klorida akan membentuk arsen anorganik, sedangkan arsen yang bergabung dengan elemen hidrogen dan karbon akan terbentuk arsen organik (Orloff et al. 2009).

Arsen trioksida disebut juga arsen putih (As_2O_3) adalah senyawa yang tidak berwarna, tidak berbau dan merupakan bentuk komersial dari arsen sebagai bahan dasar untuk berbagai produk sintetis. Arsen pentaoksida merupakan bentuk arsen valensi +5 dan disebut juga arsenate (As_2O_5) (WHO 2001). Arsen dalam bentuk organik bersifat kurang toksik sedangkan bentuk anorganik bersifat toksik. Bentuk arsenite (+3) memiliki potensi enam puluh kali lebih toksik dibandingkan dengan arsenate (+5) (Ratnaike, 2003).

Arsen sangat jarang ditemukan di alam dalam bentuk elemen murni, namun arsen organik sebagai arsenobetain banyak terdapat pada mikrobiota, tumbuhan dan sistem biologi lain. Bentuk tereduksi dari arsen (arsenate maupun arsenite) dijumpai dalam produk-produk industri, limbah pertanian dan di permukaan air (Mashkoor et al. 2013). Jutaan manusia di dunia terpapar arsen anorganik akibat konsumsi dari air minum dan makanan yang terkontaminasi arsen (Silbergeld et al. 2008). Arsen merupakan golongan logam dalam bentuk organik maupun anorganik ditemukan dalam air dan tanah di seluruh dunia khususnya di Bangladesh, India, di beberapa negara di Asia Tenggara (Bhattacharya et al. 2009). Sebanyak 79,9 juta penduduk Banglades dan 42,7 juta penduduk Bengal Barat di India terdeteksi arsen pada air tanah dengan konsentrasi melebihi ambang batas yang dipersyaratkan oleh WHO yaitu 10 ppb (Chowdhury et al. 2000). Beberapa negara bagian di USA dan China, terdeteksi arsen dalam air minum yang dikonsumsi penduduk dengan konsentrasi lebih dari 1 ppm

(Vishwajeet et al. 2014). Pencemaran arsen dipandang cukup serius karena tingkat toksisitasnya yang sangat tinggi terhadap organisme hidup. Paparan arsen melalui air minum telah dilaporkan menyebabkan kanker pada kulit dan beberapa organ dalam serta terjadinya hiperkeratosis, perubahan pigmentasi, efek pada sistem sirkulasi dan sistem syaraf (Flora et al, 2007).

Timbal biarsenat telah digunakan pada abad ke-20 sebagai insektisida untuk buah namun mengakibatkan kerusakan otak para pekerja yang menyemprotnya. Selama abad ke-19, senyawa arsen telah digunakan dalam bidang obat-obatan tetapi kebanyakan sekarang telah digantikan dengan obat-obatan modern.

Kegunaan lain:

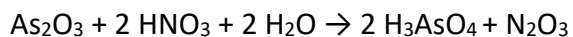
Galium arsenida adalah material semikonduktor penting dalam sirkuit terpadu. Sirkuit dibuat menggunakan komponen ini lebih cepat tetapi juga lebih mahal daripada terbuat dari silikon. Disisi lain ada dampak buruk dari arsenik dan sebagian besar senyawa arsenik yaitu sebagai racun yang kuat. Arsenik membunuh dengan cara merusak sistem pencernaan, yang menyebabkan kematian oleh karena shock.

B. JENIS DAN SIFAT KIMIA ARSEN

Jenis senyawa Arsen :

1. Asam Arsenat

Asam Arsenat adalah senyawa kimia dengan rumus H_3AsO_4 . Kristal putih, higroskopik. rumus lain yang lebih deskriptif adalah $\text{AsO}(\text{OH})_3$. Asam yang tidak berwarna ini merupakan analog asam fosfat; garan arsenat dan fosfat sendiri memiliki reaksi yang serupa. Asam arsenat masih belum diisolasi dan hanya dapat ditemukan di dalam larutan dan di situ asam ini sangat terionisasi. Bentuk hemihidratnya ($\text{H}_3\text{AsO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) dapat membentuk kristal yang stabil. Asam arsenat disiapkan dengan mereaksikan arsen trioksida dengan asam nitrat yang terkonsentrasi. Dinitrogen trioksida dihasilkan sebagai produk sampingan.



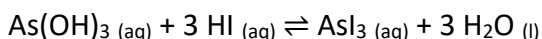
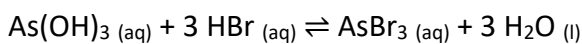
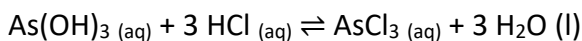
Larutan yang dihasilkan didinginkan untuk menghasilkan kristal hemihidrat ($\text{H}_3\text{AsO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) yang tidak berwarna, walaupun dihidrat $\text{H}_3\text{AsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dapat dihasilkan ketika kristalisasi terjadi pada suhu rendah.

2. Asam Arsenit

Asam Arsenit adalah senyawa anorganik dengan rumus kimia H_3AsO_3 . Asam ini dapat ditemukan dalam larutan berair, tetapi masih belum diisolasi sebagai materi murni, meskipun $\text{As}(\text{OH})_3$ tetap menjadi bahan yang penting. Senyawa asam arsenit bersifat racun dan korosif. Hanya ada dalam larutan berair. Untuk mempersiapkan $\text{As}(\text{OH})_3$, diperlukan proses hidrolisis arsen trioksida yang berlangsung lambat.

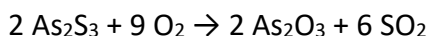
Penambahan basa akan mengubah asam arsenit menjadi ion arsenit $[\text{AsO}(\text{OH})_2]^-$, $[\text{AsO}_2(\text{OH})]^{2-}$, dan $[\text{AsO}_3]^{3-}$.

$\text{As}(\text{OH})_3$ merupakan asam lemah. Seperti arsen trioksida, asam arsenit kadang-kadang bersifat amfoter. Contohnya, asam ini dapat bereaksi dengan asam klorida, bromida dan iodida untuk menghasilkan arsen triklorida, tribromida dan triiodida:



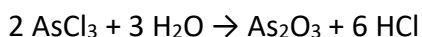
3. Arsen Trioksida

Arsen Trioksida adalah senyawa anorganik dengan rumus kimia As_2O_3 . Setiap tahunnya terdapat sekitar 50.000 ton arsen trioksida yang diproduksi di dunia. Kemudharatan bahan ini masih diperdebatkan karena senyawa arsen sangat beracun. Dapat larut dalam asam encer dan alkali, tidak dapat larut dalam pelarut organik. Arsen trioksida dapat dihasilkan lewat pemrosesan rutin senyawa arsen, termasuk oksidasi (pembakaran) mineral arsenik di udara. Contohnya adalah pembakaran orpimen.



Namun, arsen oksida biasanya muncul sebagai produk sampingan dalam pemrosesan bijih lainnya. Contohnya adalah arsenopirit (ketidakmurnian yang sering muncul pada emas). Pemrosesan mineral ini telah mengakibatkan insiden keracunan.

Di laboratorium, bahan ini disiapkan dengan melakukan hidrolisis arsen triklorida:



As_2O_3 muncul secara alami di dalam dua mineral, yaitu arsenolit (kubik) dan kladetit (monoklinik).

4. Arsin (Arsen Trihidrida AsH_3)
5. Kadmium arsenida (Cd_3As_2)
6. Galium arsenida (GaAs)
7. Timbal biarsenat (PbHAsO_4)

Sifat Kimia senyawa Arsen

Arsen ditemukan dalam 200 bentuk mineral, diantaranya arsenat (60%), sulfida dan sulfosalts (20%), dan kelompok kecil berupa arsenida, arsenat, oksida silikat, dan arsen murni (Onishi, 1969). Mayoritas arsen ditemukan dalam kandungan utama arsenopyrite (FeAsS), realgar (As_4S_3), dan orpiment (As_2S_3). Realgar (As_4S_3), dan orpiment (As_2S_3) biasanya menurunkan bentuk dari arsen itu sendiri. Kondisi natural lainnya yakni loellingite (FeAs_2),

safforlite (CoAs), nicolite (NiAs), rammelsbergit (NiAs₂), arsenopyrite (FeAsS), kobaltite (CoAsS), enargite (Cu₃AsS₄), gerdorfite (NiAsS), glaucodot ((Co,Fe)AsS), dan elemen arsen (Greenwood dan Earnshaw, 1989). Berikut merupakan Tabel 1 Kondisi As di Alam.

Dalam lingkungan perairan, kondisi dalam tekanan oksidasi arsen membentuk pentavalent arsenat (As(V)), dimana dalam kondisi sebaliknya saat tereduksi membentuk trivalent arsenit (As(III)), dan mobilitas serta penyerapan oleh sedimen, tanah lempung, dan mineral tanah bergantung pada bentuk arsennya. Dalam kondisi anoksik, aktivitas mikrobial dapat membentuk arsen dalam metilat, yang mana berbentuk padat dan mampu masuk ke lapisan atmosfer (Nriagu et al., 2007).

C. SUMBER ARSEN

Arsen (As) di alam ditemukan berupa mineral, antara lain arsenopirit, nikolit, orpiment, enargit, dan lain-lain. Demi keperluan industri mineral, Arsen (As) dipanaskan terlebih dahulu sehingga As berkondensasi menjadi bentuk padat. Arsen (As) berasal dari kerak bumi yang bila dilepaskan ke udara sebagai hasil sampingan dari aktivitas peleburan bijih baruan, Arsen (As) dalam tanah berupa bijih, yaitu arsenopirit dan orpiment, yang pada akhirnya bisa mencemari air tanah. Arsen (As) merupakan unsur kerak bumi yang berjumlah besar, yaitu menempati urutan kedua puluh dari unsur kerak bumi, sehingga sangat besar kemungkinannya mencemari air tanah dan air minum. Jutaan manusia bisa terpapar Arsen (As).

Senyawa arsen dapat masuk ke dalam tubuh melalui 3 cara, yaitu peroral, inhalasi, dan absorpsi melalui kulit atau mukosa membran. Arsen bersifat sitotoksik, karena menyebabkan efek racun pada protoplasma sel tubuh manusia. Racun arsen yang masuk ke dalam saluran cerna akan diserap secara sempurna di dalam usus dan masuk ke aliran darah dan disebar ke seluruh organ tubuh. Distribusinya tergantung dari lama pemberian dan jenis arsen. Sebagian besar arsen disimpan dalam hati, ginjal, jantung dan paru paru.

Didalam darah, arsen yang masuk akan mengikat globulin dalam darah. Dalam waktu 24 jam setelah dikonsumsi, arsen dapat ditemukan dalam konsentrasi tinggi di berbagai organ tubuh, seperti hati, ginjal, limpa, paru-paru serta saluran cerna, dimana arsen akan mengikat gugus sulfhidril dalam protein jaringan. Hanya sebagian kecil dari arsen yang menembus blood-brain barrier. Arsen anorganik yang masuk ke tubuh wanita hamil dapat menembus sawar darah plasenta dan masuk ke tubuh janin. Di dalam tulang arsen menggantikan posisi fosfor, sehingga arsen dapat dideteksi didalam tulang setelah bertahun-tahun kemudian.

Sebagian arsen dibuang melalui urin dalam bentuk methylated arsenic dan sebagian lainnya ditimbun dalam kulit, kuku dan rambut.

D. MEKANISME TOKSISITAS ARSEN

Mekanisme masuknya Arsen dalam tubuh manusia umumnya melalui oral, dari makanan atau minuman. Arsen yang tertelan secara cepat akan diserap lambung dan usus halus kemudian masuk ke peredaran darah. Arsen adalah racun yang bekerja dalam sel secara umum. Hal tersebut terjadi apabila arsen terikat dengan gugus sulfhidril (-SH), terutama yang berada dalam enzim. Salah satu sistem enzim tersebut ialah kompleks piruvat dehidrogenase yang berfungsi untuk oksidasi dekarboksilasi piruvat menjadi Co-A dan CO₂ sebelum masuk dalam siklus TOA (tricarbocyclic acid). Dimana enzim tersebut terdiri dari beberapa enzim dan kofaktor. Reaksi tersebut melibatkan transasetilasi yang mengikat koenzim A (CoA-SH) untuk membentuk asetil CoA dan dihidrolipoil-enzim, yang mengandung dua gugus sulfhidril. Kelompok sulfhidril sangat berperan mengikat arsen trivial yang membentuk kelat. Kelat dari dihidrofil-arsenat dapat menghambat reoksidasi akibatnya bila arsen terikat dengan sistem enzim, akan terjadi akumulasi asam piruvat dalam darah. Arsenat juga memisahkan oksigen dan fosforilasi pada fase kedua glikolisis dengan jalan berkompetisi dengan fosfat dalam reaksi gliseraldehid dehidrogenase. Dengan adanya pengikatan arsenat reaksi gliseraldehid-3-fosfat, akibatnya tidak terjadi proses enzimatik hidrolisis menjadi 3-fosfoglisarat dan tidak memproduksi ATP. Selama Arsen bergabung dengan gugus -SH, maupun gugus -SH yang terdapat dalam enzim, maka akan banyak ikatan As dalam hati yang terikat sebagai enzim metabolik. Karena adanya protein yang juga mengandung gugus -SH terikat dengan As, maka hal inilah yang menyebabkan As juga ditemukan dalam rambut, kuku dan tulang. Karena eratnya As bergabung dengan gugus -SH, maka arsen masih dapat terdeteksi dalam rambut dan tulang beberapa tahun kemudian.

E. TOKSISITAS ARSEN PADA TUBUH MANUSIA

Bahan kimia arsen dapat masuk ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan makanan, saluran pernafasan serta melalui kulit walaupun jumlahnya sangat terbatas. Arsen yang masuk ke dalam peredaran darah dapat ditimbun dalam organ seperti hati, ginjal, otot, tulang, kulit dan rambut.

Arsenik trioksid yang dapat disimpan di kuku dan rambut dapat mempengaruhi enzim yang berperan dalam rantai respirasi, metabolisme glutathione ataupun enzim yang berperan dalam proses perbaikan DNA yang rusak. Didalam tubuh arsenik bervalensi lima dapat berubah menjadi arsenik bervalensi tiga. Hasil metabolisme dari arsenik bervalensi 3 adalah asam dimetil arsenik dan asam mono metil arsenik yang keduanya dapat diekskresi melalui urine.

Gas arsin terbentuk dari reaksi antara hidrogen dan arsen yang merupakan hasil samping dari proses refining (pemurnian logam) non besi (non ferrous metal). Keracunan gas arsin biasanya bersifat akut dengan gejala mual, muntah, nafas pendek dan sakit kepala. Jika

paparan terus berlanjut dapat menimbulkan gejala hemoglobinuria dan anemia, gagal ginjal dan ikterus (gangguan hati).

Pada keracunan arsen, menurut **Casarett dan Doull's** menentukan indikator biologi dari keracunan arsen merupakan hal yang sangat penting. Arsen mempunyai waktu paruh yang singkat (hanya beberapa hari), sehingga dapat ditemukan dalam darah hanya pada saat terjadinya paparan akut. Untuk paparan kronis dari arsen tidak lazim dilakukan penilaian (Klaassen, 1986)

Paparan akut arsen dapat terjadi jika tertelan (ingestion) sejumlah 100 mg As. Gejala yang dapat timbul akibat paparan akut adalah mual, muntah, nyeri perut, diarrhae, kedinginan, kram otot serta oedeme dibagian muka (facial). Paparan dengan dosis besar dapat menyebabkan koma dan kolapsnya peredaran darah. Dosis fatal adalah jika sebanyak 120 mg arsenik trioksid masuk ke dalam tubuh.

Pada paparan kronis arsen secara klinis yang nampak adalah peripheral neuropathy (rasa kesemutan atau mati rasa), lelah, hilangnya refleks, anemia, gangguan jantung, gangguan hati, gangguan ginjal, keratosis telapak tangan maupun kaki, hiperpigmentasi kulit dan dermatitis. Gejala khusus yang dapat terjadi akibat terpapar debu yang mengandung arsen adalah nyeri tenggorokan serta batuk yang dapat mengeluarkan darah akibat terjadinya iritasi. Seperti halnya akibat terpapar asap rokok, terpapar arsen secara menahun dapat menyebabkan terjadinya kanker paru.

F. PEMERIKSAAN LABORATORIUM

1. Pemeriksaan darah

Pada keracunan akut maupun kronis dapat terjadinya anemia, leukopenia, hiperbilirubinemia.

2. Pemeriksaan urine

Pada keracunan akut dan kronis dapat terjadi proteinuria, hemoglobinuria maupun hematuria.

3. Pemeriksaan fungsi hati

Pada keracunan akut dan kronis dapat terjadi peningkatan enzim transaminase serta bilirubin.

4. Pemeriksaan jantung

Pada keracunan akut dan kronis dapat terjadi gangguan ritme maupun konduksi jantung.

5. Pemeriksaan kadar arsen dalam tubuh

Arsenik dalam urin merupakan indikator keracunan arsen yang terbaik bagi pekerja yang terpapar arsen. Normal kadar arsen dalam urin kurang dari 50 ug/L. Kadar As dalam rambut juga merupakan indikator yang cukup baik untuk menilai terjadinya

keracunan arsen. Normal kadar As dalam rambut kurang dari 1 ug/kg. Walaupun tidak ada pemeriksaan biokimia yang spesifik untuk melihat terjadinya keracunan arsen, namun gejala klinik akibat keracunan As yang dihubungkan dengan mempertimbangkan sejarah paparan merupakan hal yang cukup penting. Perlu diingat bahwa seseorang dengan kelainan laboratorium seperti di atas tidak selalu disebabkan oleh terpapar atau keracunan arsen. Banyak faktor lain yang dapat menyebabkan terjadinya kelainan seperti diatas.

G. DAMPAK TOKSISITAS ARSEN

Sekitar 90% arsen yang diabsorpsi dalam tubuh manusia tersimpan dalam hati, ginjal, dinding saluran pencernaan, limfa, dan paru. Juga tersimpan dalam jumlah sedikit dalam rambut dan kuku serta dapat terdeteksi dalam waktu lama, yaitu beberapa tahun setelah keracunan kronis. Di dalam darah yang normal ditemukan arsen 0,2µg/100ml. sedangkan pada kondisi keracunan ditemukan 10µg/100ml dan pada orang yang mati keracunan arsen ditemukan 60-90µg/100ml.

H. PENCEGAHAN TERJADINYA PAPARAN ARSEN

Usaha pencegahan terjadinya paparan arsen secara umum adalah pemakaian alat proteksi diri bagi semua individu yang mempunyai potensi terpapar oleh arsen. Alat proteksi diri tersebut misalnya masker yang memadai, sarung tangan yang memadai, tutup kepala, kacamata khusus. Usaha pencegahan lain adalah melakukan surveillance medis, yaitu pemeriksaan kesehatan dan laboratorium yang dilakukan secara rutin setiap tahun. Jika keadaan dianggap luar biasa, dapat dilakukan biomonitoring arsen di dalam urin.

Usaha pencegahan agar lingkungan kerja terbebas dari kadar arsen yang berlebihan adalah perlu dilakukan pemeriksaan kualitas udara (indoor), terutama kadar arsen dalam partikel debu. Pemeriksaan kualitas udara tersebut setidaknya dilakukan setiap tiga bulan. Ventilasi tempat kerja harus baik, agar sirkulasi udara dapat lancar.

I. Cara Menanggulangi Toksisitas Arsen

Pada kasus keracunan akut, perlu segera diberi obat suportif dan simptomatik untuk mencegah terjadinya gejala neuropati. Pengobatan dengan pemberian khelasi spesifik yaitu BAL. Standar pemberian BAL ialah 3-5 mg/kg yang diberikan setiap 4 jam selama 2 hari diikuti dengan pemberian 2,5 mg/kg setiap 6 jam selama 2 hari. Kemudian diberikan 2,5 mg/kg setiap 12 jam selama 1 minggu. Pada periode pemberian pengobatan tersebut, sampel urine diperiksa setiap 24 jam dan pengobatan segera dihentikan jika konsentrasi

As dalam urine kurang dari 50 mg. pengobatan BAL sering diikuti dengan pemberian penisilamin yang diberikan setiap 6 jam selama 5 hari.

Pada kasus keracunan kronis, tindakan pertama yang dilakukan ialah menghilangkan sumber kontaminasi dari penderita. Pengobatan sistem kelasi tidak dianjurkan, karena As mempunyai waktu paruh biologik hanya sekitar 3-4 hari.

J. METODE PEMERIKSAAN ARSEN

Metode yang digunakan dalam pemeriksaan Arsen adalah Kolorimetri

a) Alat dan bahan

- Erlenmeyer
- Arsenic Tes
- Mortar dan pastel
- Timbangan analitik
- Gelas ukur
- beaker glass 80 ml
- botol sample 5 ml
- Sampel (udang mentah)
- Aquades

b) Prosedur kerja

1. Sediakan alat dan bahan
2. Potong aluminium foil secukupnya letakkan di atas timbangan analitik
3. Timbang sampel sebanyak 10 g
4. Pindahkan sampel ke beaker glass 80 mL
5. Masukkan kedalam mortar lalu tumbuk dengan pestle sampai terlihat sedikit halus
6. Pindahkan ke beaker glass
7. Tambahkan aquades sampai 50 mL
8. Setelah itu tuangkan ke botol sampel sebanyak 5 mL
9. Pindahkan ke botol arsenic tes
10. Tambahkan reagen arsen 1 dan 2 masing-masing 1 sendok, lalu homogenkan
11. Masukkan kertas arsenic test, kertas tidak boleh kontak langsung dengan air sampel
12. Tunggu hingga 20 menit
13. Amati perubahannya dan bandingkan dengan indikator perubahan warna

c) Hasil : Kadar arsen pada udang mentah adalah 0. Karena kertas arsenic tes tidak mengalami perubahan warna

d) Analisis hasil

Berdasarkan hasil yang didapatkan tidak ada kadar Arsen yang terkandung pada sampel, itu artinya sampel udang tersebut masih bisa di konsumsi karena tidak melebihi ambang batas pencemaran berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM) nomor HK.00.06.1.52.4011 untuk kategori udang dan krustasea lainnya adalah 1,0 mg/kg. Berarti kawasan perairan atau laut tempat berkembangnya udang belum terpapar pencemaran yang mengandung kadar arsen tinggi.

Pengendalian Mutu Pemantapan mutu laboratorium kesehatan mencakup semua kegiatan yang ditujukan untuk menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan laboratorium pada saat yang tepat, dari spesimen yang tepat dan diinterpretasikan secara tepat berdasarkan rujukan data yang tepat pula. Kegunaan dari pemantapan mutu oleh laboratorium adalah :

Meningkatkan kualitas laboratorium.

- a. Meningkatkan moral dalam kehidupan karyawan laboratorium (kemantapan pemberian hasil, kesadaran akan usaha yang telah dilakukan, serta *prestice* yang diberikan kepadanya).
- b. Merupakan suatu metoda pengawasan (kontrol) yang efektif dilihat dari fungsi manajerial.
- c. Melakukan pembuktian apabila terdapat hasil yang meragukan oleh pengguna (konsumen) laboratorium karena sering tidak sesuai dengangejala klinis.
- d. Penghematan biaya karena berkurangnya kesalahan hasil sehingga tidak perlu ada pengulangan .

Secara umum pemantapan mutu terbagi atas, yaitu Pemantapan mutu eksternal (PME) dan Pemantapan mutu Internal (PMI).

1. Pemantapan Mutu Eksternal adalah Suatu sistem pengontrolan yang dilaksanakan oleh pihak lain yang umumnya adalah pihak pengawas pemerintah atau profesi.
2. Pemantapan mutu internal adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh setiap laboratorium secara terus menerus agar diperoleh hasil pemeriksaan yang tepat dan teliti.

Kegiatan ini mencakup tiga tahapan proses yaitu : pra analitik, analitik, dan pasca analitik.(Riffani, 2010)

- a. Tahap pra analitik : kesalahan pra analitik terjadi sebelum spesimen diperiksa untuk analitik oleh sebuah metode atau instrumen tertentu. Mencakup persiapan pasien , pengambilan dan penampungan spesimen, penanganan spesimen, pengiriman spesimen, pengolahan dan penyimpanan spesimen.

- b. Tahap analitikk : Kesalahan terjadi selama proses pengukuran dan disebabkan kesalahan acak atau kesalahan sistematis mencakup pemeliharaan dan kalibrasi alat, uji kualitas reagen, uji ketepatan dan ketelitian
- c. Tahap pasca analitik : kesalahan pasca analitik terjadi setelah pengambilan sampel dan proses pengukuran dan mencakup kesalahan seperti kesalahan penulisan, yang meliputi perhitungan, cara menilai, Ketata usahaan Penanganan informasi (Kahar, 2005).

Berikut dipaparkan beberapa parameter umum yang ditentukan dalam pelaksanaan validasi metode analisis :

1. Uji Presisi

Presisi adalah derajat keterulangan suatu set hasil uji diantara hasil-hasil itu sendiri, dengan tujuan mengetahui kesalahan akibat operator. Presisi diterapkan pada pengukuran berulang yang menunjukkan hasil pengukuran individual didistribusikan di sekitar nilai rata-rata dengan mengabaikan letak nilai rata-rata terhadap nilai yang sebenarnya.

a. Uji Keberulangan atau repeatability

Adalah kesamaan antara pengukuran yang diulang dari contoh dengan analisis, peralatan dan laboratorium yang sama pada waktu yang berdekatan. Penetapan ripibilitas dapat dilakukan dengan analisis berulang suatu contoh oleh seorang analis, kemudian ditentukan nilai standar deviasi dan koefisien variasi contoh.

b. Uji Reproduksiabilitas

Adalah kesamaan antara pengulangan pengukuran yang dikerjakan pada kondisi berbeda dalam hal laboratorium, analisis, peralatan dan waktu. Penetapan dapat dilakukan dengan mengikuti uji banding antar laboratorium.

2. Akurasi

Akurasi merupakan kedekatan antara nilai hasil uji suatu metode analisis dengan nilai sebenarnya. Akurasi sering dinyatakan sebagai presentase perolehan kembali. Uji akurasi dilakukan untuk mengetahui adanya gangguan matriks didalam conyoh uji terhadap pereaksi yang digunakan atau untuk mengetahui ketepatan metode yang digunakan. Secara umum dikenal tiga cara yang digunakan untuk evaluasi akurasi metode uji, yaitu :

- a. Uji Pungut ulang (*Recovery Test*) : Uji dilakukan dengan mengerjakan pengujian diatas contoh yang diperkaya dengan jumlah kuantitatif lat yang akan ditetapkan.
- b. Uji Relatif terhadap akurasi metode baku
Uji dilakukan dengan mengerjakan pengujian paralel atas contoh uji yang sama menggunakan metode uji yang sedang dievaluasi dan metode uji lain yang telah dikui sebagai metode baku.
- c. Uji terhadap Standard Reference Material (SRM)

Uji terhadap SRN untuk mengevaluasi akurasi suatu metode uji dilakukan dengan menguji SRM dengan menggunakan metode uji yang sedang dievaluasi

3. Sensitivitas

Sensitivitas dari suatu prosedur analisis merupakan perubahan besaran respon magnitude sebagai akibat perubahan konsentrasi. Dalam sebuah fungsi kalibrasi sensitivitas dinyatakan sebagai kemiringan kurva (Slope). Semakin besar nilai kemiringan kurva maka dikatakan metode semakin sensitif.

Tujuan pemantapan mutu internal adalah:

- 1) Pemantapan dan penyempurnaan metode pemeriksaan dengan mempertimbangkan aspek analitik dan klinis.
- 2) Mempertinggi kesiagaan tenaga, sehingga pengeluaran hasil yang salah tidak terjadi dan perbaikan kesalahan dapat dilakukan segera.
- 3) Memastikan bahwa semua proses mulai dari persiapan pasien, pengambilan, pengiriman, penyimpanan dan pengolahan spesimen sampai dengan pencatatan dan pelaporan telah dilakukan dengan benar. Mendeteksi kesalahan dan mengetahui sumbernya.

Membantu perbaikan pelayanan penderita melalui peningkatan mutu pemeriksaan laboratorium (Depkes, 2004).

- 4) Setiap tindakan dapat merupakan sumber kesalahan dalam pemeriksaan laborat. Dalam melakukan pemantapan mutu terhadap suatu pemeriksaan tidak begitu saja dapat diinterpretasi hanya dari hasil pemeriksaan tetapi harus dinilai secara keseluruhan pemantapan dalam proses pemeriksaan laborat yang meliputi berbagai jenis aktifitas dalam laboratorium seperti;

- a. persiapan
- b. pengambilan bahan atau sampel ,
- c. penanganan sampel,
- d. pengiriman sampel,
- e. pemeriksaan
- f. penilaian atau interpretasi hasil,
- g. pencatatan hasil.

Ketepatan dan Ketelitian

1. Akurasi atau Ketepatan

Akurasi adalah kemampuan untuk mengukur dengan tepat sesuai dengan nilai yang benar (true value). Secara kuantitatif, akurasi diekspresikan dalam ukuran inakurasi. Inakurasi alat dapat diukur dengan melakukan pengukuran terhadap bahan kontrol yang telah diketahui kadarnya. Perbedaan antara hasil pengukuran yang dilakukan dengan nilai target bahan kontrol merupakan indikator inakurasi pemeriksaan yang dilakukan.

Perbedaan ini disebut sebagai bias dan dinyatakan dalam satuan persen. Semakin kecil bias, semakin tinggi akurasi pemeriksaan.

Akurasi (ketepatan) atau inakurasi (ketidak tepatan) dipakai untuk menilai adanya kesalahan acak, sistematis dan kedua-duanya (total). Nilai akurasi menunjukkan kedekatan hasil terhadap nilai sebenarnya yang telah ditentukan oleh metode standar. Akurasi dapat dinilai dari hasil pemeriksaan bahan kontrol dan dihitung sebagai nilai biasnya (d%) seperti berikut: $d \% = (x - NA) / NA$

Keterangan :

x = hasil pemeriksaan bahan kontrol

NA= nilai aktual atau sebenarnya dari bahan kontrol

Nilai d % dapat positif atau negatif. Nilai positif menunjukkan nilai yang lebih tinggi dari seharusnya. Nilai negatif menunjukkan nilai yang lebih rendah dari seharusnya (Depkes, 2004):

2. Presisi (ketelitian)

Presisi adalah kemampuan untuk memberikan hasil yang sama pada setiap pengulangan pemeriksaan. Secara kuantitatif, presisi disajikan dalam bentuk impresisi yang diekspresikan dalam ukuran koefisien variasi. Presisi terkait dengan reproduksibilitas suatu pemeriksaan. Dalam praktek sehari-hari kadang-kadang di minta suatu pemeriksaan diulang karena tidak yakin dengan hasilnya. Memiliki presisi yang tinggi, pengulangan pemeriksaan terhadap sampel yang sama akan memberikan hasil yang tidak jauh berbeda (Sukorini dkk, 2010). Presisi biasanya dinyatakan dalam nilai koefisien variasi (% KV atau % CV). Presisi (ketelitian) sering dinyatakan juga sebagai impresisi (ketidaktelitian) semakin kecil % KV semakin teliti sistem atau metode tersebut dan sebaliknya. (Westgard, 2010). Makin besar SD dan CV makin tidak teliti. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ketelitian yaitu : alat, metode pemeriksaan, volume atau kadar bahan yang diperiksa, waktu pengulangan dan tenaga pemeriksa (Musyaffa, 2010).

3. Jenis Kesalahan

Kontrol kualitas bertujuan mendeteksi kesalahan analitik di laboratorium. Kesalahan analitik di laboratorium terdiri atas dua jenis yaitu kesalahan acak (random error) dan kesalahan sistematis (systematic error). Kesalahan acak menandakan tingkat presisi, sementara kesalahan sistematis menandakan tingkat akurasi suatu metode atau alat (Sukorini dkk, 2010).

a. Kesalahan acak

Kesalahan acak dalam analitik seringkali disebabkan oleh hal berikut: instrumen yang tidak stabil, variasi temperatur, variasi reagen dan kalibrasi, variasi teknik

prosedur pemeriksaan (pipetasi, pencampuran, waktu inkubasi), variasi operator/analisis.

a. Kesalahan sistematik

Kesalahan sistematik umumnya disebabkan hal-hal sebagai berikut: spesifitas reagen atau metode pemeriksaan rendah (mutu reagen), blanko sampel dan blanko reagen kurang tepat (kurva kalibrasi tidak linear), mutu reagen kalibrasi kurang baik, alat bantu (pipet) yang kurang akurat, panjang gelombang yang dipakai, salah cara melarutkan reagen.

Dasar Statistik yang berkaitan dengan Ketepatan dan Ketelitian

1. Rerata

Rerata adalah hasil pembagian jumlah nilai hasil pemeriksaan dengan jumlah pemeriksaan yang dilakukan. Rerata biasa digunakan sebagai nilai target dari kontrol kualitas yang dilakukan, rumus rerata adalah

$$\bar{X} = \sum x / n$$

Keterangan :

$\bar{X}$: rerata

$\sum x$: jumlah nilai hasil pemeriksaan

n : jumlah pemeriksaan yang dilakukan

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) merekomendasikan setiap laboratorium untuk menetapkan sendiri nilai target suatu bahan kontrol dengan melakukan setidaknya 20 kali pengulangan (Biorad dalam Sukorini, 2010).

2. Rentang

Rentang merupakan penyebaran antara nilai pemeriksaan terendah hingga tertinggi. Rentang memberikan batas nilai bawah dan batas atas suatu rangkaian data. Dengan demikian rentang dapat menjadi ukuran paling sederhana untuk melihat menilai sebaran data, namun rentang tidak dapat menggambarkan bentuk distribusi atau tendensi terpusat data yang kita miliki.

3. Simpangan baku

Simpangan baku mengkuantifikasikan derajat penyebaran data hasil pemeriksaan disekitar rerata. Simpangan baku dapat digunakan untuk menggambarkan bentuk distribusi data yang kita miliki. Dengan menggunakan nilai rerata sebagai nilai target dan simpangan baku sebagai ukuran sebaran data, kita akan menentukan rentang nilai yang dapat diterima dalam praktek kontrol kualitas.

4. Distribusi Gaussian

Dalam menterjemahkan sebaran data pada praktek kontrol kualitas, harus dipahami adanya bentuk distribusi normal atau Distribusi Gaussian (Gaussian distribution).

Bentuk distribusi Gaussian menggambarkan bahwa ketika melakukan pengulangan pemeriksaan, tidak akan diperoleh hasil yang sama persis, hasilnya berbeda-beda dan sifatnya acak. Data hasil pengulangan tersebut apabila dikelompokkan akan membentuk suatu kurva simetris dengan satu puncak yang nilai tengahnya merupakan rerata dari data tersebut.

5. Koefisiensi Variasi

Koefisien variasi merupakan suatu ukuran variabilitas yang bersifat relative dan dinyatakan dalam persen. Koefisien variasi dikenal juga sebagai related standard deviation yang dapat dihitung dari nilai rerata dan simpangan baku. Koefisien variasi menggambarkan perbedaan hasil yang diperoleh setiap kali dilakukan pengulangan pemeriksaan pada sampel yang sama. Koefisien variasi juga dapat digunakan untuk membandingkan kinerja metode, alat maupun pemeriksaan yang berbeda (Sukorini dkk, 2010).

6. Grafik Levey-jennings

Grafik Levey-jennings merupakan penyempurnaan dari grafik kontrol Shewhart yang diperkenalkan Walter A. Shewhart pada tahun 1931. Pada kedua jenis grafik kontrol tersebut akan ditemui nilai rerata dan batas-batas nilai yang dapat diterima. Batas-batas tersebut menggunakan kelipatan dari simpangan baku.

- a. Aturan 12S: Aturan ini merupakan aturan peringatan. Aturan ini menyatakan bahwa apabila satu nilai kontrol berada diluar batas 2SD, tapi dalam batas 3SD, harus mulai waspada. Ini merupakan peringatan akan kemungkinan adanya masalah pada instrument atau malfungsi metode.
- b. Aturan 13s: Aturan ini mendeteksi kesalahan acak. Satu saja nilai kontrol beradadi luar batas 3 SD, maka instrument harus dievaluasi dari adanya kesalahan acak.
- c. Aturan 22S: Aturan ini mendeteksi kesalahan sistematis. Kontrol dinyatakan keluar apabila dua nilai kontrol pada satu level berturut-turut diluar batas 2SD.
- d. Aturan R4S: Aturan ini hanya dapat digunakan apabila kita menggunakan dua level kontrol
- e. Aturan 41S: Aturan ini mendeteksi kesalahan sistematis. Aturan ini dapat digunakan pada satu level kontrol saja maupun pada lebih dari satu level kontrol.
- f. Aturan 10x: Aturan ini menyatakan bahwa apabila sepuluh nilai kontrol pada level yang sama maupun berbeda secara berturut-turut berada di satu sisi yang sama terhadap rerata

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Senyawa apa yang mengganggu pada pemeriksaan Arsen? Bagaimana cara mengatasinya?
2. Bagaimana reaksi yang terjadi bila senyawa H_2S mengganggu penetapan arsen?
3. Apa fungsi penambahan serbuk Zn? Mengapa ditambahkan paling akhir?
4. Gambarkan diagram alir pemeriksaan arsen !
5. Jelaskan fungsi setiap pereaksi yang ditambahkan !
6. Tuliskan reaksi yang terjadi pada analisis arsen !

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi arsen di topik satu agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik

Ringkasan

Arsen merupakan logam berat dengan valensi 3 atau 5, dan berwarna metal (steel-grey). Toksisitas senyawa arsenik dan sangat bervariasi. Bentuk organik tampaknya memiliki toksisitas yang lebih rendah daripada bentuk arsenik anorganik. Cara pencegahan paparan arsen dengan menggunakan alat proteksi diri dan melakukan surveillance medis.

Penilaian hasil analisis didasarkan pada ketentuan yang disepakati untuk komoditas (sampel) tertentu dan berdasarkan ketentuan regulasi yang berlaku pada lembaga tertentu. Contoh hasil analisis di atas tidak ada Arsen yang terkandung pada sampel, itu artinya sampel udang tersebut masih bisa di konsumsi karena tidak melebihi ambang batas pencemaran berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM) nomor HK.00.06.1.52.4011. untuk kategori udang dan krustasea lainnya adalah 1,0 mg/kg. Berarti kawasan perairan atau laut tempat berkembangnya udang belum terpapar pencemaran yang mengandung kadar arsen tinggi.

Pengendalian Mutu Pemantapan mutu laboratorium kesehatan mencakup semua kegiatan yang ditujukan untuk menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan laboratorium pada saat yang tepat, dari spesimen yang tepat dan diinterpretasikan secara tepat berdasarkan rujukan data yang tepat pula.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Arsen diketahui mampu menyebabkan keracunan karena kehadirannya di dalam air minum dan spesies arsen yang paling umum adalah arsenat $\{HAsO_4^{2+}\}$, bilangan oksidasi arsen pada senyawa tersebut adalah :
 - A. 2
 - B. 3
 - C. 4
 - D. 5
 - E. 6
2. Pada keracunan arsen menurut Casarett dan Doull's (1986), menentukan indikator biologi dari keracunan arsen merupakan hal yang sangat penting karena:
 - A. Arsen mempunyai waktu paruh yang singkat
 - B. Paparan arsen bersifat kronis.
 - C. Paparan akut arsen dapat terjadi jika tertelan (ingestion) sejumlah 10 mg As
 - D. Paparan kronis arsen dapat terjadi jika tertelan (ingestion) sejumlah 100 mg As
 - E. Arsen mempunyai waktu paruh yang lama
3. Rumus kimia arsin yang digunakan meracuni penumpang kereta api bawah tanah di Jepang memiliki rumus...
 - A. As_2O_3
 - B. AsH_3
 - C. AsI_3
 - D. H_3AsO_4
 - E. As_2O_3
4. Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia (Bpom) Nomor Hk.00.06.1.52.4011. Untuk Kategori Udang Dan Krustasea Nilai ambang batasnya adalah ...
 - A. 10 mg/Kg
 - B. 1,0 g/Kg
 - C. 10, ug/Kg
 - D. 1,0 mg/Kg
 - E. 10 g/Kg

5. Kesalahan acak dalam analitik seringkali disebabkan oleh hal berikut,KECUALI :
- A. Instrumen yang tidak stabil
 - B. Variasi temperatur
 - C. Variasi reagen dan kalibrasi
 - D. Variasi teknik prosedur pemeriksaan (pipetasi, pencampuran, waktu inkubasi)
 - E. Spesifitas reagen atau metode pemeriksaan rendah (mutu reagen)
6. Aturan 13s (Walter A. Shewhart) : Aturan ini mendeteksi kesalahan acak. Satu saja nilai kontrol beradadi luar batas 3 SD, maka tindakan atau kemungkinannya adalah ...
- A. Instrument harus dievaluasi dari adanya kesalahan acak.
 - B. Adanya masalah pada instrument atau malfungsi metode.
 - C. Kontrol dinyatakan keluar apabila dua nilai kontrol pada satu level berturut-turut diluar batas 2SD.
 - D. Dapat digunakan pada satu level kontrol saja maupun pada lebih dari satu level kontrol.
 - E. Sepuluh nilai kontrol pada level yang sama maupun berbeda secara berturut-turut berada di satu sisi yang sama terhadap rerata
7. Arsen direduksi menjadi arsen (III),direaksikan dengan hidrogen mejadi gas arsin (AsH_3) pada generator arsen , dilewatkan pada kapas timbal asetat. Perak dietildiokarbamat dimasukkan ke dalam tabung penampung dan bereaksi dengan gas arsin membentuk senyawa kompleks.Fungsi kapas timbal asetat pada prosedur ini adalah
- A. Menangkap gas arsin
 - B. Menahan uap air
 - C. Menghilangkan gangguan hidrogen sulfida
 - D. Menangkap iodium
 - E. Menghasilkan gas hidrogen
8. Sedangkan fungsi penambahan seng granul (serbuk) pada penetapan kadar arsen sesuai prosedur nomor 10 adalah
- A. Menangkap gas arsin
 - B. Menahan uap air
 - C. Menghilangkan gangguan hidrogen sulfida
 - D. Menangkap iodium
 - E. Menghasilkan gas hidrogen

Topik 2

Senyawa Timbal sebagai bahan toksik

A. DEFINISI TIMBAL

Timbal adalah logam berat yang terdapat secara alami di dalam kerak bumi dan tersebar ke alam dalam jumlah kecil melalui proses alami. Timbal yang ada di lingkungan lebih banyak dihasilkan oleh kegiatan manusia dibandingkan timbal yang berasal dari proses alami. Timbal pada tabel periodik unsur kimia termasuk dalam kelompok logam golongan IV-A. Timbal mempunyai nomor atom (NA) 82 dan berat atom (BA) 207,2 merupakan suatu logam berat berwarna kelabu kebiruan dengan titik leleh 327 °C dan titik didih 1.725 °C. Pada suhu 550-600 °C timbal menguap dan membentuk oksigen dalam udara lalu membentuk timbal oksida. Merupakan logam yang tahan terhadap peristiwa korosi atau karat, mempunyai kerapatan yang lebih besar dibandingkan logam-logam biasa, kecuali emas dan merkuri, merupakan logam yang lunak sehingga dapat dipotong dengan menggunakan pisau atau dengan tangan dan dapat dibentuk dengan mudah. Walaupun bersifat lunak dan lentur, timbal sangat rapuh dan mengkerut pada pendinginan, sulit larut dalam air dingin, air panas, dan air asam. Timbal dapat larut dalam asam nitrit, asam asetat, dan asam sulfat pekat (Palar, 2008).

Timbal di udara terutama berasal dari penggunaan bahan bakar bertimbal yang dalam pembakarannya melepaskan timbal oksida berbentuk debu atau partikulat yang dapat terhirup oleh manusia. Debu Timbal juga dapat mengkontaminasi tanah pertanian dan mencemari hasil pertanian yang dikonsumsi manusia. Penggunaan bahan bakar bertimbal melepaskan 95% timbal yang mencemari udara di negara berkembang. Pencemaran lingkungan yang mencapai titik kritis dan menimbulkan dampak yang sangat berat pada kesehatan manusia terutama anak balita.

Timbal yang terhirup atau tertelan akan beredar mengikuti aliran darah, diserap kembali di dalam ginjal dan otak, dan disimpan di dalam tulang dan gigi. Timbal yang terserap oleh anak, walaupun dalam jumlah kecil, dapat menyebabkan gangguan pada fase awal pertumbuhan fisik dan mental yang kemudian berakibat pada fungsi kecerdasan dan kemampuan akademik. Sistem syaraf dan pencernaan anak masih dalam tahap perkembangan, sehingga lebih rentan terhadap timbal yang terserap. Laporan Badan PBB untuk Anak (UNICEF) dan Badan PBB untuk Lingkungan Hidup (UNEP) yang mengacu pada hasil The Global Dimension of Lead Poisoning: An Initial Analysis memperkirakan pada tahun 1994 sebanyak 100% darah dari anak berumur di bawah 2 tahun mengandung Timbal yang melampaui ambang batas 100 mikrogram/l, dan menurut US Centre for Disease Control and

Prevention 80% darah dari anak 3-5 tahun melebihi ambang batas tersebut. Anak yang tinggal atau bermain di jalan raya sering menghirup timbal dari asap kendaraan yang menggunakan bahan bakar timbal. Timbal yang terserap oleh ibu hamil akan berakibat pada kematian janin dan kelahiran prematur, berat lahir rendah bahkan keguguran.

Timbal tidak dapat terurai secara biologis dan toksisitasnya tidak berubah sepanjang waktu. Anak dapat menyerap hingga 50% Timbal yang masuk ke dalam tubuh, sedangkan orang dewasa hanya menyerap 10-15%. Kadar Timbal 68 mikrogram/l dapat menyebabkan anak makin agresif, kurang konsentrasi, bahkan menyebabkan kanker. Hal ini diduga meningkatkan kasus infeksi saluran pernapasan atas (ISPA) anak-anak di Surabaya dan hal ini terbukti dari data Dinas Lingkungan Hidup Kota Surabaya tahun 2000. Berdasarkan data dari puskesmas di wilayah Surabaya diungkapkan dari seluruh penyakit yang didiagnosa terdapat 46,31 % penderita ISPA pada bayi berumur 0-28 hari, 47,39 % pada bayi berumur 28 hari – 1 tahun, dan 68,12 % diderita anak umur 1-4 tahun. Indikasi ini membuktikan bahwa pencemaran lingkungan telah mencapai titik kritis dan menimbulkan dampak yang sangat berat pada kesehatan manusia terutama anak balita.

Studi toksisitas menunjukkan bahwa kandungan timbal dalam darah sebanyak 100 mikrogram/l dianggap sebagai tingkat aktif (level action) berdampak pada gangguan perkembangan dan penyimpangan perilaku. Kandungan timbal 450 mikrogram/l membutuhkan perawatan segera dalam waktu 48 jam, lebih dari 700 mikrogram/l menyebabkan kondisi gawat secara medis (medical emergency), sedangkan di atas 1200 mikrogram/l bersifat sangat toksik dan dapat menimbulkan kematian pada anak.

Adapun kasus lain yang ditemukan di luar negeri yaitu sebanyak 24 anak, berusia sembilan bulan hingga 16 tahun, harus dirawat di rumah sakit karena keracunan timbal yang disebabkan oleh pabrik-pabrik baterai di desa mereka di China timur. Itu merupakan kasus terbaru dalam serangkaian kasus keracunan timbal dari pabrik baterai di China dalam beberapa tahun terakhir. Kantor berita China, Xinhua, Rabu (5/1) malam, mengatakan, pihak berwenang setempat telah menutup dua pabrik baterai di Kabupaten Huaining di Provinsi Anhui setelah uji laboratorium menemukan bahwa setidaknya 200 anak setempat memiliki kandungan timbal yang tinggi dalam darah mereka. Sebanyak 24 orang dari mereka bahkan harus dirawat di rumah sakit.

Xinhua melaporkan, pabrik-pabrik itu terletak tepat di seberang jalan rumah warga meskipun peraturan menetapkan bahwa pabrik baterai tidak boleh terdapat dalam radius 500 meter dari komunitas perumahan. Laporan itu tidak menyebutkan, kapan pabrik-pabrik itu mulai beroperasi, atau apa jenis baterai yang diproduksi pabrik-pabrik tersebut.

Laporan itu juga tidak menjelaskan bagaimana anak-anak itu terpapar, tetapi pabrik-pabrik baterai dapat mencemari udara dan tanah dengan emisinya. China merupakan produsen dan konsumen terbesar timbal di dunia, yang merupakan sebuah komponen kunci

dalam pembuatan baterai. Kasus-kasus baru keracunan timbal secara rutin mencuat di negeri itu, yang menegaskan tingginya tingkat polusi di desa-desa di China. "Anak saya sekarang sangat rewel dan gelisah. Dia banyak berteriak," lapor Xinhua yang mengutip Huang Dazhai, ayah seorang bocah berusia lima tahun yang memiliki kadar timbal 330,9 mikrogram dalam setiap liter darahnya. Dengan kandungan timbal 100 mikrogram per liter saja sudah cukup untuk merusak perkembangan otak pada anak-anak.

B. KARAKTERISTIK DAN SIFAT TIMBAL

Timbal (Pb) merupakan salah satu jenis logam berat yang sering juga disebut dengan istilah timah hitam. Timbal memiliki titik lebur yang rendah, mudah dibentuk, memiliki sifat kimia yang aktif sehingga biasa digunakan untuk melapisi logam agar tidak timbul perkaratan. Timbal adalah logam yang lunak berwarna abu-abu kebiruan mengkilat dan memiliki bilangan oksidasi +2 (Sunarya, 2007).



Gambar 1. Logam Timbal (Pb) (Temple, 2007)

Timbal mempunyai nomor atom 82 dengan berat atom 207,20. Titik leleh timbal adalah 1740 °C dan memiliki massa jenis 11,34 g/cm³ (Widowati, 2008). Palar (1994) mengungkapkan bahwa logam Pb pada suhu 500-600 °C dapat menguap

dan membentuk oksigen di udara dalam bentuk timbal oksida (PbO). Dibawah ini merupakan tabel yang menunjukkan beberapa sifat fisika yang dimiliki timbal.

Tabel 1. Sifat-sifat fisika Timbal (Pb)

Sifat Fisika Timbal	Keterangan
Nomor atom	82
Densitas (g/cm ³)	11,34
Titik lebur (°C)	327,46
Titik didih (°C)	1.749
Kalor peleburan (kJ/mol)	4,77

Kalor penguapan (kJ/mol)	179,5
Kapasitas pada 25°C (J/mol.K)	26,65
Konduktivitas termal pada 300K (W/m K)	35,5
Ekspansi termal 25°C (µm/ m K)	28,9
Kekerasan (skala Brinell=Mpa)	38,6

Timbal merupakan salah satu logam berat yang sangat berbahaya bagi makhluk hidup karena bersifat karsinogenik, dapat menyebabkan mutasi, terurai dalam jangka waktu lama dan toksisitasnya tidak berubah (Brass & Strauss, 1981). Pb dapat mencemari udara, air, tanah, tumbuhan, hewan, bahkan manusia. Masuknya Pb ke tubuh manusia dapat melalui makanan dari tumbuhan yang biasa dikonsumsi manusia seperti padi, teh dan sayur-sayuran. Logam Pb terdapat di perairan baik secara alamiah maupun sebagai dampak dari aktivitas manusia. Logam ini masuk ke perairan melalui pengkristalan Pb di udara dengan bantuan air hujan. Selain itu, proses korofikasi dari batuan mineral juga merupakan salah satu jalur masuknya sumber Pb ke perairan (Palar, 1994).

Timbal secara alami terdapat sebagai timbal sulfida, timbal karbonat, timbal sulfat dan timbal Klorofosfat (Faust & Aly, 1981). Kandungan Pb beberapa batuan kerak bumi sangat beragam. Batuan eruptif seperti granit dan riolit memiliki kandungan Pb kurang lebih 200 ppm. Timbal (Pb) merupakan logam yang bersifat neurotoksin yang dapat masuk dan terakumulasi dalam tubuh manusia ataupun hewan, sehingga bahayanya terhadap tubuh semakin meningkat (Kusnoputranto, 2006). Menurut Underwood dan Shuttle (1999), Pb biasanya dianggap sebagai racun yang bersifat akumulatif dan akumulasinya tergantung levelnya. Hal itu menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pada ternak jika terdapat pada jumlah di atas batas ambang. Lebih lanjut Underwood dan Shuttle (1999) mencantumkan batas ambang untuk ternak unggas dalam pakannya, yaitu: batas ambang normal sebesar 1 - 10 ppm, batas ambang tinggi sebesar 20 - 200 ppm dan batas ambang toksik sebesar lebih dari 200 ppm. Timbal (Pb) menurut Lu (1995) dapat diserap dari usus dengan sistem transport aktif. Transport aktif melibatkan *carrier* untuk memindahkan molekul melalui membran berdasarkan perbedaan kadar atau jika molekul tersebut merupakan ion. Pada saat terjadi perbedaan muatan transport, maka terjadi pengikatan dan membutuhkan energi untuk metabolisme (Rahde, 1991).

2.1.2. Toksisitas Logam Timbal

Berdasarkan toksisitasnya, logam berat digolongkan ke dalam tiga golongan, yaitu:

1. Hg, Cd, Pb, As, Cu dan Zn yang mempunyai sifat toksik yang tinggi,
2. Cr, Ni dan Co yang mempunyai sifat toksik menengah
3. Mn dan Fe yang mempunyai sifat toksik rendah (Connel and Miller, 1995)

Toksisitas logam berat sangat dipengaruhi oleh faktor fisika, kimia dan biologi lingkungan. Beberapa kasus kondisi lingkungan tersebut dapat mengubah laju absorpsi logam dan mengubah kondisi fisiologis yang mengakibatkan berbahayanya pengaruh logam. Akumulasi logam berat Pb pada tubuh manusia yang terjadi secara terus menerus dapat mengakibatkan anemia, kemandulan, penyakit ginjal, kerusakan syaraf dan kematian.

Timbal dalam bentuk anorganik dan organik memiliki toksitas yang sama pada manusia. Misalnya pada bentuk organik seperti tetraetil-timbal dan tetrametiltimbal (TEL dan TML). Timbal dalam tubuh dapat menghambat aktivitas kerja enzim. Namun yang paling berbahaya adalah toksitas timbal yang disebabkan oleh gangguan absorpsi kalsium Ca. Hal ini menyebabkan terjadinya penarikan deposit timbal dari tulang tersebut (Darmono, 2001).

Timbal adalah logam toksik yang bersifat kumulatif sehingga mekanisme toksitasnya dibedakan menurut beberapa organ yang dipengaruhi, yaitu sebagai berikut :

- a. Sistem hemopoetik: timbal akan menghambat sistem pembentukan hemoglobin sehingga menyebabkan anemia
- b. Sistem saraf pusat dan tepi: dapat menyebabkan gangguan ensefalopati dan gejala gangguan saraf perifer
- c. Sistem ginjal : dapat menyebabkan aminoasiduria, fosfaturia, glukosuria, nefropati, fibrosis dan atrofi glomerular
- d. Sistem gastro-intestinal: dapat menyebabkan kolik dan konstipasi
- e. Sistem kardiovaskular: menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler pembuluh darah
- f. Sistem reproduksi: dapat menyebabkan kematian janin pada wanita dan hipospermi dan teratospermi (Darmono, 2001).

Di perairan, timbal ditemukan dalam bentuk terlarut dan tersuspensi. Kelarutan timbal cukup rendah sehingga kadar timbal dalam air relatif sedikit. Bahan bakar yang mengandung timbal juga memberikan kontribusi yang berarti bagi keberadaan timbal dalam air (Effendi, 2003).

2.1.3. Siklus Biogeokimia Logam Berat

Biogeokimia adalah salah satu disiplin ilmu alam yang mempelajari tentang proses-proses kimia, fisika, geologi, dan biologi yang saling terkait yang membentuk komposisi dari lingkungan alam (yang masuk di dalam sini antara lain biosfer, hidrosfer, pedosfer, atmosfer, dan litosfer). Secara khusus, biogeokimia adalah studi tentang siklus dari unsur-unsur kimia, seperti karbon, nitrogen, air, fosfor, dll serta interaksi mereka dan penggabungan ke dalam makhluk hidup yang diangkut melalui sistem skala bumi biologis dalam ruang melalui waktu. Siklus biogeokimia merupakan suatu - siklus senyawa kimia yang mengalir dari komponen biotik dan abiotik dan kemudian kembali lagi ke komponen biotik, komponen abiotik ke biotik dan kembali lagi ke komponen abiotik. Siklus unsur-unsur

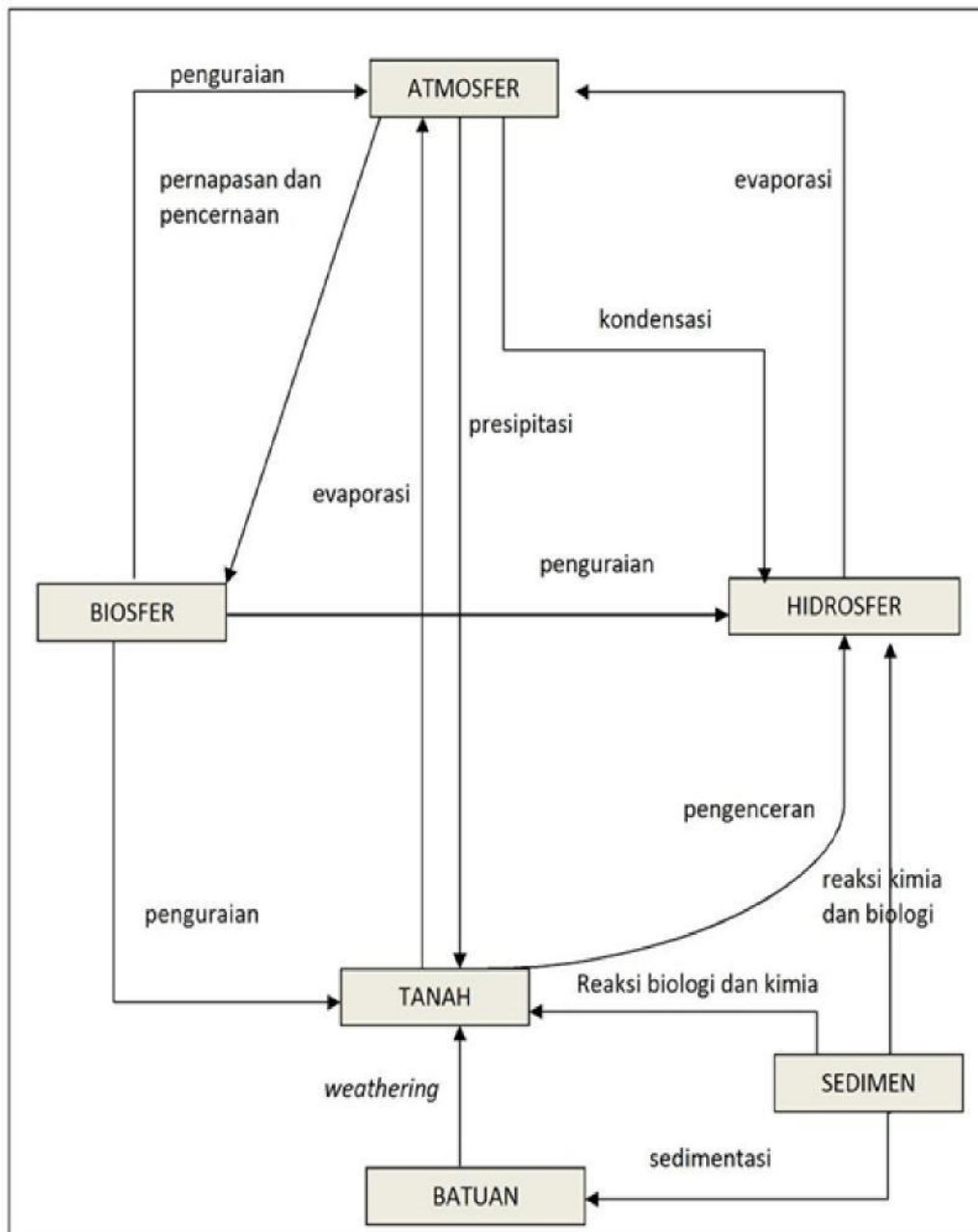
tersebut tidak hanya melalui organisme, tetapi juga melibatkan reaksi - reaksi kimia dalam lingkungan abiotik sehingga disebut siklus biogeokimia. Fungsi siklus biogeokimia adalah sebagai siklus materi yang mengembalikan semua unsur-unsur kimia yang sudah terpakai oleh semua yang ada di bumi baik komponen biotik maupun komponen abiotik, sehingga kelangsungan hidup di bumi dapat terjaga.

Menurut Huang (1987) ada tiga kompartemen yang terlihat dalam siklus biogeokimia logam dalam air, yaitu:

1. Kompartemen logam yang terlarut adalah ion logam bebas, kompleks, dan koloidal ikatan senyawanya.
2. Kompartemen partikel abiotik, terdiri atas bahan kimia organik dan anorganik.
3. Kompartemen partikel biotik, terdiri atas fitoplankton dan bakteri di dalam laut dangkal dan laut dalam, daerah pantai, serta muara sungai yang menempel pada tanaman.

Tingkah laku logam dalam lingkungan perairan sangat bergantung pada karakterisasi logam yang biasa disebut spesiasi logam. Spesiasi logam akan mempengaruhi hadirnya logam dalam jaringan biologi (*bioavailability*) dan toksisitasnya terhadap biota, transportasi dan mobilisasi, serta interaksi dengan tanah. Seperti mobilitas, bioavailabilitas, toksisitas, dan nasib dari lingkungan semuanya dikendalikan oleh transformasi biogeokimia (Borch *et al*, 2010).

Siklus Biogeokimia dari logam berat dapat dipercepat karena kegiatan dari manusia. Akumulasi dan pergerakan dari ion logam dapat mengubah kondisi lingkungan yang menimbulkan gangguan struktur dan fungsi dari ekosistem (Fedotov, 2008). Logam berat masuk melalui dua proses alamiah yaitu agroekosistem dan antropogenik. Proses antropogenik mencakup pemasukan logam berat melalui penggunaan pupuk, bahan organik, limbah industri, dan lain-lain. Proses tersebut memberikan kontribusi yang bervariasi dari logam berat ke dalam agroekosistem. Beberapa tanah telah ditemukan memiliki beberapa kandungan logam berat yang merupakan racun bagi tanaman dan tumbuhan liar, jumlahnya sangat tinggi karena elemen tersebut merupakan elemen utama (Krishnamurti *et al*, 1995).



Gambar 2. Daur Biogeokimia Logam Berat dalam Lingkungan (Borch, 2010)

Timbal (Pb) Pada Tanaman

Kerusakan karena pencemaran dapat terjadi karena adanya akumulasi bahan toksik dalam tubuh tumbuhan, perubahan pH, peningkatan atau penurunan aktivitas enzim, rendahnya kandungan asam askorbat di daun, tertekannya fotosintesis, peningkatan respirasi, produksi bahan kering rendah, perubahan permeabilitas, terganggunya keseimbangan air dan penurunan kesuburannya dalam waktu yang lama. Gangguan metabolisme berkembang menjadi kerusakan kronis dengan konsekuensi tak beraturan. Tumbuhan akan berkurang produktivitasnya dan kualitas hasilnya juga rendah (Sitompul dan

Guritno, 1995).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pencemaran mengakibatkan menurunnya pertumbuhan dan produksi tanaman serta diikuti dengan gejala yang tampak (*visible symptoms*). Kerusakan tanaman karena pencemaran berawal dari tingkat biokimia (gangguan proses fotosintesis, respirasi, serta biosintesis protein dan lemak), selanjutnya tingkat ultrastruktural (disorganisasi sel membran), kemudian tingkat sel (dinding sel, mesofil, pecahnya inti sel) dan diakhiri dengan terlihatnya gejala pada jaringan daun seperti klorosis dan nekrosis (Malhotra and Khan, 1984 dalam Treshow, 1989).

Tanaman yang tumbuh didaerah dengan tingkat pencemaran tinggi dapat mengalami berbagai gangguan pertumbuhan serta rawan akan berbagai penyakit, antara lain klorosis, nekrosis, dan bintik hitam. Partikulat yang terdeposisi di permukaan tanaman dapat menghambat proses fotosintesis (Fatoba and Emem, 2008). Menurut Gothberg (2008), tingginya kandungan Pb pada jaringan tumbuhan menyebabkan berkurangnya kadar klorofil daun sehingga proses fotosintesis terganggu, selanjutnya berakibat pada berkurangnya hasil produksi dari suatu tumbuhan.

Tanaman mampu mengabsorpsi Pb sehingga dapat berperan dalam membersihkan dari polusi. Namun demikian, keefektifan tanaman dalam menyerap polutan sampai batas tertentu akan semakin berkurang dengan peningkatan konsentrasi polutan. Pada suatu batas ketahanan masing-masing jenis, tanaman juga menampilkan gejala kerusakan akibat polusi. Dampak lanjutannya adalah terganggunya fungsi tanaman dalam lingkungan. Selain itu, kerusakan tanaman akibat terpapar Pb juga menyebabkan pertumbuhan dan penampilan tanaman yang tidak optimal, berupa terjadinya nekrosis, klorosis dan terhambatnya pertumbuhan tanaman. Kondisi tersebut menyebabkan penampilan tanaman yang tidak estetis. Kemampuan tanaman mereduksi Pb sangat bervariasi menurut jenisnya (Kurnia dkk., 2004).

Menurut Treshow *et al.* (1989), pertumbuhan tanaman terhambat karena terganggunya proses fotosintesis akibat kerusakan jaringan daun. Hal tersebut ditunjang oleh penelitian Warsita (1994) yang menunjukkan bahwa pencemaran udara menyebabkan penurunan kandungan klorofil-a dan klorofil-b tanaman. Penurunan tersebut disebabkan zat pencemar merusak jaringan polisade dan bunga karang yang merupakan jaringan yang banyak mengandung kloroplas.

Masuknya partikel timbal ke dalam jaringan daun sangat dipengaruhi oleh ukuran dan jumlah dari stomata. Semakin besar ukuran dan semakin banyak jumlah stomatanya maka semakin besar pula penyerapan timbal yang masuk ke dalam daun. Meskipun mekanisme masuknya timbal ke dalam jaringan daun berlangsung secara pasif, tetapi ini didukung pula oleh bagian yang ada di dalam tanaman dan daun yang merupakan bagian yang paling kaya akan unsur-unsur kimia (Widagdo, 2005). Dengan demikian kemungkinan akumulasi timbal

didalam jaringan daun akan lebih besar. Timbal ini akan terakumulasi didalam jaringan *polisade* (jaringan pagar). Celah stomata mempunyai panjang sekitar 10 pm dan lebar antara 2 -7 pm. Oleh karena ukuran Pb yang demikian kecil, yaitu kurang dari 4 pm dan rerata 0,2 pm maka partikel akan masuk ke dalam daun lewat celah stomata serta menetap dalam jaringan daun dan menumpuk di antara celah sel jaringan pagar/*polisade* dan atau jaringan bunga karang/*spongi tissue* (Smith, 1981).

Tumbuhan dapat tercemar logam berat melalui penyerapan akar dari tanah atau melalui stomata daun dari udara. Faktor yang dapat mempengaruhi kadar timbal dalam tumbuhan yaitu jangka waktu kontak tumbuhan dengan timbal, kadar timbal dalam perairan, morfologi dan fisiologi serta jenis tumbuhan. Dua jalan masuknya timbal ke dalam tumbuhan yaitu melalui akar dan daun. Timbal setelah masuk ke dalam tumbuhan akan diikat oleh membran sel, mitokondria dan kloroplas, sehingga menyebabkan kerusakan fisik. Kerusakan tersembunyi dapat berupa penurunan penyerapan air, pertumbuhan yang lambat, atau pembukaan stomata yang tidak sempurna (Hutagalung, 1982).

Kemampuan tanaman menyerap Pb beragam antar jenis tanaman. Menurut Dahlan (2004), Damar (*Agathis alba*), Mahoni (*Swetenia macrophylla*), Jamuju (*Podocarpus imbricatus*), Pala (*Mirystica fragrans*), Asam landi (*pithecelobium dulce*), dan Johal (*Cassia siamea*) memiliki kemampuan sedang sampai tinggi dalam menurunkan Pb di udara. Glodogan tiang (*Polyalthea longifolia*), Keben (*baringtonia asiatica*), dan Tanjung (*Mimusops elengi*) memiliki kemampuan menyerap Pb rendah namun tidak peka terhadap pencemaran udara, sedangkan Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea*) dan Kesumba (*Bixa orellana*) memiliki kemampuan rendah dan tidak tahan terhadap pencemaran udara

Beberapa Komoditas atau Sumber Pb yang Banyak Terjadi Kontak

Sumber Timbal yang banyak terjadi kontak dengan manusia diantaranya:

1. Udara

Berdasarkan penelitian telah diketahui bahwa pencemaran oleh timbal terbesar berada di udara, yaitu sekitar 85%. Pencemaran tersebut terutama dari sisa gas buang dari pembakaran bahan bakar kendaraan yang belum bebas dari timbal. Kota Jakarta, selama ini dikenal sebagai salah satu kota di Asia yang memiliki tingkat polusi udara paling buruk (Kompas, 2014). Timbal di udara terutama berasal dari penggunaan bahan bakar bertimbal yang dalam pembakarannya melepaskan timbal oksida berbentuk debu/partikulat yang dapat terhirup oleh manusia. Mobil berbahan bakar yang mengandung timbal melepaskan 95 persen timbal yang mencemari udara di Negara berkembang. Partikel timbal yang terdapat dalam asap kendaraan bermotor berukuran 0,02–1,00 μm , dengan masa tinggal di udara mencapai 4–40 hari. Partikel yang sangat kecil ini memungkinkan timbal terhirup dan masuk sampai ke

paru paru. Timbal dalam bentuk gas akan masuk ke dalam tubuh dan dapat terikat di dalam darah. Batas normal timbal dalam darah adalah 400 µg/l darah (Anonymous, 2001).

2. Sayuran

Sumber pencemaran timbal yang lain berasal dari berbagai komoditi sayuran yang ditanam di tepi jalan raya. Sayuran tersebut dapat terkontaminasi oleh timbal. Penelitian menunjukkan bahwa teh yang ditanam di dekat jalan raya yang padat akan lalu lintas mengandung timbal dengan melebihi ambang batas (Hikmah, 2004).

3. Air

Sumber utama adanya timbal di air berasal dari pembuangan limbah yang mengandung timbal. Salah satu industri yang dalam air limbahnya mengandung timbal adalah industri aki penyimpanan di mobil, di mana elektrodanya mengandung 93% timbal dalam bentuk timbal oksida (PbO₂). Public Health Service Amerika Serikat menetapkan bahwa sumber-sumber air untuk masyarakat tidak boleh mengandung timbal lebih dari 0,05 mg/L, sedangkan WHO menetapkan batas timbal di dalam air sebesar 0,1 mg/L. Dalam mengkontaminasi sumber air, hampir semua timbal terdapat dalam sedimen, dan sebagian lagi larut dalam air (Fardiaz, 2001). Timbal yang ada di dalam air dapat masuk ke dalam organisme di perairan, dan jika air tersebut merupakan sumber air konsumsi masyarakat maka timbal tersebut tentunya akan masuk ke dalam tubuh manusia. Baku mutu timbal di perairan berdasarkan PP No. 20 tahun 1990 adalah 0,1 mg/l. Pada analisa kandungan timbal dalam tumbuhan air didapatkan 13,0 mg/kg timbal pada pajanan 10 µg/l. Akar tumbuhan mengandung 2,5 kali lebih tinggi dari batang.

4. Di Tanah

Keberadaan timbal di dalam tanah dapat berasal dari emisi kendaraan bermotor, di mana partikel timbal yang terlepas ke udara, secara alami dengan adanya gaya gravitasi, maka timbal tersebut akan turun ke tanah. Kandungan timbal dalam tanah bervariasi misalnya karena kepadatan lalu lintas, jarak dari jalan raya dan kondisi transportasi. Kandungan timbal lebih banyak ditemukan pada permukaan tanah sampai beberapa cm di bawahnya.

Kandungan timbal di tanah yang belum diolah 6 – 20 ppm, dan pada tanah yang sudah diolah mencapai 300 ppm. Logam berat, seperti timbal, di dalam tanah ditemukan juga dalam bentuk ion. Logam yang tidak terikat dengan senyawa kompleks bersifat larut dan relatif tersedia bagi tanaman. Adanya senyawa organik di dalam tanah dapat mengikat logam menjadi senyawa kompleks sehingga dapat mengurangi bahaya akumulasi logam di dalam tanaman (Stevenson, 1982 dalam Shiela, 1994).

1. Dalam Bahan Pangan.

Bahan pangan yang dikonsumsi manusia juga mengandung timbal secara alami. Pada ikan dan binatang lain yang mengandung timbal 0,2-2,5 mg/kg, pada daging atau telur mengandung timbal sebesar 0-0,37 mg/kg, padi-padian mengandung timbal sebesar 0-1,39 mg/kg dan sayur-sayuran mengandung 0-1,3 mg/kg.

Bagi kebanyakan orang, sumber utama asupan timbal adalah makanan yang biasanya mengandung 100-300 mikrogram/hari. Makanan/minuman yang dikemas dalam kaleng, terutama yang bersifat asam, terbukti dari hasil penelitian kadar Pb dalam kemasan kaleng sebesar $637,64 \pm 94,25$ ppm dan kadar Pb yang bermigrasi ke dalam makanan/minuman bisa mencapai $0,171 \pm 0,02$ ppm. Makanan yang mengandung kadar timbal yang tinggi adalah dari kelompok makanan kaleng, seperti terlihat pada daftar di bawah .

Daftar kelompok makanan yang tercemar timbal :

- a. Makanan kaleng : 50 - 100 mikrogram/kg.
- b. Hasil ternak (hati, ginjal) : 150 mikrogram/kg.
- c. Daging : 50 mikrogram/kg.
- d. Ikan : 170 mikrogram/kg.
- e. Udang dan kerang : >250 mikrogram/kg.
- f. Susu sapi, buah dan sayuran : 15 - 20 mikrogram/kg.

6. Perhiasan dan Kosmetik

Kematian seorang anak setelah menelan sebuah liontin yang mengandung timbal tanpa disengaja pada tahun 2004 mendorong CLEARCorps, sebuah kelompok advokasi nirlaba yang berbasis di AS, untuk melakukan skrining nasional di tingkat ritel terhadap kadar timbal pada perhiasan anak-anak. Lebih dari 8% barang yang diuji mengandung setidaknya satu komponen dengan kandungan timbal yang lebih tinggi dari standar yang diterima, dengan beberapa barang yang mengandung timbal lebih dari 60%.

Kemungkinan lainnya terjadi kontaminasi timbal di Indonesia berasal dari kosmetik, perhiasan dan cat. Celak merupakan salah satu kosmetik untuk mata, hampir sama dengan maskara, banyak digunakan oleh wanita di Timur Tengah. Sebuah penelitian oleh Ashban et al (2004) menemukan bahwa banyak celak dari Saudi Arabia terkontaminasi dengan timbal.

7. Pakaian

Penarikan jutaan kepingan risleting akibat tingkat timbal yang berlebihan pada 2005 menciptakan mimpi buruk logistik dan finansial bagi perusahaan-perusahaan yang terlibat. Bahkan, tinta pada barang-barang yang di cetak (silk screened) dapat mengandung tingkat timbal yang sangat tinggi.

8. Plastik

Dari kotak makan hingga boneka film aksi (action figure), roda kereta mainan hingga bak mandi, produk-produk plastik yang mengandung timbal sebagai zat pewarna atau pengatur keseimbangan berbahaya bagi anak-anak. Kontaminasi timbal dalam mainan di Indonesia juga telah digolongkan berbahaya. Kebanyakan mainan yang terkontaminasi dengan timbal merupakan mainan import dari Cina (Qamariah 2007).

9. Keramik & Peralatan Makan

Kekhawatiran tentang timbal dalam produk konsumen melampaui mainan dan perhiasan hingga ke potensi bahaya pada mangkok keramik, kendi, dan peralatan makan lainnya. Masalah utamanya adalah glasir, yang membuat produk berkilau dan memiliki warna yang beragam. Jika glasir tidak disegel pada suhu yang cukup tinggi, timbal dapat terlepas dari barang tersebut sehingga berpotensi pada kadar timbal yang tinggi dalam darah. Baru-baru ini, puluhan ribu mangkok ditarik kembali di Jepang karena glasirnya mengandung timbal yang berlebihan, dan membuat sakit setidaknya satu orang. Badan pangan dan Obat AS (U.S. Food and Drug Administration - FDA) mengatur penjualan peralatan makan yang mengandung timbal.

Interaksi Pb yang Masuk ke dalam Tubuh

Pb dipercaya berinteraksi secara kovalen dengan ion fosfat tertier pada asam-asam nukleat. Efek keracunan Pb dihasilkan dari interaksi Pb dengan gugus sulfidril dan ligan-ligan yang lain pada enzim-enzim dan makromolekul yang lain. Organ target utama Pb adalah sistem hematopoetik, sistem saraf pusat, sistem saraf tepi, dan ginjal. Timbal dapat masuk kedalam tubuh manusia melalui pernafasan, pemaparan maupun saluran pencernaan. Lebih kurang 90 % partikel timbal dalam asap atau debu halus di udara dihisap melalui saluran pernafasan. Penyerapan di usus mencapai 5 – 15% pada orang dewasa. Pada anak-anak lebih tinggi yaitu 40% dan akan menjadi lebih tinggi lagi apabila si anak kekurangan kalsium, zat besi dan zinc dalam tubuhnya. Yang lebih mengkhawatirkan adalah efeknya terhadap kecerdasan (IQ) anak – anak, sehingga menurunkan prestasi belajar mereka, walaupun kadar timbal di dalam darah mereka tidak dianggap toksik.

Pengaruh Pb terhadap eritrosit banyak diamati oleh karena afinitas eritrosit terhadap Pb sangat tinggi. Eritrosit mengikat 99% Pb dalam darah. Pb ini menimbulkan destabilitas membran sel, menurunkan fluiditas membran dan meningkatkan kecepatan hemolisis. Pb dianggap sebagai agen hemolitik seperti juga tembaga dan air raksa, menyebabkan penghancuran eritrosit melalui pembentukan peroksida-peroksida lipid dalam membran sel.

Pb pada gasoline (bensin) memiliki dampak negatif terhadap lingkungan hidup termasuk kepada kesehatan manusia, salah satunya yaitu penyebab potensi terhadap peningkatan akumulasi kandungan Pb dalam darah. Efek hematotoksitas Pb adalah menghambat aktifitas Enzim-aminolevulinat dehydrogenase (-aminolevulinic acid dehydrogenase = -ALAD) dalam eritroblas sumsum tulang dan eritrosit pada sintesis heme.

Gejala dari dampak keterpaparan timbal secara akut maupun kronis secara visual akan muncul, diantaranya:

1. Keracunan Akut

Keracunan timbal akut jarang terjadi. Keracunan timbal akut secara tidak sengaja yang pernah terjadi adalah karena timbal asetat. Gejala keracunan akut mulai timbul 30 menit setelah meminum racun. Berat ringannya gejala yang timbul tergantung pada dosisnya. Keterpaparan timbal secara akut melalui udara yang terhirup akan menimbulkan gejala rasa lemah, lelah, gangguan tidur, sakit kepala, nyeri otot dan tulang, sembelit, nyeri perut, dan kehilangan nafsu makan sehingga dapat menyebabkan anemia.

2. Keracunan Subakut

Keracunan subakut terjadi bila seseorang berulang kali terpapar racun dalam dosis kecil, misalnya timbal asetat yang menyebabkan gejala-gejala pada sistem syaraf yang lebih menonjol, seperti rasa kebas, kaku otot, vertigo dan paralisis flaksid pada tungkai. Keadaan ini kemudian akan diikuti dengan kejang-kejang dan koma. Gejala umum meliputi penampilan yang gelisah, lemas dan depresi. Penderita sering mengalami gangguan system pencernaan, pengeluaran urin sangat sedikit, berwarna merah. Dosis fatal : 20 - 30 gram. Periode fatal : 1-3 hari.

3. Keracunan Kronik

Keracunan timbal dalam bentuk kronis lebih sering terjadi dibandingkan keracunan akut. Keracunan timbal kronis lebih sering dialami para pekerja yang terpapar timbal dalam bentuk garam pada berbagai industri, karena itu keracunan ini dianggap sebagai penyakit industri. seperti penyusun huruf pada percetakan, pengatur komposisi media cetak, pembuat huruf mesin cetak, pabrik cat yang menggunakan timbal, petugas pemasang pipa gas. Bahaya dan resiko pekerjaan itu ditandai dengan TLV 0,15 mikrogram/m³ , atau 0,007 mikrogram/m³ bila sebagai aerosol. Keracunan kronis juga dapat terjadi pada orang yang minum air yang dialirkan melalui pipa timbal, juga pada orang yang mempunyai kebiasaan menyimpan Ghee (sejenis makanan di India) dalam bungkus timbal.

Dampak kronis dari keterpaparan timbal diawali dengan kelelahan, kelesuan, iritabilitas, dan gangguan gastrointestinal. Keterpaparan yang terus-menerus pada sistem saraf pusat menunjukkan gejala insomnia (susah tidur), bingung atau pikiran kacau, konsentrasi berkurang, dan gangguan ingatan. Beberapa gejala lain yang diakibatkan keterpaparan timbal secara kronis menurut Naria (2005), diantaranya adalah kehilangan libido, infertilitas pada laki-laki, gangguan menstruasi, serta aborsi spontan pada wanita. Selain itu, timbal juga dikenal sebagai penghambat sterilitas, keguguran, dan kematian janin.

Suksinil-KoA + Glisin dibantu oleh ALA sintetase → 3 – Aminolevulinat (tinggi dalam urin dan plasma) dibantu oleh 3-ALA dehidratase → Porfobilinogen → Uroporfirinogen III → Koproporfirinogen III (tinggi dalam urin) dibantu oleh Koproporfirinogen dekarboksilasi → Protoporfirin IX + Besi maka akan terakumulasi dalam eritrosit yang kemudian dibantu oleh Ferokelatase → Heme.

Pb menghambat sintesis heme melalui inhibisi aminolevulinat dehidratase (ALAD), ferokelatase, dan penggunaan koproporfirin. Ini akan menyebabkan akumulasi asam levulinat, koproporfirin dan protoporfirin IX serta Fe nonheme dalam eritrosit. Penghambatan sintesis heme ditunjukkan dengan terjadinya anemia. Pb juga menginhibisi enzim pirimidin-5'-nukleotidase yang dapat meningkatkan kerapuhan eritrosit. Indikasi tercemar oleh Pb terlihat dalam urin dengan adanya asam levulinat (ALA). Sistem saraf merupakan jaringan target penting toksisitas Pb, terutama bayi dan anak-anak yang sistem sarafnya masih berkembang. Paparan Pb tingkat rendah pada anak-anak memperlihatkan hiperaktivitas, menurunnya daya ingat dan gangguan penglihatan. Paparan Pb tingkat tinggi dapat menyebabkan ensefalopati pada anak-anak dan orang dewasa. Pb dapat merusak arteriol dan kapiler, sehingga menyebabkan edema serebral dan penurunan neuronal. Secara klinis kerusakan ini menyebabkan ataksia, koma dan kejang-kejang. Sistem lain yang dipengaruhi oleh Pb adalah sistem reproduksi. Paparan Pb dapat menyebabkan toksisitas pada sistem reproduksi wanita dan pria seperti terjadinya keguguran dan memburuknya keturunan.

Timbal (Plumbum) beracun baik dalam bentuk logam maupun garamnya. Garamnya yang beracun adalah : timbal karbonat (timbal putih); timbal tetraoksida (timbal merah); timbal monoksida; timbal sulfida; timbal asetat (merupakan penyebab keracunan yang paling sering terjadi). Ada beberapa bentuk keracunan timbal, yaitu keracunan akut, subakut dan kronis. Nilai ambang toksisitas timbal (total limit values atau TLV) adalah 0,2 miligram/m³.

Gejala gejala

Secara umum gejala keracunan timbal terlihat pada sistem pencernaan berupa muntah – muntah, nyeri kolik abdomen, rasa logam dan garis biru pada gusi, konstipasi kronis. Pada sistem saraf pusat berupa kelumpuhan (wrist drop, foot drop, biasanya terdapat pada pria

dewasa). Sistem sensoris hanya sedikit mengalami gangguan, sedangkan ensefalopati sering ditemukan pada anak-anak. Gejala keracunan ini pada sistem jantung dan peredaran darah berupa anemia, basofilia puntata, retikulosis, berkurangnya trombosit dan sel polimorfonuklear, hipertensi dan nefritis, artralgia (rasa nyeri pada sendi). Gejala pada bagian kandungan dan kebidanan berupa gangguan menstruasi, bahkan dapat terjadi abortus. Diagnosis dapat dilakukan melalui pemeriksaan urine (jumlah koproporfirin III meningkat). Pemeriksaan ini merupakan pemeriksaan yang paling dianjurkan sebagai screening test pada keracunan timbal. Kadar timbal dalam urin juga bisa membantu menegaskan diagnosis, ketika kadarnya diatas 0,2 mikrogram /liter, dianggap sudah cukup bermakna untuk diagnosis keracunan timbal. Pemeriksaan sinar-x pada anak-anak untuk melihat garis yang radio-opak pada metafisis tulang-tulang panjang bisa digunakan untuk menegaskan diagnosis keracunan timbal.

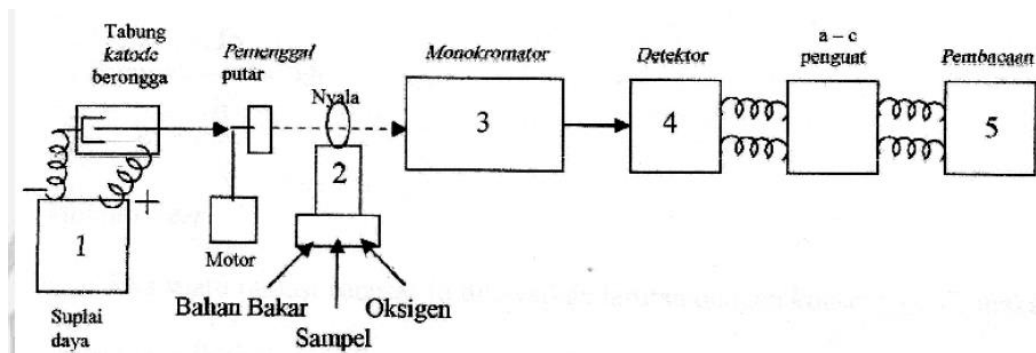
Analisis Logam Timbal dengan AAS

Analisis kadar logam berat seperti Pb dapat dilakukan dengan metode Atomic Absorbtion Spectrophotometer (AAS). Pemilihan metode spektrometri serapan atom karena mempunyai sensitifitas tinggi, mudah, murah, sederhana, cepat, dan cuplikan yang dibutuhkan sedikit (Supriyanto, dkk., 2007). Analisis menggunakan AAS juga lebih sensitif, spesifik untuk unsur yang ditentukan, dan dapat digunakan untuk penentuan kadar unsur yang konsentrasinya sangat kecil tanpa harus dipisahkan terlebih dahulu. AAS merupakan instrumen yang digunakan untuk menentukan kadar suatu unsur dalam senyawa berdasarkan serapan atomnya. Digunakan untuk analisis senyawa anorganik, atau logam (golongan alkali tanah unsur transisi). Spektrum yang diukur adalah pada daerah UV-Vis. Sampel yang diukur harus dalam bentuk larutan jernih.

1. Prinsip AAS

Metode AAS berprinsip pada absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Sampel Pb diatomisasi dengan nyala maupun dengan tungku. Pada atomisasi temperatur harus benar-benar terkendali dengan sangat hati-hati agar proses atomisasinya sempurna. Biasanya temperatur dinaikkan secara bertahap, untuk menguapkan dan sekaligus mendisosiasikan senyawa yang dianalisis.

Sumber radiasi harus bersifat sumber yang kontinyu. Analisis dengan AAS menganut hukum Lambert Beer untuk menyatakan hubungan antara absorbansi yang terukur dengan konsentrasi sampel. Komponen-komponen spektrofotometer serapan atom (AAS) dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2.2. Komponen-komponen Spektrofotometer Serapan Atom (AAS).

Keterangan gambar :

1. Suplai daya / sumber sinar
2. Sistem pengatoman
3. Monokromator
4. Deterktor
5. Sistem pembacaan

Keterangan :

1. Sumber sinar atau sistem, untuk menghasilkan sinar dengan energi tertentu dan sesuai dengan atom penyerap. Sumber radiasi harus dapat mengisikan radiasi dengan energi yang sama dengan absorpsi atom sampel.
2. Sistem pengatoman atom-atom bebas sebagai media absorsi atau sel serapan. Sistem pengatoman (atomizer) ada dua tipe pengatoman yaitu flame dan flameless.
3. Monokromator untuk keperluan menyeleksi berkas/spectra sesuai yang dikehendaki.
4. Detector atau system fotometri untuk mengukur intensitas sinar sebelum dan sesudah melewati medium serapan (medium serapan adalah atom bebas).
5. Sistem pembacaan, merupakan bagian yang menampilkan suatu angka atau gambar yang dapat di baca.

2. Preparasi Sampel

Pada Spektrofotometer Serapan Atom, sampel dibutuhkan dalam berntuk cair atau larutan. Sampel yang berbentuk solid harus dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Apabila sampel tidak larut, sampel dapat dihancurkan, dengan hotplate atau dengan microwave, menggunakan HNO_3 , H_2SO_4 atau HClO_4 . Cara alternatif yaitu sampel dapat diekstraksi dengan soxhlet (Harvey, 2000). Sampel cair dapat langsung diidentifikasi tanpa perlu melakukan preparasi sampel. Larutan kompleks seperti darah dapat dilarutkan dengan air ultra murni (ultrapure water), untuk mengurangi gangguan dalam analisis. Apabila konsentrasi

yang diuji diluar kapabilitas teknis, maka harus dilakukan pengekstrasian atau digunakan teknik lainnya (Settle,1997).

Preparasi sampel sangat menentukan keberhasilan dalam suatu analisis. Preparasi sampel yang dapat dilakukan yaitu dengan metode pengabuan kering (dry ashing) atau pengabuan basah (wet digestion). Pemilihan metode pengabuan tersebut tergantung pada sifat zat organik dalam sampel, sifat zat anorganik yang ada dalam bahan, logam berat yang akan dianalisa serta sensitivitas yang digunakan (Apriyanto, 1989).

3. Dekstruksi Basah

Dekstruksi basah yaitu pemanasan sampel (organik atau biologis) dengan adanya pengoksidasi kuat seperti asam-asam mineral baik tunggal maupun campuran. Jika dalam sampel dimasukkan zat pengoksidasi, lalu dipanaskan pada temperatur yang cukup tinggi dan jika pemanasan dilakukan secara kontinu pada waktu yang cukup lama, maka sampel akan teroksidasi sempurna sehingga meninggalkan berbagai elemen-elemen pada larutan asam dalam bentuk senyawa anorganik yang sesuai untuk dianalisis (Anderson, 1987).

Dekstruksi basah pada prinsipnya adalah penggunaan asam nitrat untuk mendekstruksi zat organik pada suhu rendah dengan maksud mengurangi kehilangan mineral akibat penguapan. Pada tahap selanjutnya, proses seringkali berlangsung sangat cepat akibat pengaruh asam perklorat atau hidrat peroksida. Dekstruksi basah pada umumnya digunakan untuk menganalisa arsen, tembaga, timah hitam, timah putih, dan seng.

Ada tiga macam cara kerja destruksi basah, yaitu :

1. Dekstruksi basah menggunakan HNO_3 dan HClO_4
2. Dekstruksi basah menggunakan HNO_3 , H_2SO_4 dan HClO_4
3. Dekstruksi basah menggunakan HNO_3 , H_2SO_4 dan H_2O_2

4. Dekstruksi Kering

Dekstruksi kering merupakan yang paling umum digunakan dengan cara membakar habis bagian organik dan meninggalkan residu anorganik sebagai abu untuk analisis lebih lanjut. Pada destruksi kering suhu pengabuan harus diperhatikan karena banyak elemen abu yang dapat menguap pada suhu tinggi, selain itu suhu pengabuan juga dapat menyebabkan dekomposisi senyawa tertentu. Oleh karena itu suhu pengabuan untuk setiap bahan berbeda-beda bergantung komponen yang ada dalam bahan tersebut.

Pengabuan kering dapat diterapkan pada hampir semua analisa mineral, kecuali merkuri dan arsen. Cara ini lebih membutuhkan sedikit ketelitian sehingga mampu menganalisa bahan lebih banyak dari pada pengabuan basah. (Apriyanto, 1989). Namun pada destruksi kering sering terjadi kehilangan unsur-unsur mikro tertentu karena suhu pemanasan yang tinggi, dapat juga terjadi reaksi antara unsur dengan wadah.

Menurut Sumardi (1981: 507), metode destruksi basah lebih baik dari pada cara kering karena tidak banyak bahan yang hilang dengan suhu pengabuan yang sangat tinggi. Hal ini merupakan salah satu faktor mengapa cara basah lebih sering digunakan oleh para peneliti. Di samping itu destruksi dengan cara basah biasanya dilakukan untuk memperbaiki cara kering yang biasanya memerlukan waktu yang lama.

5. Gangguan-gangguan pada Pemeriksaan

a. Gangguan kimia

Gangguan kimia terjadi apabila unsur yang dianalisis mengalami reaksi kimia dengan anion atau kation tertentu dengan senyawa yang refraktori, sehingga tidak semua analiti dapat teratomisasi. Untuk mengatasi gangguan ini dapat dilakukan dengan dua cara yaitu: 1) penggunaan suhu nyala yang lebih tinggi, 2) penambahan zat kimia lain yang dapat melepaskan kation atau anion pengganggu dari ikatannya dengan analit. Zat kimia lain yang ditambahkan disebut zat pembebas (Releasing Agent) atau zat pelindung (Protective Agent).

b. Gangguan Matrik

Gangguan ini terjadi apabila sampel mengandung banyak garam atau asam, atau bila pelarut yang digunakan tidak menggunakan pelarut zat standar, atau bila suhu nyala untuk larutan sampel dan standar berbeda. Gangguan ini dalam analisis kualitatif tidak terlalu bermasalah, tetapi sangat mengganggu dalam analisis kuantitatif. Untuk mengatasi gangguan ini dalam analisis kuantitatif dapat digunakan cara analisis penambahan standar (Standar Adisi).

c. Gangguan Ionisasi

Gangguan ionisasi terjadi bila suhu nyala api cukup tinggi sehingga mampu melepaskan elektron dari atom netral dan membentuk ion positif. Pembentukan ion ini mengurangi jumlah atom netral, sehingga isyarat absorpsi akan berkurang juga. Untuk mengatasi masalah ini dapat dilakukan dengan penambahan larutan unsur yang mudah diionkan atau atom yang lebih elektropositif dari atom yang dianalisis, misalnya Cs, Rb, K dan Na. penambahan ini dapat mencapai 100-2000 ppm.

d. Absorpsi Latar Belakang (Back Ground)

Absorpsi Latar Belakang (Back Ground) merupakan istilah yang digunakan untuk menunjukkan adanya berbagai pengaruh, yaitu dari absorpsi oleh nyala api, absorpsi molekular, dan penghamburan cahaya.

Prosedur Pemeriksaan

A. Pembuatan Larutan Standar Timbal (Pb)

a. Larutan Baku Timbal (Pb) 100 ppm

- 1) Pipet 1 mL larutan baku timbal (Pb) 1000 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL.
- 2) Tambahkan larutan pengencer (aquadest) sampai tanda batas.

b. Pembuatan Larutan Seri Standar Timbal (Pb)

- 1) Larutan baku Timbal (Pb) 10 ppm dipipet 0,0 mL; 0,5 mL; 1,0 mL; 2,0 mL; 5,0 mL; 10,0 mL; dan 20,0 mL.
- 2) Masing-masing larutan dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL.
- 3) Larutan ditambahkan larutan pengencer (aquadest) sampai tanda batas, hingga diperoleh kadar Timbal (Pb) 0,0 ppm; 0,05 ppm; 0,1 ppm; 0,2 ppm; 0,5 ppm; 1 ppm; dan 2 ppm.
- 4) Pengukuran larutan standar dengan Spektrofotometer Serapan Atom (AAS) pada panjang gelombang 283,3 nm.

B. Cara Pemeriksaan Sampel

- 1) Sampel dihomogenkan dengan cara di kocok.
- 2) Dimasukkan 100 mL sampel yang sudah dihomogenkan ke dalam gelas piala.
- 3) Tambahkan 5 mL asam nitrat (HNO_3) ke dalam gelas piala yang berisi sampel.
- 4) Sampel dipanaskan di pemanas listrik sampai larutan sampel hampir kering.
- 5) Sampel yang hampir kering tersebut, kemudian ditambahkan 50 mL aquadest.
- 6) Sampel disaring dengan kertas saring dan dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL
- 7) Tambahkan aquadest sampai tanda batas.
- 8) Pengukuran kadar sampel dengan Spektrofotometer Serapan Atom (AAS) pada panjang gelombang 283,3 nm.

C. Pembuatan kurva kalibrasi

- 1) Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan sebagai berikut :
- 2) Alat AAS diatur dan dioptimalkan sesuai dengan petunjuk penggunaan alat untuk pengujian logam.
- 3) Diukur masing-masing larutan kerja yang telah dibuat pada panjang gelombang 283,3 nm. Kemudian dicatat masing-masing serapannya (absorbans).
- 4) Dibuat kurva kalibrasi dari data-data yang telah diperoleh dan ditentukan persamaan garis lurusnya yaitu $Y = bX + a$

D. Cara Pengujian Sampel

Diukur masing-masing larutan uji yang telah dipreparasi pada panjang gelombang 283,3 nm dengan Spektrofotometer Serapan Atom (AAS) menggunakan lampu holow katoda Pb.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

- 1) Senyawa apa yang mengganggu pada pemeriksaan Timbal ? Bagaimana cara mengatasinya?
- 2) Bagaimana reaksi yang terjadi bila senyawa H_2S mengganggu penetapan Timbal ?
- 3) Apa fungsi penambahan serbuk Zn? Mengapa ditambahkan paling akhir?

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi timbal di topik dua agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik

Ringkasan

Menurut WHO (2010), timbal ataupun Pb merupakan logam berat berwarna abu-abu kebiruan. Timbal memiliki titik leleh yang rendah sehingga mudah dicetak dan dibentuk, dan juga dapat dikombinasi dengan logam lain membentuk logam paduan. Sumber logam Pb dapat ditemukan dan menetap di alam, tetapi bentuk kimianya dapat berubah akibat pengaruh fisika kimia, biologis atau akibat aktivitas manusia. Umumnya logam bermanfaat bagi manusia karena penggunaannya di bidang industri, pertanian atau kedokteran. Sebagian merupakan unsur penting karena dibutuhkan dalam berbagai fungsi biokimia atau faali. Dilain pihak, logam dapat berbahaya bagi kesehatan bila terdapat dalam makanan, air atau udara serta sangat berbahaya apabila ditemukan dalam konsentrasi yang tinggi dalam lingkungan, karena logam tersebut mempunyai sifat yang merusak jaringan tubuh mahluk hidup, diantaranya logam Pb (timbal).

Setelah mengetahui sifat-sifat logam Pb tersebut dapat mempermudah menganalisis Pb didalam darah dimana hal-hal yang harus diperhatikan saat menganalisis logam Pb ini seperti cara preparasi sampel yang baik sehingga didapatkan hasil yang bagus dan juga dapat mengetahui gangguan-gangguan pada pemeriksaan serta dapat mempelajari toksisitas Pb yang masuk ke dalam tubuh.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Logam berat merupakan senyawa yang berbahaya jika masuk kedalam tubuh, keracunan kronis terjadi jika dosis yang masuk dibawah dosis toksik tetapi jangka waktu yang lama akan berbahaya terhadap tulang karena akan menggantikan posisi kalsium. Logam berat apakah yang dimaksud?
 - A. Tembaga
 - B. Kadmium
 - C. Timbal
 - D. Krom
 - E. Raksa
2. Timbal merupakan logam non esensial yang berbahaya jika masuk kedalam tubuh, keracunan akut timbal organik akan menyerang organ yang vital menyebabkan kerusakan secara anatomis dan fisiologis. Organ apakah yang paling dipengaruhi?
 - A. Otak
 - B. Hati
 - C. Ginjal
 - D. Paru paru
 - E. Jantung
3. Pemeriksaan keracunan kronis logam dapat dilakukan terhadap berbagai sampel cairan tubuh meliputi darah, urin, dan berbagai organ, diperlukan metode yang spesifik dan sensitif untuk melakukan pemeriksaannya karena seringkali kadar yang terdapat dalam sampel masih dibawah dosis toksik. Metode apakah yang paling tepat untuk pemeriksaan tersebut?
 - A. Spektrofotometri ultra violet
 - B. Spektrofotometri visibel
 - C. Spektrofotometri absorpsi serapan atom
 - D. Spektrofotometer infra merah
 - E. Spektrofotometri fluoresensi
4. Senyawa logam berat timbal menyebabkan kerusakan beberapa organ, pada keracunan kronis timbal dilakukan pemeriksaan darah. Pemeriksaan apa yang sering dilakukan untuk skrining keracunan?
 - A. Bilirubin

- B. Nilai Hb
- C. Gula darah
- D. Kolesterol
- E. leukosit

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

1. D
2. A.
3. B.
4. D.
5. E.
6. A
7. B
8. A

Test Formatif 2

1. A
2. C
3. C
4. B

Daftar Pustaka

- Apriyanto, A. 1989. *Analisis Pangan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Bhattacharya P, Hasan MA, Sracek O, Smith E, Ahmed KM, Bromssen M, Haq SM, Naidu R. (2009). *Groundwater chemistry and arsenic mobilization in the Holocene flood plains in south-central Bangladesh*. Environ Geochem Health. 31(1):1-8.
- Chakraborti D, Rahman MM, Paul K, Sengupta MK, Chowdhury UK, Lodh D. (2002). *Arsenic Calamity in India and Bangladesh Sub-Continent-Whom to Blame*. Talanta. 58: 3-22.
- Chowdhury UK, Biswas BK, Chowdhury TR. (2000). *Groundwater Arsenic Contamination in Bangladesh and West Bengal, India*. Environ Hlth Persp. 108:393–7.
- Cohen SM, Arnold LL, Eldan M, Lewis AS, Beck BD. (2006). *Methylated arsenicals: the implication of metabolism and carcinogenicity studies in rodents to human risk assessment*. Crit Rev Toxicol. 36: 99-133.
- Devaraju T, Sujatha K, Rao SM and Rao KJ. (2010). *Impact Of Sodium Arsenate On Selected Enzymes And Histopathological Studies In Albino Mice*. Inter J Pharm and Bio Sci.1.
- Flora SJS, Bhadauria S, Kannan GM, Nutan Singh. (2007). *Arsenic Induced Oxidative Stress and the Role of Antioxidant Supplementation During Chelation: A review*. J Environ Biol. 28(2):333-347.
- Klaassen CD, Amdur MO, Doull J, editor. (1986). *Casarett and Doull's Toxicology: The Basics of Poisons*. Ed ke-3. New York: Macmillan Publishing Company.
- Mandal BK, Suzuki KT. (2002). *Arsenic round the world: a review*. Tal. 58: 201– 235.
- Mashkoo J, Khan A, Khan, Abbas RZ, Saleemi MK and Mahmood F. (2013). *Arsenic Induced Clinico-Hemato-Pathological Alterations In Broilers And Its Attenuation By Vitamin E And Selenium*. Pak J Agri Sci. 50(1): 131- 138.
- Nriagu JO, Bhattacharya P, Mukherjee AB, Bundschuh J, Zevenhoven R, Loeppert RH (2007) *Arsenic in soil and groundwater: an introduction*. In: Bhattacharya P, Mukherjee AB,

Bundschuh J, Zevenhoven R, Loeppert RH (eds) Arsenic in soil and groundwater environment: biogeochemical. Interactions, health effects and remediation. Tracemetals and other contaminants in the environment vol. 9 (Series Editor Nriagu, JO). Elsevier, Amsterdam, pp 1–58

Orloff K, Mistry K, Metcalf S. (2009). *Biomonitoring for environmental exposures to arsenic*. J Toxicol Environ Health B. 12: 509–524.

Ratnaike RN. (2003). *Acute and Chronic Arsenic Toxicity*. Post Med J.79: 391-396.

Supriyanto, C,dkk. (2007). *Analisis Cemaran Logam Berat Pb, Cu, Dan Cd Pada Ikan Air Tawar Dengan Metode Spektrometri Nyala Serapan Atom (SSA)*,(Online). Diakses di <http://jurnal.sttnbatan.ac.id/wpcontent/uploads/2008/06/13-supriyanto-hal-147-152.pdf>. 4/01/2012.

Silbergeld, E.K., J. Graham and L.B. Price. (2008). *Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health*. Annu Rev Public Health. 29:151-169.

Tolins M, Ruchirawat M, Landrigan P. (2014). *The Developmental Neurotoxicity of Arsenic: Cognitive and Behavioral Consequences of Early Life Exposure*. Ann of Gbl Hlth. 80:303-314.

Vishwajeet, Nath A, Yogesh BJ, Bharathi S, Sekar KV. (2014). *Acute Toxicity Study of Arsenic (Sodium Arsenite) on Liver Mice Model*. Inter J Comp Res in Biol Sci. 1 (1): 13-18.

Bab 7

ANALISIS SIANIDA DAN KARBON MONOKSIDA

Drs. Mohamad Firman Solihat, MT.

Muji Rahayu, S.S., M.Sc., Apt

Pendahuluan

Dalam bab ini kita akan membahas tentang sianida dan karbonmonoksida serta permasalahannya. Sianida adalah racun yang sangat mematikan dan digunakan sejak ribuan tahun yang lalu. Efek dari sianida ini sangat cepat dan dapat mengakibatkan kematian dalam jangka waktu beberapa menit. Sianida dalam tubuh manusia dapat menghambat pernafasan jaringan. Kadar sianida yang tinggi dalam darah dapat menyebabkan efek seperti jari tangan dan kaki lemah, susah berjalan dan pandangan buram. Sianida biasanya ditemukan tergabung dalam bahan kimia lain membentuk suatu senyawa sianida. Sebagai contoh senyawa sianida yang sederhana adalah hidrogen sianida. Hidrogen sianida disebut juga formonitril, sedang dalam bentuk cairan disebut asam hidrosianik.

Karbonmonoksida (CO) merupakan salah satu penyebab keracunan yang dapat berakibat fatal sampai kematian. Dalam bab ini kita akan dibahas toksokinetika CO dan patofisiologi terjadinya keracunan CO serta analisis laboratorium untuk menemukan penyebab. Agar mudah memahami bab ini, Saudara dapat membaca lagi bab 2 topik toksokinetika. Analisis laboratorium pada kasus keracunan CO juga memerlukan pemahaman tentang teknik sampling (bab 3) dan dasar metode analisis laboratorium (bab 4).

Pada topik 1 akan dibahas tentang sumber, mekanisme keracunan dan analisis laboratorium Sianida. Sedangkan pada topik 2 akan dibahas tentang sumber, mekanisme keracunan dan analisis laboratorium karbonmonoksida.

Tujuan dari pembahasan bab ini adalah agar Anda dapat memahami toksisitas sianida dan karbon monoksida (CO), mekanisme tosisitasnya serta analisis laboratoriumnya untuk menegakkan diagnosis maupun memantau hasil terapinya.

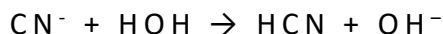
Topik 1

Sianida

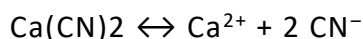
A. SIANIDA DAN KLASIFIKASINYA

Sianida adalah kelompok senyawa yang mengandung gugus siano ($\text{C}\equiv\text{N}$) yang terdapat dalam bentuk-bentuk berbeda (Kjeldsen 1999, Luque-Almagro et al. 2011). Sianida di alam dapat diklasifikasikan sebagai sianida bebas, sianida sederhana, kompleks sianida dan senyawa turunan sianida (Smith and Mudder 1991).

Sianida bebas adalah penentu ketoksikan senyawa sianida yang dapat didefinisikan sebagai bentuk molekul (HCN) dan ion (CN^-) dari sianida yang dibebaskan melalui proses pelarutan dan disosiasi senyawa sianida (Smith and Mudder 1991). Kedua spesies ini berada dalam kesetimbangan satu sama lain yang bergantung pada pH sehingga konsentrasi HCN dan CN^- dipengaruhi oleh pH (Kyle 1988). Pada pH dibawah 7, keseluruhan sianida berbentuk HCN sedangkan pada pH diatas 10,5, keseluruhan sianida berbentuk CN^- (Kyle 1988). Reaksi antara ion sianida dan air ditunjukkan oleh dalam reaksi di bawah ini (Smith and Mudder 1991):



Sianida sederhana dapat didefinisikan sebagai garam-garam anorganik sebagai hasil persenyawaan sianida dengan natrium, kalium, kalsium, dan magnesium (Kjeldsen 1999, Kyle 1988). Sianida sederhana dapat juga didefinisikan sebagai garam dari HCN yang terlarut dalam larutan menghasilkan kation alkali bebas dan anion sianida (Smith and Mudder 1991):



Bentuk sianida sederhana biasanya digunakan dalam leaching emas. Sianida sederhana dapat larut dalam air dan terionisasi secara cepat dan sempurna menghasilkan sianida bebas dan ion logam (Kyle 1988, Smith and Mudder 1991). Kompleks sianida termasuk kompleks dengan logam kadmium, tembaga, nikel, perak, dan seng (Smith and Mudder 1991). Kompleks sianida ketika terlarut menghasilkan HCN dalam jumlah yang sedikit atau bahkan tidak sama sekali (Kyle 1988) tergantung pada stabilitas kompleks tersebut. Kestabilan kompleks sianida bervariasi dan bergantung pada logam pusat (Smith and Mudder 1991). Kompleks lemah seperti kompleks dengan sianida dengan seng dan kadmium mudah terurai menjadi sianida bebas. Kompleks sedang lebih sulit terurai dibanding kompleks lemah dan meliputi kompleks sianida dengan tembaga, nikel, dan perak. Sedangkan kompleks kuat seperti kompleks sianida dengan emas, besi, dan kobalt cenderung sukar terurai menghasilkan sianida bebas.

B. TOKSISITAS SIANIDA

Yang tergolong senyawa turunan sianida adalah SCN⁻ (tiosianat), CNO⁻, dan NH₃ (amonia) yang biasanya dihasilkan dari sianidasi, degradasi alami dan pengolahan limbah mengandung sianida (Smith and Mudder 1991). Tingkat ketoksikan sianida ditentukan jenis, konsentrasi dan pengaruhnya terhadap organisme hidup (ATSDR 2006, Baxter and Cummings 2006, Smith and Mudder 1991). Ketoksikan sianida umumnya berhubungan dengan pembentukan kompleks dengan logam yang berperan sebagai kofaktor enzim. Sebagai contoh, sianida berikatan dengan enzim yang mengandung logam yang berperan dalam respirasi sehingga proses respirasi terganggu (Bishop 2000) Shifrin et al. didalam (Kjeldsen 1999). Enzim Fe(III) sitokrom-oksidadase adalah salah satu contoh enzim dalam proses respirasi yang dihambat oleh sianida (Morper 1999).

Sianida dalam bentuk hidrogen sianida (HCN) dapat menyebabkan kematian yang sangat cepat jika dihirup dalam konsentrasi tertentu. ASTDR (2006) mencatat bahwa konsentrasi HCN yang fatal bagi manusia jika dihirup selama 10 menit adalah 546 ppm. Beberapa gangguan pada sistem pernapasan, jantung, sistem pencernaan dan sistem peredaran darah berhubungan dengan paparan terhadap sianida pada manusia dalam konsentrasi tertentu telah terdeteksi (ATSDR 2006).

Selain itu, sistem saraf juga menjadi sasaran utama sianida. Paparan HCN secara lama dalam konsentrasi tinggi dapat menstimulasi sistem saraf pusat yang kemudian diikuti oleh depresi, kejangkejang, lumpuh dan kematian (ATSDR 2006). HCN dapat terserap cepat ke dalam tubuh dan terbawa hingga ke dalam plasma.

Garam sianida dan larutan sianida memiliki tingkat ketoksikan yang lebih rendah dibandingkan HCN karena masuk ke tubuh hanya melalui mulut (Armour et al. 1987). Namun demikian, ketoksikannya dapat dianggap sebanding dengan HCN karena mudah menghasilkan HCN.

Kompleks sianida kurang toksik bila dibandingkan dengan sianida bebas. Sianida sederhana secara cepat dapat membebaskan sianida bebas dan menjadi sangat toksik, sedangkan kompleks sianida yang stabil tidak bersifat toksik selama tidak terurai menjadi sianida bebas. Ketoksikan kompleks sianida bervariasi tergantung kemampuannya untuk membebaskan sianida bebas (Baxter and Cummings 2006, Luque-Almagro et al. 2011).

Kompleks sianida yang kuat seperti kompleks sianida dengan besi dapat dikatakan tidak toksik, tetapi dengan kehadiran radiasi ultraviolet dapat terurai menghasilkan sianida bebas yang toksik.

C. SUMBER SIANIDA (CN⁻)

Sianida dalam dosis rendah dapat ditemukan di alam dan ada pada setiap produk yang biasa dimakan atau digunakan.

1. Bahan alam yang biasa dimakan

Banyak bahan alam yang biasa kita makan mengandung sianida walaupun dalam jumlah yang sedikit diantaranya :

- a. Biji buah apel, mengandung senyawa amygladin yaitu senyawa Cyanogenic glycosides. Menurut ahli gizi Jack Norris dari AS, pada biji apel terdapat 1.000 mikrogram di dalam satu miligram sehingga kadar sianida masih jauh di bawah dosis yang bisa dikatakan beracun. Walaupun kita mengkonsumsi 10 buah apel beserta bijinya maka hati masih dapat menteralisir racunnya walaupun kemungkinan akan terjadi beberapa gejala keracunan senyawa sianida seperti pupil membesar, pusing, otot kejang, dll.
- b. Singkong dan kentang, menghasilkan sianida dalam bentuk senyawa Cyanogenic glycosides atau linamarin. Senyawa ini tidak beracun namun proses enzim dalam tubuh dapat membuat menjadi hidrogen sianida. Hidrogen sianida (HCN) merupakan bentuk racun sianida yang paling beracun. Umumnya, singkong dan kentang menghasilkan sianida dalam jumlah yang kecil.

Oleh karena itu, pastikan untuk mengolah suatu bahan makanan dengan tepat. Jika diolah dengan tepat, sianida yang masuk ke dalam tubuh masih dalam jumlah yang kecil dimana sianida akan diubah menjadi tiosianat yang lebih aman dan akan diekskresikan oleh tubuh. Tidak hanya biji buah apel, singkong dan kentang yang mengandung sianida masih banyak bahan alam yang mengandung senyawa tersebut seperti tomat, jamur, buah cherri, almond, ikan fugu, dll.

- a. Sianida yang ditemukan pada asap rokok dan asap kendaraan bermotor.
- b. Sianida yang digunakan pada industri terutama dalam pembuatan garam seperti natrium, kalium atau kalium sianida.

D. MEKANISME MASUKNYA SIANIDA KE DALAM TUBUH

1. Menghirup asap

Menghirup asap selama kebakaran industri atau rumah adalah sumber utama dari keracunan sianida di Amerika Serikat. Individu dengan menghirup asap dari kebakaran di ruang tertutup, kemudian pasien menunjukkan adanya jelaga di mulut atau hidung atau saluran napas, adanya perubahan status mental, atau hipotensi dapat diduga memiliki keracunan sianida yang signifikan (konsentrasi sianida darah > 40 mmol/L atau sekitar 1 mg/L). Banyak senyawa yang mengandung nitrogen dan karbon dapat menghasilkan gas hidrogen sianida (HCN) ketika dibakar. Beberapa senyawa alami (misalnya, wol, sutra) menghasilkan HCN sebagai produk pembakaran. Plastik rumah tangga (misalnya,

melamin di piring, akrilonitril dalam cangkir plastik), busa poliuretan di bantal furniture, dan banyak senyawa sintetis lainnya dapat menghasilkan konsentrasi mematikan dari sianida ketika dibakar di bawah kondisi yang sesuai dengan konsentrasi oksigen dan suhu.

2. Keracunan yang disengaja

Sianida konsumsi adalah cara yang biasa, namun efektif, bunuh diri. Kasus ini biasanya melibatkan perawatan kesehatan dan laboratorium pekerja yang memiliki akses ke garam sianida ditemukan di rumah sakit dan laboratorium penelitian.

3. Paparan industri

Sumber-sumber industri yang mengandung sianida tak terhitung jumlahnya. Sianida digunakan terutama dalam perdagangan logam, pertambangan, manufaktur perhiasan, pencelupan, fotografi, dan pertanian. Proses industri tertentu yang melibatkan sianida termasuk logam pembersihan, reklamasi, atau pengerasan; pengasapan; electroplating; dan pengolahan foto. Selain itu, industri menggunakan sianida dalam pembuatan plastik, sebagai perantara reaktif dalam sintesis kimia, dan pelarut (dalam bentuk nitril).

Paparan garam dan sianogen kadang-kadang menyebabkan keracunan; Namun, risiko yang signifikan untuk beberapa korban terjadi ketika produk ini datang ke dalam kontak dengan asam mineral karena adanya gas HCN. Sebuah insiden korban massal dapat berkembang pada kecelakaan industri di mana sianogen klorida kontak dengan air (misalnya, selama proses pemadaman kebakaran). Kontainer sianogen klorida dapat pecah atau meledak jika terkena panas tinggi atau tersimpan terlalu lama.

4. Paparan iatrogenik

Vasodilator natrium nitroprusside, bila digunakan dalam dosis tinggi atau selama periode hari, dapat menghasilkan konsentrasi beracun untuk sianida di darah. Pasien dengan cadangan tiosulfat rendah (misalnya pasien kurang gizi, atau pasien pasca operasi) berada pada peningkatan risiko untuk terkena keracunan sianida, bahkan meskipun diberikan pada dosis terapi. Pasien awalnya mengalami kebingungan dan kemudian dirawat unit perawatan intensif (ICU). Masalah dapat dihindari dengan pemberian hydroxocobalamin atau natrium tiosulfat.

5. Mengonsumsi Tanaman atau Makanan yang Mengandung Sianida

Konsumsi suplemen yang mengandung sianida memang jarang. Amygdalin (laetrile sintetis, juga dipasarkan sebagai vitamin B-17), yang berisi sianida, mendalilkan memiliki sifat antikanker karena aksi sianida pada sel kanker. Namun, laetrile tidak menunjukkan aktivitas antikanker dalam uji klinis pada manusia pada tahun 1980 dan pada akhirnya tidak dijual secara medis, meskipun dapat dibeli di Internet oleh pihak-pihak yang mengiklankan tanpa berbasis ilmiah. Amygdalin dapat ditemukan pada banyak buah-buahan, seperti aprikot dan pepaya; dalam kacang-kacangan mentah; dan pada tanaman

seperti kacang, semanggi, dan sorgum. Amygdalin dapat dihidrolisis menjadi hidrogen sianida, dan menelan jumlah besar makanan tersebut dapat mengakibatkan keracunan.

E. Bahaya bagi organ (sifat racunnya)

Setelah terpejan sianida, gejala yang paling cepat muncul adalah iritasi pada lidah dan membran mukus. Sianida dapat mudah menembus dinding sel baik jika masuk secara inhalasi, memakan atau menelan garam sianida atau senyawa sianogenik lainnya.

Pada keracunan HCN maka kadar sianida tertinggi adalah paru paru yang diikuti oleh hati kemudian otak. Sebaliknya, bila sianida masuk melalui sistem pencernaan maka kadar tertinggi adalah di hati. Dalam jumlah kecil, penggunaan sianida dalam tubuh bisa menyebabkan sakit kepala, pusing, muntah, mual, lemah, peningkatan denyut jantung, dan gelisah.

Saat masuk ke dalam tubuh, racun sianida menghambat kerja enzim cytochrome-x-oxidase yang terletak di mitokondria. Enzim ini berfungsi mengikat oksigen guna memenuhi kebutuhan pernapasan sel. Jika enzim tersebut tidak bekerja dengan baik karena dihambat oleh racun sianida, sel-sel tubuh akan mengalami kematian.

F. PENGURAIAN SIANIDA

Berikut ini adalah mekanisme degradasi alami sianida yang sering ditemukan dialam (Smith and Mudder 1991):

1. Kompleksasi Ford(1964) yang dikutip oleh Smith dan Mudder (1991) melaporkan bahwa 28 logam dapat membentuk 72 kemungkinan kompleks dengan sianida. Kompleks sianida biasanya adalah zat antara dalam pembentukan senyawa yang lebih stabil yang mengeluarkan sianida bebas dari lingkungan tetapi kompleks ini bisa juga terdisosiasi dan kembali menghasilkan sianida bebas.
2. Pengendapan kompleks sianida. Ion-ion tertentu seperti besi, tembaga, nikel, mangan, timbal, seng, kadmium, timah, dan perak dapat bereaksi dengan kompleks sianida seperti $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (ferosianida) dan $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ (ferisianida) membentuk garam yang sukar larut (mengendap).
3. Adsorpsi. Adsorpsi adalah salah satu mekanisme atenuasi yang dapat mengurangi konsentrasi senyawa dari larutan di dalam tanah. Alesii dan Fuller (1976) yang dikutip Smith dan Mudder (1991) mengemukakan bahwa tanah dengan kapasitas penukar anion yang tinggi dapat mengadsorpsi sianida.
4. Oksidasi menjadi sianat (CNO^-). HCN dapat dioksidasi menjadi diubah menjadi CNO^- yang kurang toksik bila dibandingkan dengan HCN.
5. Volatilisasi. Sianida dari larutan dapat lepas sebagai HCN yang adalah gas yang tidak berwarna. Gas HCN dapat terjadi karena hidrolisis CN^- .

6. Pembentukan SCN^- . Sianida dapat bereaksi dengan belerang membentuk tiosianat. Proses ini banyak terjadi pada saat leaching bijih emas yang banyak mengandung mineral sulfida.
7. Hidrolisis. Hidrolisis dapat mengeluarkan HCN sebagai NH_4COOH (ammonium format) atau HCOOH (asam format) menurut reaksi:

$$\text{HCN} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4\text{COOH}$$

$$\text{HCN} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_3 + \text{HCOOH}$$

Degradasi sianida secara alami dapat terjadi tetapi berlangsung lambat melalui proses termasuk volatilisasi, oksidasi, dekomposisi cahaya dan biodegradasi (Kyle 1988). Sianida dalam konsentrasi yang kecil dapat didegradasi oleh mikroba tertentu menjadi gas nitrogen. Contoh mikroba yang dapat mendegradasi sianida adalah *pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764 yang dapat menghidrolisis sianida menghasilkan asam format dan amonium (Luque-Almagro et al. 2011). Contoh lain adalah *pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 yang dapat mendegradasi sianida dengan menghasilkan amonium yang kemudian terinkorporasi dengan asam amino (Luque-Almagro et al. 2011).

G. ANALISIS SENYAWA SIANIDA SEBAGAI BAHAN TOKSIK

Dalam analisis sianida dikenal beberapa jenis analisis yang masing-masing mengukur kelompok sianida yang berbeda, yaitu :

- a. CN Free atau sianida bebas yang meliputi spesies CN^- dan HCN (Kyle 1988, Smith and Mudder 1991).
- b. Amenable CN atau sianida yang mudah bereaksi dengan klorida, yang meliputi CN total kecuali kompleks sianida-besi (Kjeldsen 1999).
- c. CN WAD (weak acid dissociable cyanide) yang meliputi CN bebas dan kompleks-kompleks sianida dengan tembaga, kadmium, nikel, seng, perak, dan logam-logam lain yang mudah terurai menjadi CN bebas dengan penambahan asam (Kjeldsen, 1999).
- d. CN total (sianida total) yang meliputi CN bebas, CN WAD, dan semua kompleks sianida kuat (memiliki tetapan disosiasi yang sangat rendah) seperti kompleks sianida dengan besi, emas, kobalt, dan platina (Kjeldsen, 1999).

Beberapa metode analisis sianida

Ada berbagai metode yang dikenal dalam analisis sianida yang spesifik menganalisis kelompok sianida tertentu. US EPA (United States of Environmental Protection Agency) dan ASTM (American Standard and Testing Materials) telah menetapkan metode

standard dalam analisis sianida. Smith dan Mudder (Smith and Mudder 1991) merangkum metode-metode tersebut sebagai:

- a. Metode pengukuran CN total dengan destilasi. Sampel yang mengandung sianida ditambahkan asam kuat ($\text{pH} < 2$) dan didestilasi (refluks) selama 1 jam sehingga sianida lepas sebagai HCN dan ditampung dengan larutan NaOH. Sianida yang tertampung kemudian diukur dengan titrimetri, kolorimetri atau elektroda ion selektif.
- b. Metode pengukuran Amenable CN. Metode ini umum digunakan disaat metode analisis CN WAD belum dikenal. Metode ini melibatkan pengukuran CN total sebelum dan sesudah klorinasi.
- c. Metode pengukuran CN WAD dengan destilasi. Metode ini melibatkan destilasi refluks selama satu jam untuk menguapkan sianida dari sampel yang telah diatur pH-nya menjadi pH 3 dengan larutan penyangga. Hasil HCN yang teruapkan diukur dengan titrimetri, kolorimetri atau dengan elektroda ion spesifik. Metode penentuan CN WAD dengan asam pikrat. Metode ini melibatkan pembentukan senyawa berwarna dengan asam pikrat dengan kehadiran nikel yang diikuti dengan pemanasan. menggunakan water bath selama 20 menit sebelum kemudian diukur dengan spektrofotometer sinar tampak
- d. Metode penentuan CN free dengan perak nitrat. Metode ini melibatkan titrasi sampel dengan larutan perak nitrat standard dengan menggunakan indikator dimetilaminobenzalrodamine.
- e. Metode penentuan CN free dengan elektroda ion selektif. Metode ini melibatkan pengukuran langsung sampel menggunakan voltameter yang kemudian dibandingkan dengan elektroda referensi.
- f. Metode ion kromatografi.
- g. Metode penentuan sianida reaktif dengan USEPA test. Metode ini melibatkan penempatan sampel dalam massa yang sedikit kedalam asam sulfat dan melewati nitrogen secara terus-menerus kedalam sampel selama 30 menit. HCN kemudian dikumpulkan dari gas nitrogen di dalam wadah berisi NaOH dan kemudian diukur.

Selain metode yang dijelaskan diatas, ada juga beberapa metode yang digunakan untuk menganalisis sianida yang melibatkan penggunaan instrumen. Contohnya analisis sianida dengan spektrofotometer berdasarkan pembentukan warna dengan menggunakan asam pikrat (Adjei and Ohta 1999, Avais et al. 2011), fenolftalin (Cacace et al. 2007), reagen klorin-o-tolidin dan asam barbiturat-piridin (Gümüs et al. 2000), analisis sianida dengan mengukur radioaktivitas dari isotop sianida tertentu (Aronstein et al. 1994), dan analisis sianida dengan menggunakan ion kromatografi dengan detektor elektro kimia (Barclay et al. 1998).

Metode lain yang sekarang ini dikembangkan oleh Skalar adalah analisis CN total dan CN WAD secara otomatis menggunakan instrumen Skalar San+ system yang dikembangkan berdasarkan metode Kelada-01. Metode Kelada-01 (Kelada, 1999) telah dipatenkan dan melibatkan penggunaan radiasi UV dan destilasi. Radiasi UV dengan frekuensi rendah digunakan untuk menguraikan kompleks sianida tanpa menguraikan tiosianat yang umumnya mengganggu dalam analisis sianida. Selanjutnya hasil penguraian tersebut didestilasi untuk mengukur sianida yang terbentuk.

Cara kerja analisis sianida

1. Alat Dan Bahan

- a) Larutan Kloramin T 1%
- b) Larutan sianida standard 1 ppm
- c) pereaksi piridin barbiturat
- d) larutan natrium hidrogen fosfat 1N
- e) Larutan pengencer NaOH
- f) Indikator fenolftalein
- g) Larutan HCl 1N
- h) Labu ukur
- i) pipet volume
- j) spektrofotometer

2. Cara Kerja

- a) Timbang sampel yang telah dihomogenkan sebanyak 10 g
- b) Masukkan kedalam labu ukur 100 mL, kemudian diencerkan dengan aquades sampai garis tanda
- c) Pipet 10 mL masukkan kedalam labu ukur 100 mL addkan sampai tanda dengan aquades
- d) Pipet 5 mL masukkan kedalam labu ukur 50 mL tambahkan 15 mL larutan pengencer.
- e) Tambahkan 4 mL buffer fosfat
- f) Tambahkan 2 mL larutan kloramin T
- g) Tambahkan pereaksi piridin barbiturat, kocok.
- h) Encerkan dengan aquades sampai tanda
- i) Baca absorpsi pada panjang gelombang maksimum 578 nm

Standar diperlakukan sama. Dengan menggunakan larutan standar 1 sampai 6 ppm

Pemantapan mutu pemeriksaan baca kembali bab 6

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Jelaskan sifat sianida dan penggolongan senyawanya!
2. Bagaimana mekanisme masuknya sianida ke dalam tubuh !
3. Apa yang dimaksud dengan penguraian sianida?
4. Bagaimana cara menghindari agar senyawa sianida tidak menguap dari sampel sebelum dilakukan pemeriksaan?

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi sianida di topik satu agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik

Ringkasan

Sianida adalah racun yang sangat mematikan dan digunakan sejak ribuan tahun yang lalu. Efek dari sianida ini sangat cepat dan dapat mengakibatkan kematian dalam jangka waktu beberapa menit. Sianida dalam tubuh manusia dapat menghambat pernafasan jaringan. Sianida biasanya ditemukan tergabung dalam bahan kimia lain membentuk suatu senyawa sianida. Sebagai contoh senyawa sianida yang sederhana adalah hidrogen sianida. Hidrogen sianida disebut juga formonitril, sedang dalam bentuk cairan disebut asam hidrosianik. Saat masuk ke dalam tubuh, racun sianida menghambat kerja enzim cytochrome-x-oxidase yang terletak di mitokondria. Enzim ini berfungsi mengikat oksigen guna memenuhi kebutuhan pernapasan sel. Jika enzim tersebut tidak bekerja dengan baik karena dihambat oleh racun sianida, sel-sel tubuh akan mengalami kematian.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Senyawa sianida yang paling beracun adalah....
 - A. Sebagai garamnya
 - B. Sebagai asamnya
 - C. Sebagai garam kuat
 - D. Sebagai basanya
 - E. Sebagai garam lemah

2. Sianida merupakan inhibitor kompetitif bagi kerja enzim dalam proses respirasi sel karena....
- A. Menempati sisi katalitik enzim pada hemoglobin sehingga tidak dapat berikatan dengan oksigen .
 - B. Menempati sisi yang bukan enzim pada hemoglobin sehingga tidak dapat berikatan dengan oksigen
 - C. Merupakan ion logam yang menghambat kerja enzim sitokron
 - D. Merupakan ion logam yang menggantikan gugus amina dalam hemoglobin
 - E. Bersifat asam sehingga akan menaikkan pH dan menghalangi ikatan dengan oksigen
3. Ikatan yang terbentuk pada Senyawa sianida antara atom C dan N adalah....
- A. Ikatan rangkap dua
 - B. Ikatan tunggal
 - C. Ikatan rangkap tiga
 - D. Ikatan koordinasi
 - E. Ikatan kovalen koordinat
4. Pada sampel cairan lambung dengan uji kertas saring yang dicelupkan ke dalam asam pikrat jenuh dalam suasana basa karbonat hasil uji positif menghasilkan warna
- A. Warna merah
 - B. Warna kuning
 - C. Warna hijau
 - D. Ungu
 - E. Biru
5. Metode analisis kuantitatif sianida menurut Kelada dapat dilakukan dengan menggunakan alat ukur
- A. Spektrometer infra merah
 - B. Spektrometer ultraviolet
 - C. Spektrometer sinar tampak
 - D. Spektrometer serapan atom
 - E. Spektrometer massa

Topik 2

Karbonmonoksida

A. EPIDEMIOLOGI KERACUNAN KARBON MONOKSIDA (CO)

Karbon monoksida adalah gas yang tidak berwarna dan tidak berbau yang dihasilkan dari proses pembakaran yang tidak sempurna dari material yang berbahan dasar karbon seperti kayu, batu bara, bahan bakar minyak dan zat-zat organik lainnya. Setiap korban kebakaran api harus dicurigai adanya intoksikasi gas CO. Sekitar 50% kematian akibat luka bakar berhubungan dengan trauma inhalasi dan hipoksia dini menjadi penyebab kematian lebih dari 50% kasus trauma inhalasi. Intoksikasi gas CO merupakan akibat yang serius dari kasus inhalasi asap dan diperkirakan lebih dari 80% penyebab kematian yang disebabkan oleh trauma inhalasi (Kao, 2006).

Perkiraan terbaik yang tersedia untuk kejadian keracunan karbon monoksida tahunan di Amerika Serikat, berdasarkan kunjungan di departemen gawat darurat, adalah 50.000 (160 kasus per 100.000 penduduk). Ada sekitar 15.000 keracunan CO yang disengaja setiap tahunnya, lebih dari dua pertiga dilaporkan berakibat kematian (Rose et al., 2016).

Jumlah kematian akibat keracunan CO menurun dari 1.967 pada tahun 1999 menjadi 1.319 pada tahun 2014 ($P < 0,001$). Angka kematian kasar dan disesuaikan turun sesuai dengan itu. Keracunan yang tidak disengaja menyumbang 13% lebih sedikit kematian per tahun pada tahun 2014 dibandingkan tahun 1999 ($P < 0,001$). Jumlah kematian yang disengaja oleh keracunan CO menurun sebesar 47% dibandingkan periode yang sama ($P < 0,001$). Sekitar 25.000 kasus keracunan gas CO pertahun dilaporkan terjadi di Inggris, dengan angka kematian sekitar 50 orang pertahun dan 200 orang menderita cacat berat akibat keracunan gas CO (Hampson, 2016).

Di Indonesia, beberapa kasus telah diberitakan antara lain; Uji sampel darah terhadap lima orang yang tewas di Klinik Sapta Mitra, Rawalumbu, Kota Bekasi, memastikan para korban mengalami keracunan gas karbon monoksida atau CO yang dihasilkan dari genset, sedangkan 4 orang lainnya pingsan (newsdetik.com, 2014); Seorang sopir taksi ditemukan tewas dalam mobil di depan Rumah Sakit Jantung Jakarta. Korban ini diduga tewas karena keracunan gas Karbon Monoksida (CO) (newsdetik.com, 2016); di Malang Jawa Timur, 7 orang meninggal diduga karena keracunan gas CO dari asap genset (newsliputan6.com, 2017); akan tetapi belum didapatkan data berapa kasus keracunan gas CO yang terjadi pertahun yang dilaporkan.

Karbon monoksida secara alami terjadi sebagai hasil sampingan dari degradasi heme. Produksi endogen CO terjadi selama katabolisme heme oleh *heme-oxygenase*,

tetapi tidak menghasilkan kadar CO-Hb lebih dari 1%. Namun, pada anemia hemolitik, CO-Hb dapat meningkat menjadi 3% sampai 4%. Sepsis berat juga menunjukkan peningkatan produksi CO endogen.

Sumber CO dari luar termasuk pembakaran bahan bakar berkarbon, seperti bensin, gas alam, minyak tanah, atau minyak. Knalpot mobil bertanggung jawab atas lebih dari setengah kematian yang tidak disengaja. Jumlah ini dapat menurun seiring kendaraan yang lebih tua tanpa katalitik *converters* telah dilarang digunakan (Ford, 2007).

Paparan CO lingkungan biasanya kurang dari 0,001%, atau 10 ppm, namun mungkin lebih tinggi di daerah perkotaan. Jumlah CO yang diserap tubuh bergantung pada ventilasi menit, durasi paparan, dan konsentrasi CO dan oksigen di lingkungan. Setelah memasak dengan kompor gas, konsentrasi CO₂ dalam ruangan bisa mencapai 100 ppm. Seorang perokok rokok terkena kira-kira 400 sampai 500 bpj (bagian per juta=*part per million, ppm*) CO sambil aktif merokok. Knalpot mobil bisa mengandung sebanyak 10% (100.000 ppm) CO. Paparan sampai 70 ppm dapat menyebabkan kadar karboksihemoglobin (CO-Hb) 10% pada ekuilibrium (kira-kira 4 jam), dan paparan 350 ppm dapat menyebabkan kadar CO-Hb 40% pada ekuilibrium. Badan Administrasi Keselamatan dan Kesehatan Kerja (*Occupational Safety and Health Administration*) Amerika menetapkan batas yang diizinkan untuk paparan CO pada pekerja adalah 50 ppm rata-rata selama 8 jam kerja (Kao, 2006).

Kondisi klinis yang terkait dengan toksisitas CO mungkin beragam dan tidak spesifik, termasuk sinkop, kejang, penyakit seperti flu, sakit kepala, dan nyeri dada. Paparan CO yang tidak dikenali dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang signifikan. Meskipun diagnosis pasti dan terapi yang tepat diperdebatkan secara luas (Kao, 2006).

Karbon monoksida sering disebut '*silent killer*', karena dapat mematikan secara diam-diam. CO sangat berbahaya karena tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak mengiritasi. Dengan kepadatan 0,968 yang relatif terhadap udara, dengan cepat berdifusi untuk mencapai keseimbangan dengan udara dalam ruangan.

B. TOKSOKINETIKA

Karbon monoksida mudah dihirup dan diserap pada kadar yang sebanding dengan udara pernafasan. Rumus paling akurat untuk memprediksi kadar CO-Hb berdasarkan riwayat paparan adalah rumus Coburn-Forster-Kane (CFK). Penyederhanaan rumus asli menghasilkan persamaan yang memungkinkan seseorang untuk memperkirakan tingkat ekuilibrium berdasarkan tingkat paparan CO dalam satuan bagian per juta (*part per million=ppm*):

$$\text{COHb (\%)} = \frac{100}{1 + \frac{643.3}{\text{ppm CO}}}$$

Rumus tersebut berlaku dengan asumsi orang tersebut adalah orang dewasa berukuran normal tanpa anemia. Selain itu, kita harus ingat bahwa dengan pengambilan eksponensial dibutuhkan waktu berjam-jam (4-8 jam) sebelum nilai ekuilibrium diperkirakan. Produksi endogen CO-Hb dapat diabaikan, terhitung hanya 2 persen dari total CO-Hb.

Awalnya, CO terutama terbatas pada kompartemen darah, dengan sedikit perubahan ekstraksi dan konsumsi oksigen oleh jaringan. Berdasarkan Rasio Haldane, afinitas CO terhadap oksigen untuk hemoglobin, kira-kira 200. Saat kadar CO-Hb meningkat dan waktu berlalu, sampai 15 persen dari total CO dapat didistribusikan dari darah dan diambil oleh jaringan, terutama dengan mengikat myoglobin (Ford, 2007).

Ekskresi CO dapat dimodelkan secara matematis serta menggunakan model CFK. Dengan menggunakan persamaan ini, waktu paruh CO-Hb pada manusia telah diprediksi menjadi 252 menit dan masing-masing diukur pada 249 dan 320 menit, dalam dua studi relawan yang sebenarnya. Meski tidak proporsional, peningkatan tekanan oksigen mendorong eliminasi CO lebih cepat. Dengan 100 persen oksigen pada tekanan atmosfer, waktu paruh CO menjadi 47 – 80 menit pada studi relawan (Ford, 2007).

Metilen klorida, pengelupas cat, dimetabolisme menjadi CO oleh hati setelah menghirup atau terserap kulit. Kadar CO-Hb puncak mungkin lambat sampai lebih dari 8 jam. Kematian diakibatkan oleh senyawa ini, dengan kadar CO-Hb setinggi 50 persen (Ford, 2007).

Karbonmonoksida dieliminasi di paru-paru. Waktu paruh CO pada temperatur ruangan adalah 3-4 jam. Pemberian oksigen seratus persen dapat menurunkan waktu paruh menjadi 30-90 menit, sedangkan dengan oksigen hiperbarik pada tekanan 2,5 atm dengan oksigen 100% dapat menurunkan waktu paruh sampai 15-23 menit (Sochat, 2017).

C. PATOFISIOLOGI

Claude Bernard pada tahun 1857 menemukan efek beracun karbon monoksida yang disebabkan oleh pelepasan ikatan oksigen dari hemoglobin menjadi bentuk karboxyhaemoglobin (CO-Hb). Warberg pada tahun 1926 memakai kultur jamur yeast untuk menunjukkan asupan oksigen oleh jaringan, dihambat oleh paparan karbon monoksida dalam jumlah yang besar (Kao, 2006).

Kadar CO sekitar 100 ppm menghasilkan CO-Hb 16% pada kesetimbangan, cukup untuk menghasilkan gejala klinis.

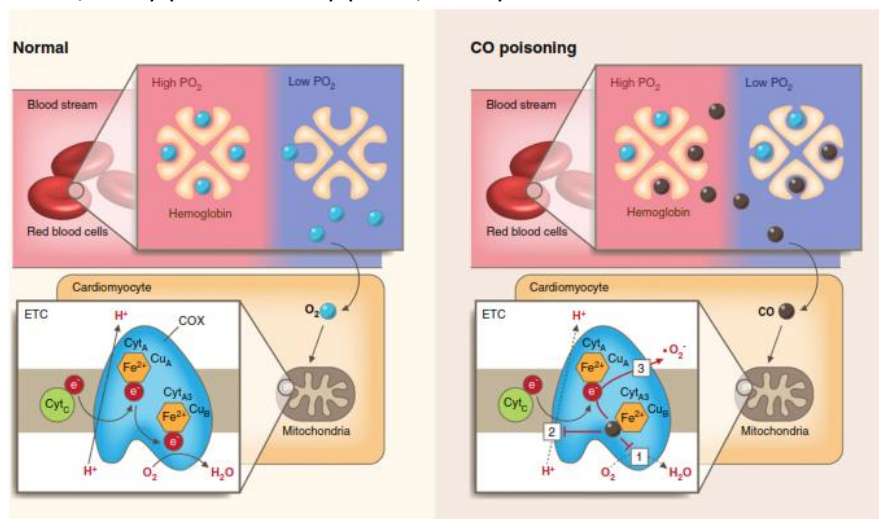
Mekanisme toksisitas CO dapat dikelompokkan sebagai berikut:

1. Pengikatan Hemoglobin

Patofisiologi keracunan CO awalnya dianggap berasal dari hipoksia seluler yang dipaksakan dengan mengganti oxyhemoglobin dengan CO-Hb dan menghasilkan anemia relatif (Kao, 2006).

Pada perkembangan selanjutnya ditemukan bahwa toksisitas karbon monoksida terutama disebabkan oleh kemampuannya untuk mengikat protein dan berbagai protein heme (gugus yang mengandung besi (Fe^{+2}) (Rose, 2017). Pengikatan CO pada Hb juga menstabilkan keadaan relaks (R-state) molekul hemoglobin yang meningkatkan afinitas oksigen pada sisi lain dalam tetramer Hb, dan selanjutnya mengurangi pelepasan dan pengiriman oksigen ke jaringan (Rose et al., 2017).

Penelitian yang menggunakan hewan coba anjing menunjukkan toksisitas gas CO yang diberikan melalui inhalasi lebih besar daripada transfusi dengan konsentrasi yang mirip eritrosit terpapar CO. Ini menunjukkan efek toksik CO akibat dari dampak global penghambatan CO pada pengiriman oksigen dan juga pada pengikatan protein heme pembawa oksigen. Selain Hb, CO terikat pada protein lain yang mengandung heme, termasuk mioglobin di otot jantung dan otot rangka, sitokrom c oksidase mitokondria (kompleks IV, COX) (Gambar 8.1) (Rose, 2017).

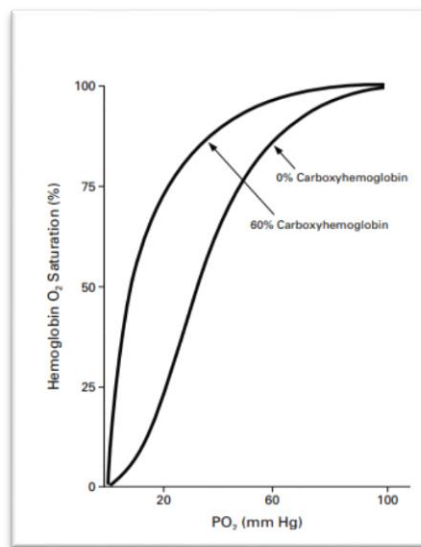


Gambar 7.1 Efek CO terhadap Hb dan Mitokondria

Sumber: Rose, 2017

Karbonmonoksida memiliki afinitas terhadap hemoglobin 200 sampai 250 kali oksigen. Pengikatan CO pada hemoglobin menyebabkan peningkatan pengikatan molekul oksigen pada tiga tempat pengikatan oksigen lainnya, sehingga oksigen sulit dilepaskan ke jaringan. Akibatnya adalah pergeseran ke kiri dalam kurva disosiasi oxyhemoglobin dan

menurunkan ketersediaan oksigen sehingga terjadi hipoksia jaringan (Sochat, 2017). (Gambar 8.2).



Gambar 7.2 Kurva dissosiasi Oksihemoglobin

Sumber: Ernst, 2008

Meskipun CO-Hb dapat menyebabkan gejala tipe anoksia akut yang khas akibat keracunan, namun tidak menjelaskan semua manifestasi dari keracunan ini. Inilah sebabnya mengapa kadar CO-Hb tidak berkorelasi dengan gejala akut atau akibat akhir (Sochat, 2017).

Tabel 7.1 Hubungan potensial antara kadar CO-Hb dan temuan klinis meliputi:

Kadar CO – Hb	Gejala
10%	Asimtomatik atau sakit kepala
20%	Dyspnea atipikal, sakit kepala berdenyut, pusing, mual
30%	Sakit kepala parah, gangguan berpikir, penglihatan terganggu
40%	Sinkop, konfusio
50%	Lesu, kejang, koma
60%	Kegagalan kardiopolmuner, kejang, koma, kematian

Hubungan kadar CO-Hb dan manifestasi klinis tidak dapat diandalkan pada banyak pasien karena keterlambatan prehospital atau terapi oksigen sebelum pengambilan sampel darah, dan atau keracunan sianida pada saat bersamaan.

Kadar CO-Hb darah janin lebih tinggi sekitar 30% dari kadar darah ibu, karena hemoglobin janin memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap CO daripada hemoglobin dewasa.

Sumber: (Sochat, 2017).

2. Toksisitas seluler langsung

Keracunan CO jauh lebih kompleks daripada dugaan awalnya, dan jelas memiliki mekanisme toksisitas di luar pembentukan CO-Hb. Dalam sebuah penelitian klasik, Goldbaum dan rekannya menunjukkan bahwa anjing yang menghirup 13% CO mati dalam waktu 1 jam setelah mencapai kadar CO-Hb dari 54% sampai 90%. Namun, pertukaran transfusi dengan darah yang mengandung 80% CO-Hb ke anjing yang sehat tidak menghasilkan efek beracun, meskipun kadar CO-Hb yang dihasilkan 57% sampai 64%, menunjukkan bahwa toksisitas CO tidak tergantung pada pembentukan CO-Hb. Penelitian lain telah menguatkan temuan morbiditas dan mortalitas akibat keracunan CO yang terlepas dari pembentukan hipoksia atau CO-Hb (Kao, 2006).

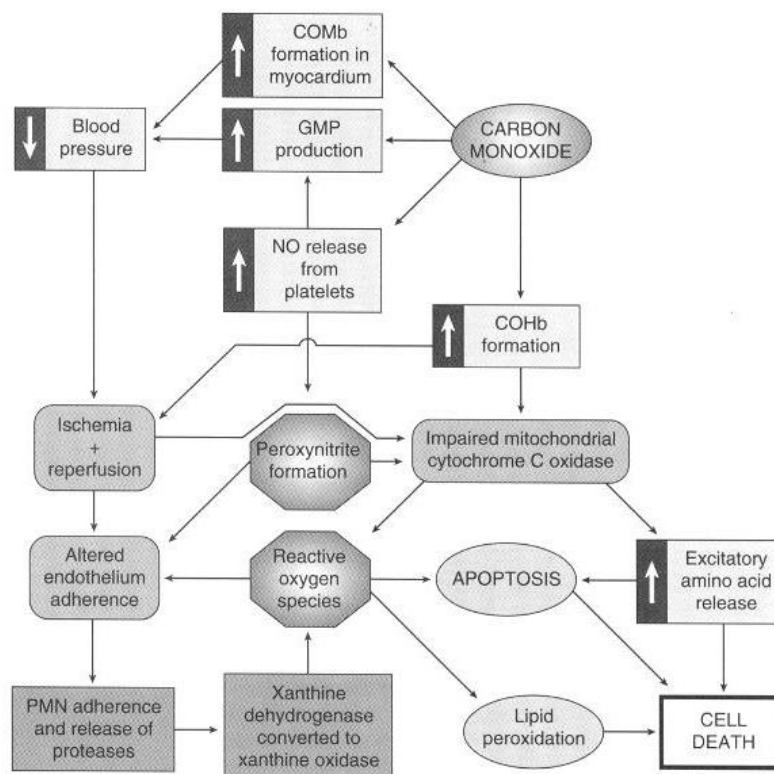
Pemahaman terkini tentang patofisiologi keracunan CO menghubungkan efek klinisnya dengan kombinasi hipoksia dan iskemia akibat pembentukan CO-Hb dan toksisitas CO langsung pada tingkat sel. Kombinasi ini membantu menjelaskan mengapa kadar CO-Hb tidak berkorelasi dengan tingkat keparahan gejala klinis. Garis besar beberapa mekanisme yang diusulkan disajikan pada Gambar 8.3 (Kao, 2006).

3. Inhibisi Mitokondria dan Pembentukan Radikal Bebas

CO menghambat respirasi mitokondria dengan mengikat Fe^{+2} heme a3 di sisi aktif sitokrom oksidase (*cytochrome oxidase*=COX), yang secara efektif memblokir fosforilasi oksidatif, serupa dengan efek sianida dan oksida nitrat (NO). COX hanya memiliki preferensi 3 kali lipat untuk CO_2 daripada O_2 . Dengan demikian, karena ikatan kompetitif O_2 dan CO terhadap COX, inhibisi mitokondria yang dimediasi oleh CO paling banyak terjadi pada kondisi hipoksia. Dengan COX terhambat, fosforilasi oksidatif melambat, menurunkan produksi ATP di jaringan seperti otak atau jantung. Kompleks lain dalam rantai transpor elektron terus mengalirkan elektron, menghasilkan superoksida, yang menyebabkan kerusakan sel dan jaringan lebih lanjut (Rose, et al, 2017)

4. Pengikatan protein (myoglobin, *guanylyl cyclase*)

Karbonmonoksida terikat pada banyak protein yang mengandung heme selain hemoglobin, termasuk mioglobin, dan guanilat siklase. Metabolisme energi seluler terhambat bahkan setelah normalisasi kadar CO-Hb, yang dapat menjelaskan efek klinis berkepanjangan setelah kadar CO-Hb menurun. Ikatan CO dengan mioglobin dapat mengurangi ketersediaan oksigen di jantung dan menyebabkan aritmia dan disfungsi jantung; hal itu juga dapat berkontribusi ke arah keracunan otot rangka dan rhabdomyolysis. CO juga merangsang *guanylyl cyclase*, yang meningkatkan siklus guanylyl monofosfat, menghasilkan vasodilatasi serebral, yang dikaitkan dengan hilangnya kesadaran pada model hewan keracunan CO (Kao, 2006).



Gambar 7.3. Mekanisme toksisitas karbonmonoksida
(Sumber: Ford, 2007)

5. Oksida nitrat

Peran oksida nitrat (NO) dan radikal bebas oksigen lainnya telah diteliti secara luas berkaitan dengan keracunan CO. Banyak penelitian pada hewan menunjukkan vasodilatasi serebral setelah terpapar CO, yang dikaitkan secara temporer dengan hilangnya kesadaran dan kadar NO yang meningkat. Bukti ini telah menyebabkan spekulasi bahwa, secara klinis, sinkop mungkin terkait dengan relaksasi pembuluh darah yang tidak dimediasi oleh AD dan aliran darah rendah. NO juga merupakan vasodilator perifer dan dapat menyebabkan hipotensi sistemik, walaupun hal ini belum dipelajari dalam penentuan keracunan CO. Namun, adanya hipotensi sistemik pada keracunan CO berkorelasi dengan tingkat keparahan lesi serebral, terutama di daerah aliran perfusi (yaitu ganglia basal, *white matter*, hippocampus) (Kao, 2006).

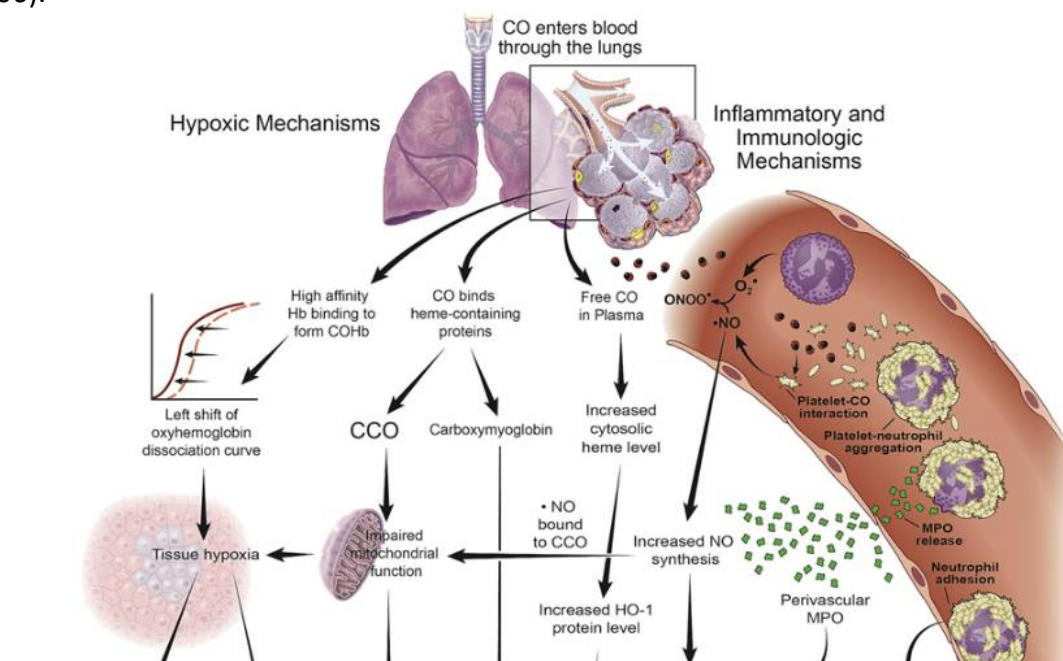
6. Efek terhadap trombosit dan Inflamasi

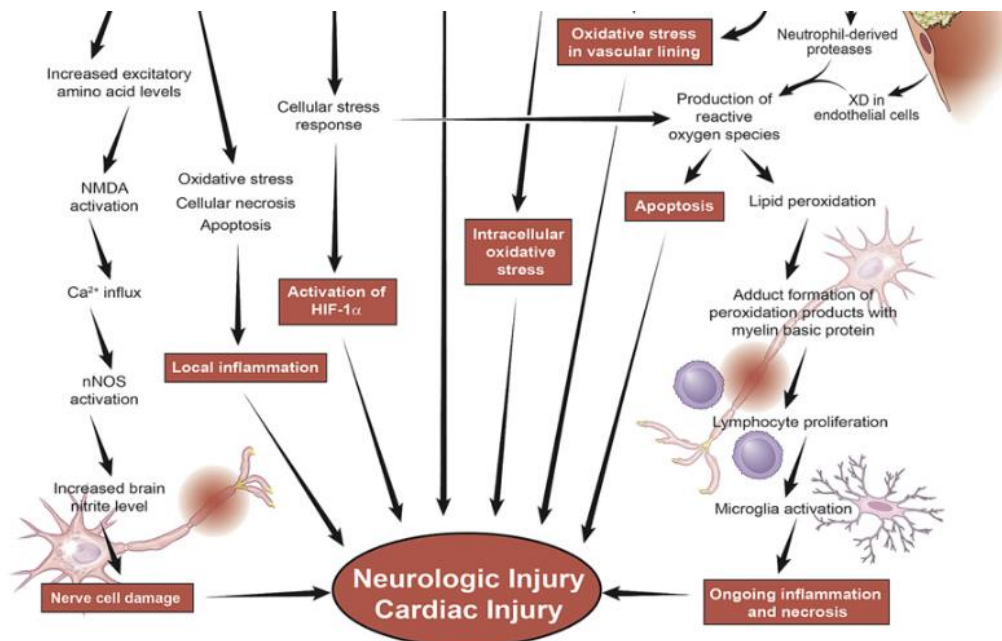
Kelebihan CO mengaktifkan trombosit melalui pemindahan NO dari hemoprotein permukaan platelet. Penggantian NO bebas dapat bereaksi dengan superoksida menghasilkan peroxynitrite (ONOO-), yang selanjutnya menghambat fungsi mitokondria dan meningkatkan aktivasi platelet. Trombosit yang diaktivasi dapat merangsang neutrofil

akibatnya terjadi degranulasi dan melepaskan myeloperoxidase (MPO). MPO menguatkan efek inflamasi dengan memicu aktivasi neutrofil, adhesi dan degranulasi yang lebih banyak (Gambar 8.4). Protease dari neutrofil diduga mengoksidasi xanthine dehydrogenase sel endotel menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS). Peradangan yang dipicu oleh NO dan ROS berkontribusi pada cedera neurologis dan jantung akibat keracunan CO (Rose et al., 2017).

Oksida nitrit juga diduga berperan penting dalam serangkaian kejadian yang berujung pada kerusakan oksidatif pada otak, yang mungkin bertanggung jawab atas sindrom klinis *delayed neurologic sequelae* (DNS)(Kao, 2006).

Peroksidasi lipid otak setelah paparan CO nampaknya merupakan fenomena reperfusi postischemic, dimediasi oleh perubahan aliran darah serebral serta kerusakan radikal bebas oksidatif. Masa hipotensi dan ketidaksadaran mungkin diperlukan agar peroksidasi lipid terjadi. Meskipun urutan kejadian yang tepat tidak diketahui, administrasi eksperimental inhibitor nitrat oksida sintase telah ditemukan untuk menghambat vasodilatasi serebral dan kerusakan oksidatif. Riset yang lebih baru telah mendalilkan mekanisme DNS yang dimediasi kekebalan. Tikus yang secara imunologis toleran terhadap protein dasar myelin (*Myelin Basic Protein*= MBP) sebelum keracunan CO tidak menyebabkan penurunan hasil, juga tidak menunjukkan tingkat perubahan histologis otak yang terlihat pada tikus yang tidak toleran secara imunologis. Penulis berhipotesis bahwa keracunan CO menginduksi perubahan biokimia dan antigenik pada MBP, yang dapat bereaksi dengan produk peroksidasi lipid untuk menghasilkan kaskade imunologis (Kao, 2006).





Gambar 7.4 Patofisiologi Keracunan CO

Sumber: Guzman, 2012

Mekanisme potensial lainnya dari toksisitas CO meliputi excitotoxicity (yaitu cedera neuron yang dimediasi glutamat), peningkatan aterosklerosis, keterlibatan dengan sitokrom p450 dan apoptosis (Kao, 2006).

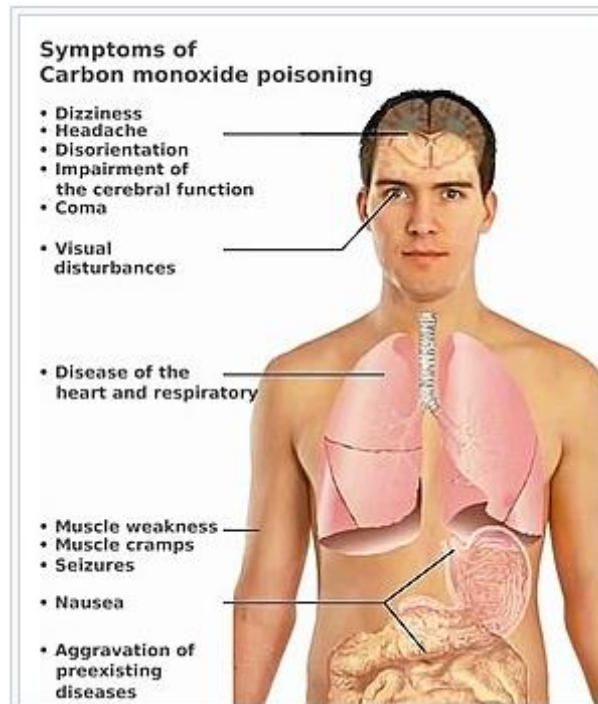
D. EFEK KLINIS DAN GEJALA

1. Efek klinis: akut

Gambaran klinis keracunan CO beragam dan mudah dikelirukan dengan penyakit lain, seperti penyakit virus nonspesifik, sakit kepala, dan berbagai sindrom kardiovaskular dan neurologis (Gambar 8.4). Gejala awal setelah paparan CO meliputi sakit kepala, mual, dan pusing. Saat paparan meningkat, pasien mengalami gejala yang lebih parah, terutama organ yang bergantung pada oksigen (otak dan jantung) menunjukkan tanda-tanda awal cedera (Ford, 2007).

Manifestasi neurologis dini meliputi pusing dan sakit kepala. Kenaikan paparan dapat menyebabkan perubahan status mental, kebingungan, sinkop, kejang, sindrom seperti stroke akut, dan koma. Kejang terisolasi telah dilaporkan pada pasien anak-anak. Kelainan pada studi neuroimaging, khususnya lesi bilateral globus pallidus, sering terlihat pada keracunan CO yang signifikan. Adanya hipotensi sistemik pada keracunan CO berkorelasi dengan tingkat keparahan kerusakan struktural sistem saraf pusat (Ford, 2007).

Kardiovaskular dini akibat keracunan CO dimanifestasikan oleh takikardia sebagai respons terhadap hipoksia. Paparan yang lebih signifikan mengakibatkan hipotensi, disritmia, iskemia, infark, dan, dalam kasus ekstrim, serangan jantung. Kematian dini setelah paparan CO mungkin disebabkan oleh disritmia jantung (Ford, 2007).



Gambar 7.6 Rangkuman gejala keracunan karbonmonoksida

Sumber: https://en.wikipedia.org/wiki/Carbon_monoxide_poisoning

Hipotensi dapat terjadi akibat cedera miokard akibat hipoksia atau iskemia, aktivitas depresan miokard langsung dari ikatan mioglobin, vasodilatasi perifer, atau kombinasi dari faktor-faktor ini. Ini mungkin berlanjut bahkan setelah gejala neurologis dan metabolik telah teratasi. Keracunan CO memperburuk penyakit kardiovaskular, membuat kelompok pasien ini sangat rentan terhadap gangguan kardiovaskular (Ford, 2007).

Paparan CO eksperimental tingkat rendah yang menghasilkan kadar CO-Hb dari 2% sampai 6% pada pasien yang telah terdiagnosa penyakit arteri koroner menghasilkan disritmia dan menurunkan latensi pada perkembangan iskemia jantung selama pengujian. Paparan CO menurunkan ambang batas untuk disritmia ventrikel malignan. Pada pasien dengan penyakit arteri koroner yang tidak terdiagnosis, paparan CO dapat bertindak sebagai tes stres, seperti anemia. Bahkan pada relawan sehat, paparan CO telah ditemukan menghasilkan perubahan EKG nonspesifik. Infark miokard telah dilaporkan terjadi pada keracunan CO karena tidak ada penyakit koroner yang mendasarinya (Ford, 2007).

Keracunan CO juga dapat menyebabkan rhabdomyolysis dan gagal ginjal akut, berpotensi sebagai efek toksik langsung CO pada otot rangka. Lepuh kulit dan edema paru nonkardiogenik telah dilaporkan pada pasien dengan keracunan CO berat. Warna kulit "*cherry red*" yang sering dibahas dalam buku teks tidak biasa terlihat pada praktiknya (Kao, 2006).

Karbonmonoksida mengikat lebih erat ke janin daripada hemoglobin dewasa, membuat bayi sangat rentan terhadap efeknya. Keracunan CO orang dewasa dapat hadir sebagai peristiwa yang mengancam jiwa akut pada bayi. Bahkan pasien anak-anak yang lebih tua lebih rentan terhadap efek CO karena tingkat metabolisme dan penyerapan oksigennya yang lebih tinggi. Gejala pada pasien anak sering tidak spesifik, seperti mual dan muntah, dan dengan mudah dapat salah didiagnosis sebagai penyakit virus. Peningkatan insiden sinkop dan kelesuan dilaporkan terjadi pada populasi anak-anak dibandingkan dengan orang dewasa.

Paparan CO pada pasien hamil menghadirkan skenario yang unik. CO menembus plasenta dengan mudah, dan penelitian pada hewan menunjukkan bahwa, dengan paparan CO pada ibu, kadar CO-Hb janin mencapai puncak yang lebih tinggi dan menghilang lebih lambat dari pada ibu. Pada manusia, berakibat fatal pada janin, seperti lahir mati, malformasi anatomi, dan cacat neurologis, secara jelas dikaitkan dengan keterpaparan ibu yang lebih parah. Namun, bahkan pada ibu yang tidak menunjukkan gejala, efek pada janin mungkin parah, termasuk malformasi anatomis dan kematian janin. Saat otopsi dilakukan, umumnya terlihat kerusakan otak janin, terutama pada ganglia basal dan globus pallidus. Usia kehamilan janin selama paparan CO telah dikaitkan dengan malformasi anatomis, sedangkan gangguan fungsional dan perkembangan neurologis yang buruk dilaporkan terjadi setelah paparan CO pada usia gestasi (Kao, 2006).

2. Efek klinis: tertunda

Efek CO tidak sejalan dengan periode setelah pemaparan. Efek neurologis yang terus-menerus atau tertunda juga telah dilaporkan. Yang paling menarik adalah sindrom pemulihan yang nyata dari keracunan CO akut diikuti oleh kerusakan perilaku dan neurologis setelah masa laten 2 sampai 40 hari. Sindrom ini, yang sering disebut sebagai DNS, dapat bermanifestasi sebagai gejala neurologis atau psikiatrik yang bisa terjadi, termasuk kehilangan ingatan, kebingungan, ataksia, kejang, inkontinensia urin dan tinja, kelainan emosional, disorientasi, halusinasi, parkinsonisme, mutisme, korteks kebutaan, psikosis, dan gaya berjalan dan gangguan motorik lainnya (Kao, 2006).

Dua seri kasus terbesar berasal dari Korea, dimana keracunan CO biasa terjadi karena penggunaan kompor batubara untuk memasak dan memanaskan. Dari 2360 korban keracunan CO akut, DNS didiagnosis pada 65 pasien. Gejalanya meliputi

kemunduran mental, gangguan memori, ketidakmampuan koordinasi, inkontinensia urin dan tinja, dan mutisme. Tingkat DNS dalam seri ini adalah 2,75% dari semua pasien dengan keracunan CO dan 11,8% dari pasien rawat inap. Interval nyata antara pemulihan dari paparan awal dan pengembangan DNS adalah 2 sampai 40 hari (rata-rata 22,4 hari). Dari pasien yang diikuti, 75% sembuh dalam waktu 1 tahun. Kejadian DNS meningkat dengan durasi ketidaksadaran yang dialami oleh pasien dan dengan usia di atas 30. Seri besar lainnya yang melaporkan 2967 pasien yang menderita keracunan CO telah menemukan hampir identik dengan kelompok yang telah dijelaskan. Lebih dari 90% pasien yang mengembangkan DNS dalam rangkaian ini tidak sadar selama keracunan akut, dan kejadian DNS secara tidak proporsional lebih tinggi pada pasien yang lebih tua (50-79 tahun) dan tidak ada pada pasien berusia di bawah 30 tahun (Kao, 2006).

Secara umum, pasien dengan gambaran klinis awal yang lebih simptomatik adalah yang paling mungkin untuk mengembangkan sequelae neurologis yang persisten atau tertunda. DNS paling sering terjadi pada pasien yang mengalami koma, pada pasien yang lebih tua, dan mungkin pada orang dengan paparan yang terlalu lama. Kelainan pengujian neuropsikometrik telah dikaitkan dengan tingkat kesadaran yang menurun saat presentasi, terutama bila durasi ketidaksadaran melebihi 5 menit (Kao, 2006).

Berbagai definisi DNS digunakan oleh peneliti; istilahnya bisa merujuk gejala klinis, kelainan neuropsikometrik, atau kombinasi keduanya. Meskipun menggunakan kelainan neurologis kasar untuk menentukan DNS mungkin mengabaikan disfungsi kognitif yang halus, neuropsikometri. Pengujian dapat mengungkapkan disfungsi kognitif subklinis dan mungkin sementara dari signifikansi klinis dan prognostik yang tidak diketahui. Pasien yang sakit parah, bunuh diri, depresi, atau mengalami coingestion dari minuman keras lainnya mengganggu tes ini. Selain itu, pasien ini umumnya tidak memiliki base line untuk perbandingan. Terlepas dari keterbatasan ini, pengujian neuropsikometri memberikan ukuran fungsi kognitif yang obyektif yang dapat digunakan untuk menyaring dan mengikuti pasien dengan keracunan CO (Kao, 2006).

3. Efek klinis: kronis

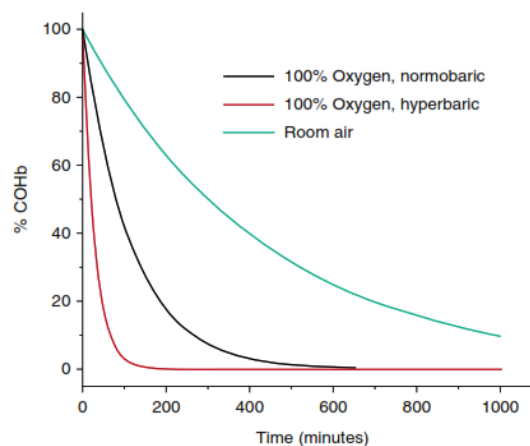
Meskipun beberapa penulis telah berhipotesis bahwa keracunan CO kronis mungkin lebih meresap dan menyebabkan lebih banyak morbiditas dan mortalitas daripada yang saat ini diketahui, bukti untuk mendukung klaim ini kurang dari yang mendesak, sebagian karena perbedaan yang inheren dalam mengukur tingkat keterpaparan dan tingkat gangguan neurologis. Laporan kasus dan rangkaian kasus telah diterbitkan yang menggambarkan sindrom sakit kepala, mual, ringan, disfungsi serebelum, dan gangguan kognitif dan mood yang terkait dengan paparan CO kronis dan tingkat rendah. Namun, semua laporan ini memiliki faktor pembaur yang tidak terkendali dan kurangnya data

mengenai pemaparan. Gejala ini biasanya mereda begitu pasien dikeluarkan dari lingkungan. Masalah lain yang secara spekulatif dikaitkan dengan paparan CO kronis termasuk berat lahir rendah, mengurangi tingkat latihan, dan eksaserbasi penyakit jantung, walaupun faktor risiko lainnya, seperti merokok, mengacaukan gambar. Selain itu, paparan CO kronis telah dikaitkan dengan polisitemia dan kardiomegaly, mungkin karena hipoksia kronis (Kao, 2006).

E. PENANGANAN KERACUNAN KARBONMONOKSIDA

Pengobatan pasien yang keracunan CO dimulai dengan suplemen oksigen dan perawatan suportif agresif, termasuk penanganan jalan nafas, dukungan tekanan darah, dan stabilisasi status kardiovaskular. Ketika terjadi keracunan CO, pasien harus segera dievakuasi dari tempat kejadian (Kao, 2006).

Terapi untuk keracunan CO saat ini adalah 100% normobaric (NBO₂) atau Hiperbarik (HBO₂) 2,5-3 atmosfer. NBO₂ dan HBO₂ mengeluarkan CO pada laju yang lebih cepat dari darah dengan meningkatkan tekanan parsial oksigen yang meningkatkan laju disosiasi CO dari hemoglobin. NBO₂ mengurangi waktu paruh eliminasi CO dari 320 menit di udara ruangan sampai 74 menit (Gambar 8.5). HBO mengalirkan oksigen 100% di dalam ruang bertekanan, menghasilkan peningkatan oksigen terlarut dalam tubuh (PaO₂ sampai 2000 mmHg) (Kao, 2006).



Gambar 7.5 Penurunan kadar CO-Hb setelah terapi oksigen

Sumber: Rose, 2017

HBO₂ dapat mengurangi waktu paruh HbCO sampai 20 menit, namun sebenarnya dalam Praktik klinis paruh waktu mungkin lebih tinggi, hingga 42 menit. HBO₂ telah menunjukkan efek perbaikan pada peradangan dan disfungsi mitokondria yang disebabkan oleh keracunan CO (Rose, 2017).

Roderique dkk mengusulkan tindakan farmakologis dengan penggunaan hydroxocobalamin dan asam askorbat untuk meningkatkan konversi CO menjadi CO₂ (Rose, 2017).

F. ANALISIS KERACUNAN KARBONMONOKSIDA

Evaluasi laboratorium awal harus diarahkan pada hal yang mengancam jiwa segera yang dapat menyertai keracunan CO dan dapat diatasi dengan mudah dengan perawatan suportif. Penentuan kadar glukosa darah di tempat tidur segera sangat penting pada pasien dengan status mental yang berubah. Pada pasien yang parah, pemantauan jantung harus dimulai dan elektrokardiogram diperoleh untuk mengevaluasi iskemia jantung. Karena gangguan CO-Hb, oksimeter akan mengakibatkan overestimate persentase saturasi hemoglobin. Jika ada kekhawatiran tentang oksigenasi dengan adanya keracunan CO, analisis gas darah arteri sangat penting. Tes ini dapat secara akurat menilai oksigenasi dan mengkonfirmasi adanya asidosis metabolik dari laktat, sebuah penanda keracunan CO yang serius dan prognosis yang lebih buruk (Ford, 2007).

Diagnosis klinis keracunan karbon monoksida (CO) akut harus dikonfirmasi dengan menunjukkan peningkatan kadar karboksihemoglobin (CO-Hb). Baik darah arteri atau vena dapat digunakan untuk pengujian. Analisis CO-Hb memerlukan pengukuran spektrofotometri langsung pada analisa gas darah spesifik. Alat pengukur karbon monoksida (CO)-oksimetri di tempat tidur sekarang tersedia namun memerlukan unit khusus dan bukan merupakan komponen oksimetri nadi rutin. Sebuah studi di tahun 2012 menunjukkan bahwa oksimetri pulsa noninvasif berkorelasi dengan diagnosis dan inisiasi terapi oksigen hiperbarik yang lebih cepat daripada CO-oksimetri. Pernyataan klinis kebijakan 2017 dari *American College of Emergency Physicians (ACEP)* merekomendasikan untuk menggunakan pulse CO-oximetry untuk mendiagnosis keracunan CO pada pasien dengan dugaan keracunan CO akut (Ford, 2007).

Peningkatan kadar CO minimal 3-4% pada bukan perokok dan setidaknya 10% pada perokok signifikan. Namun, tingkat rendah tidak menutup kemungkinan paparan, terutama jika pasien sudah menerima oksigen 100% atau jika waktu yang signifikan telah berlalu sejak terpapar. Kadar CO-Hb pada perokok rokok biasanya berkisar antara 3-5%, namun mungkin setinggi 10% pada beberapa perokok berat. Kehadiran hemoglobin janin, setinggi 30% pada 3 bulan, dapat dibaca sebagai elevasi tingkat CO-Hb sampai 7%. [23] Gejala mungkin tidak berkorelasi dengan baik dengan kadar CO-Hb (Sochat, 2017).

Temuan pengukuran gas darah arterial meliputi:

Tekanan parsial kadar oksigen (PaO₂) harus tetap normal; Saturasi oksigen akurat hanya jika diukur secara langsung tapi tidak jika dihitung dari PaO₂, yang umum terjadi pada banyak analisa gas darah. Seperti oksimetri nadi, perkirakan kadar PCO₂ dengan mengurangi kadar

karboksihemoglobin (CO-Hb) dari saturasi yang dihitung. Tingkat PCO₂ mungkin normal atau sedikit menurun. Asidosis metabolik terjadi akibat asidosis laktik dari iskemia.

ACEP merekomendasikan untuk memperoleh elektrokardiogram dan kadar biomarker jantung pada pasien di instalasi gawat darurat dengan keracunan CO sedang sampai berat. Hasil pemeriksaan jantung meliputi peningkatan kadar *high sensitive troponin I* seringkali menunjukkan kardiomiopati, termasuk disfungsi global reversibel. Iskemia miokard umum terjadi pada pasien yang dirawat di rumah sakit karena paparan CO moderat sampai berat dan merupakan prediktor kematian. Pasien dengan penyakit kardiovaskular yang sudah ada sebelumnya dapat mengalami peningkatan angina yang berat dengan kadar CO-Hb hanya 5 sampai 10%; pada kadar CO-Hb tinggi, bahkan pasien sehat muda mengalami depresi miokard (Sochat, 2017).

Hasil tes lainnya meliputi:

- a. Kreatinin kinase, mioglobin urin: rhabdomyolysis nontraumatik dapat diakibatkan oleh toksisitas CO berat dan dapat menyebabkan gagal ginjal akut.
- b. Hitung darah lengkap: mungkin terjadi Leukositosis ringan; koagulasi intravaskular diseminata (*coagulation intravascular disseminated=DIC*) dan *thrombotic thrombocytopenic purpura* (TTP) membutuhkan studi hematologi lebih lanjut.
- c. Elektrolit dan kadar glukosa: Hipokalemia dan hiperglikemia terjadi pada keracunan parah
- d. Kadar laktat darah: peningkatan kadar laktat darah adalah indikasi keparahan keracunan. Jika sumber CO adalah kebakaran di rumah dan tingkat laktatnya 10 mmol/L atau lebih tinggi, pasien mungkin mengalami keracunan sianida bersamaan
- e. Urea nitrogen darah (BUN) dan kadar kreatinin: Gagal ginjal akut sekunder akibat mioglobinuria
- f. Tes fungsi hati : Elevasi ringan pada gagal hati fulminan
- g. Urinalisis : positif untuk albumin dan glukosa dalam keracunan kronis
- h. Kadar methemoglobin : termasuk dalam diagnosis banding sianosis dengan saturasi oksigen rendah tetapi PaO₂ (tekanan parsial oksigen) normal
- i. Kadar etanol: faktor pengganggu pada keracunan CO yang disengaja dan tidak disengaja
- j. Kadar sianida: jika toksisitas sianida juga dicurigai (misalnya kebakaran industri); paparan sianida disarankan jika terjadi asidosis metabolik yang tidak dapat dijelaskan; Penentuan cepat jarang tersedia. Inhalasi asap adalah penyebab paling umum keracunan sianida akut (Sochat, 2017).

1. Aplikasi klinis

Karbon monoksida berikatan dengan hemoglobin 200 kali lebih mudah daripada O₂ yang berakibat pada hipoksemia. Keracunan CO ditentukan dengan analisis CO-Hb. Spesimen harus diambil sesegera mungkin setelah terpapar, karena CO cepat dibersihkan dari

hemoglobin dengan menghirup udara normal. Kadar COHb dari sampel darah vena berkorelasi dengan sampel darah arteri.

Kadar CO-Hb paling baik ditentukan dengan CO-oximeter (spektrofotometer khusus) yang secara bersamaan mengukur kadar hemoglobin dan fraksional total (%) untuk CO-Hb, oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, dan methemoglobin (Sochat, 2017).

2. Kadar Karboxyhemoglobin (CO-Hb)(Ford, 2007)

Studi laboratorium yang paling penting untuk konfirmasi keracunan CO adalah penentuan kadar CO-Hb. Kadar normal kurang dari 5 persen pada bukan perokok dan bisa setinggi 12 persen pada perokok dua per-jam. Meskipun toksisitas serius sering dikaitkan dengan kadar di atas 25 persen, pasien dapat mengalami koma dengan kadar mendekati nol, terutama jika mereka telah menerima pengobatan berkepanjangan dengan oksigen. Kedua hal ini dan perbedaan "perendaman," didefinisikan sebagai durasi paparan, menyebabkan kadar CO-Hb tidak dapat diandalkan dalam mengukur gejala atau memprediksi akibat. Karena itu, kadar tersebut hanya untuk mengkonfirmasi keracunan. Penelitian saat ini lebih melihat CO terlarut total dalam darah yang dapat memperkirakan kadarnya dalam jaringan dengan lebih baik dan oleh karena itu lebih baik berkorelasi dengan gejala dan akibat yang ditimbulkan.

Umumnya, penentuan kadar CO-Hb dilakukan dengan CO-oximeter pada darah arteri, namun darah vena terbukti sama akuratnya, terutama bila kadar CO di bawah 20 persen. Sampel darah stabil setidaknya selama 5 hari, sehingga sampel dari lapangan, yang ditarik dalam tabung heparinisasi, dapat digunakan untuk penentuan CO-Hb. Teknik sampling udara pernafasan dengan monitor samping tempat tidur tersedia; Namun, metode ini diganggu oleh adanya etanol, yang akan bereaksi silang dengan alat uji sehingga menghasilkan kadar yang keliru (Ford, 2007)

Pengukuran kadar karboksihemoglobin (COHb) dalam darah utuh bertujuan untuk diagnosis dan pengelolaan keracunan karbon monoksida. Tes ini mengukur kadar COHb serum, yang terbentuk dari kombinasi karbon monoksida (CO) dan hemoglobin (Hb).

a. Nilai Rentang Referensi Kadar Karboksihemoglobin

- 1) Dewasa: <2,3%; <3% saturasi total hemoglobin
- 2) Perokok: 2,1% - 4,2%; sumber lain menyarankan: 2% - 5%
- 3) Perokok berat (> 2 bungkus / hari): 8% - 9%; sumber lain menyarankan: 5% - 10%
- 4) Anemia hemolitik: Sampai 4%
- 5) Bayi baru lahir: $\geq 10 - 12\%$
- 6) Nilai Kritis:> 20%

b. Indikasi & Penggunaan

Keracunan karbon monoksida yang diduga kadar Carboxyhemoglobin (COHb) lebih tinggi dari 5% pada perokok bukan perokok dan 10% pada perokok mengkonfirmasi diagnosisnya, namun berkorelasi buruk dengan tingkat keracunan karbon monoksida.

c. Pengukuran Kadar CO-Hb dengan CO-oximeter

CO-oksimer adalah alat analisa gas darah yang, selain status tekanan gas yang diberikan oleh pengukuran gas darah konvensional, juga mengukur konsentrasi hemoglobin beroksigen (oxyHb), hemoglobin terdeoksigenasi (deoxyHb atau reduced Hb), carboxyhemoglobin (COHb), dan methemoglobin (MetHb) sebagai persentase dari total konsentrasi hemoglobin dalam sampel darah. Penggunaan CO-oximetry diperlukan saat riwayat ada paparan toksin, hipoksia yang gagal diperbaiki dengan pemberian oksigen, ada perbedaan antara PaO₂ pada penentuan tekanan darah dan saturasi oksigen pada oksimetri nadi (SpO₂), atau dokter menduga terserang dyshemoglobinemia lainnya seperti methemoglobinemia atau carboxyhemoglobinemia.

Puls-Oksimetri mengukur saturasi oksigen (SaO₂) hemoglobin dalam darah arteri atau jumlah oksigen rata-rata yang terikat pada setiap molekul hemoglobin. Analisis gas darah menghitung saturasi oksigen dari parameter yang diukur PO₂ dan pH berdasarkan kurva disosiasi oksigen standar. Sayangnya, oksimetri nadi, prosedur noninvasif, tidak membedakan antara berbagai tipe hemoglobin. Misalnya, dalam kasus methemoglobinemia, oksimetri nadi bisa membaca 88%, namun desaturasi dapat ditunjukkan dengan CO-oximetry, mencatat 70% oxyHb dan 30% MetHb.

Masing-masing dyshemoglobins memiliki spektrum serapan yang unik, dan konsentrasinya dapat diturunkan dari hukum Beer-Lambert dengan mengukur penyerapan pada empat panjang gelombang tertentu. Nilai normal dilaporkan sebagai persentase dari hemoglobin normal dan meliputi oxyHb, 45% sampai 70%; deoxyHb, 0% sampai 5% (arterial) atau 15% sampai 40% (vena); MetHb, 0% sampai 1,5%; dan COHb 0% sampai 2,5% (non perokok) atau 1,5% sampai 10% (perokok). Kadar hemoglobin total tergantung pada usia anak-anak. Kesenjangan saturasi oksigen didefinisikan sebagai selisih lebih dari 5% antara saturasi yang dihitung dari analisa gas darah arterial standar dan saturasi yang diukur dengan CO-oximetry. Adanya selisih saturasi oksigen konsisten dengan adanya dishemoglobin.

Teknik pengumpulan yang akurat diperlukan untuk interpretasi CO-oksimer yang sesuai. CO-oksimer membutuhkan minimal 0,3 mL darah (vena atau arteri). Darah harus dikumpulkan dengan spuit bebas udara, heparinasi, dicampur dengan baik, dilepaskan gelembung udara, dan ditempatkan di atas es (Mack, 2007).



Gambar 7.6 CO-oksimeter

Sumber: <http://www.pacificwestmedical.com/masimo/handheld-pulse-oximeters-co-oximeters-etc/masimo-rainbow-handheld-pulse-co-oximeters/rad-57m-handheld-co-oximeter-with-spmet/>

G. ANALISIS LABORATORIUM

1. Penetapan Kadar CO-Hb (WHO, 1995)

Tes kualitatif berikut ini relatif tidak sensitif dan hanya berguna dalam diagnosis keracunan karbon monoksida akut. Jika hasil positif didapat maka baik karboxihaemoglobin (CO-Hb) atau konsentrasi karbon monoksida nafas harus diukur segera tanpa penundaan. Metode kuantitatif untuk menentukan HbCO darah yang dijelaskan di bawah ini bergantung pada fakta bahwa hemoglobin beroksigen dan methaemoglobin (hemoglobin teroksidasi) dapat direduksi dengan natrium dithionite sementara HbCO sebagian besar tidak terpengaruh.

a. Uji kualitatif

Berlaku untuk whole blood dengan antikoagulan heparin, EDTA, NaF atau Na-oxalate.

1) Reagen

Amonium hidroksida berair (0,01 mol / l).

2) Prosedur

Tambahkan 0,1 ml darah ke 2 ml larutan amonium hidroksida dan campuran vortex selama 5 detik.

3) Pengamatan Hasil

Warna merah muda jika dibandingkan dengan warna yang diperoleh dari spesimen darah normal menunjukkan adanya carboxyhaemoglobin. Sianida dapat memberikan warna yang serupa, namun keracunan sianida akut umumnya jauh lebih jarang terjadi daripada keracunan karbon monoksida.

4) Kepekaan : HbCO, 20%.

b. Pemeriksaan kuantitatif

Berlaku untuk sampel darah utuh dengan antikoagulan heparin, EDTA atau Na-fluoride atau Na-oxalate.

1) Reagen

- a) Amonium hidroksida berair (1 ml / l).
- b) Sodium dithionite (padat, disimpan dalam desikator).
- c) Pasokan karbon monoksida murni atau karbon monoksida / nitrogen.
- d) Pasokan oksigen atau udara bertekanan.

2) Prosedur

- a) Tambahkan 0,2 ml darah sampai 25 ml larutan amonium hidroksida dan aduk.
- b) Ambil tiga porsi yang kira-kira sama: x, y dan z. Simpan bagian x ke dalam stopper tube sementara prosedur berikut dilakukan:
 - (a) Bagian jenuh y dengan karbon monoksida (untuk memberi 100% HbCO) dengan menggelegak gas melalui larutan selama 5-10 menit. Berhati-hatilah untuk meminimalkan buih.
 - (b) Bagian jenuh z dengan oksigen dengan menggelegak oksigen murni atau udara terkompresi melalui larutan paling sedikit 10 menit untuk menghilangkan semua karbon monoksida terikat (untuk memberi 0% HbCO). Sekali lagi, hati-hati untuk meminimalkan buih.
- c) Tambahkan sejumlah kecil (sekitar 20 mg) natrium dithionite ke setiap larutan uji (x, y dan z) dan juga sampai 10 ml larutan amonium hidroksida dan aduk rata.
- d) Ukur absorbansi larutan x, y dan z terhadap larutan amonium hidroksida yang diperkaya dengan dithionite pada 540 nm dan 579 nm.

3) Hasil

Persentase saturasi karboksiaemoglobin (% HbCO) dapat dihitung dari persamaan:

$$\% \text{HbCO} = \frac{(A_{540}/A_{579} \text{ solution x}) - (A_{540}/A_{579} \text{ solution z})}{(A_{540}/A_{579} \text{ solution y}) - (A_{540}/A_{579} \text{ solution z})} \times 100$$

Perkiraan nilai normal adalah:

(A₅₄₀ / A₅₇₉ Larutan y) = 1,5, sesuai dengan 100% HbCO

(A₅₄₀ / A₅₇₉ Larutan z) = 1,1, sesuai dengan 0% HbCO.

4) Interpretasi hasil

Panduan sederhana untuk interpretasi hasil CO-Hb darah diberikan pada Tabel 8.2.

Saturasi CO-Hb (%)

Berkaitan dengan kondisi berikut:

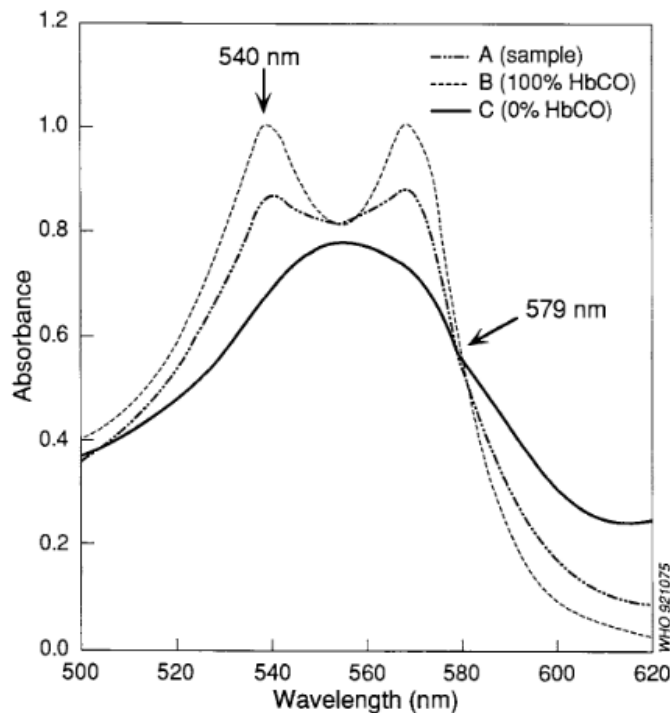
3 – 8	Pada perokok
< 15	Perokok berat (30 – 50 batang/hari)
20	Berbahaya terhadap jantung
20 – 50	Dapat terjadi gangguan mental dan fisik yang progresif
>50	Koma, kejang, gagal jantung dan nafas, kematian

Sumber: WHO, 1995

Catatan :

1. Perhatikan bahwa kandungan hemoglobin darah bervariasi dari orang ke orang, dan dengan demikian volume pengencer yang digunakan mungkin perlu diubah. Pengenceran yang memberikan absorbansi maksimum sekitar 1 unit absorbansi pada 540 nm sangat ideal.
2. Penting untuk menggunakan natrium dithionite yang baru saja diperoleh atau disimpan dalam wadah tertutup di desikator, karena senyawa ini tidak aktif dengan kontak yang berkepanjangan dengan udara lembab.
3. Metode ini tidak dapat diandalkan dengan adanya pigmen lain seperti methaemoglobin (ditunjukkan dengan absorbansi yang relatif tinggi di wilayah 580-600 nm, lihat Gambar 11). Spesimen darah lipaemic dapat memberikan suspensi keruh yang juga memberikan hasil yang tidak dapat diandalkan.
4. Pengukuran dilakukan pada titik selisih maksimum absorbansi (540 nm, $\lambda_{\text{damax HbCO}}$) dan titik absorbansi sama (579 nm, titik isobestrum). Pembacaan pada 579 nm diambil pada lereng yang sangat curam (Gambar 8.7), dan panjang gelombang sangat penting. Spektrofotometer dengan band-pass yang relatif lebar (4-5 nm) sebaiknya tidak digunakan, karena tidak mungkin melakukan pengukuran dengan akurasi yang dibutuhkan. Bahkan jika instrumen dengan pita sempit tersedia, penting untuk memastikannya dikalibrasi secara akurat, walaupun efek variasi kecil dapat diminimalkan dengan menggunakan prosedur berikut:
 - a. Ukur absorbansi larutan z (0% HbCO) terhadap larutan amonium hidroksida yang diperkaya dengan dithionite pada 540 nm. Jika rasio (A_{540} / A_{579}) untuk 0% HbCO diasumsikan 1,1, absorbansi larutan ini pada 579 nm dapat dihitung.
 - b. Sesuaikan pengaturan panjang gelombang instrumen untuk memberikan pembacaan ini jika belum mencapai 579 nm. Sebagai alternatif, spektrum dari ketiga larutan tersebut dapat dicatat dengan menggunakan spektrofotometer pemindaian, jika ada, dan pengukuran dilakukan secara langsung. Contoh spektrum yang harus diperoleh diberikan pada Gambar 8.7. Kehadiran puncak serapan kembar ("telinga kelinci") adalah fitur kualitatif yang berguna.

Kepekaan metode terhadap HbCO, sekitar 10%.



Gambar 7.7 Spektrum darah sampel keracunan CO (A), 100% CO-Hb (B) dan 0% CO-Hb (C).

Sumber: WHO, 1995

5) Penetapan Kadar Karboxyhemoglobin dengan Mikrodifusi Palladium Chloride

a) Dasar penetapan

Karbon monoksida adalah gas volatil dengan sifat reduksi kuat. Karbon monoksida dibebaskan dari darah oleh asam kuat dalam sel mikrodifusi dan paladium klorida, di tengah sel difusi, dikurangi menjadi paladium metalik yang memiliki penampilan perak. Adanya CO dalam darah dapat dengan mudah dideteksi dengan pengamatan penampilan lapisan perak.

b) Persyaratan Spesimen

Kira-kira 2 mL darah atau jaringan campuran mengandung hemoglobin dengan jumlah yang cukup

c) Reagen dan Standar

- (1) Asam klorida pekat
- (2) Asam Sulfat pekat
- (3) Palladium Klorida
- (4) Timbal asetat
- (5) Asam asetat glasial

- (6) 0,1 N Asam hidroklorik: Dengan hati-hati tambahkan 8,3 mL HCl pekat sampai kira-kira 100 mL dH₂O dalam labu volumetrik 1 L dan qs untuk volume dengan dH₂O. Simpan pada suhu kamar sampai dua tahun.
- (7) 10% (3.6 N) Asam Sulfat: Dengan hati-hati tambahkan 10 mL H₂SO₄ pekat ke sekitar 70 mL dH₂O dalam labu volumetrik 100 mL. Keren dan qs untuk volume dengan dH₂O. Simpan pada suhu kamar sampai dua tahun.
- (8) 0.005 N Palladium Chloride Reagent: Timbang 0,22 g paladium klorida, transfer ke labu volumetrik 250 mL dan qs ke volume dengan 0,1 N HCl dan diamkan dalam semalam. Transfer ke labu volumetrik 500 mL dan qs ke volume dengan 0,1 N HCl. Simpan pada suhu kamar sampai dua tahun.
- (9) 10% Larutan Asam Asetat Timbal Asetat: Tambahkan 10 mL asam asetat glasial ke labu volumetrik 100 mL dan qs untuk volume dengan dH₂O. Larutan jenuh Pb-asetat dengan menambahkan Pb-asetat sampai tidak larut lagi setelah mencampurnya dengan kuat. Simpan pada suhu kamar sampai dua tahun.

d) Prosedur

- (1) Siapkan sel mikrodifusi dengan sealant atau dH₂O.
- (2) Tambahkan 2 ml reagen PdCl₂ ke pusat sumur sel mikroduksi
- (3) Tambahkan 2 ml darah ke satu sisi cincin luar
- (4) Tambahkan 1 ml H₂SO₄ 10% ke sisi luar cincin luar. Tutup sel microdiffusi dengan cepat dan dengan hati-hati, putar untuk mencampur darah dengan asam sulfat. Diamkan selama kira-kira satu jam.

(5) Catat hasil

e) Pengendalian Mutu dan Pelaporan

- 1) Cermin berwarna perak akan terbentuk di tengah sumur pada sampel positif. Sampel negatif akan tampak tidak berubah (warna emas kuning bening dari pereaksi paladium klorida). Intensitas dari cermin perak berbanding lurus dengan konsentrasi karbon monoksida dalam darah.
- 2) Cermin perak yang sangat kecil namun terlihat (partikel) menunjukkan sekitar 10% saturasi.
- 3) Catat intensitas reaksi dengan menggunakan "+++" untuk menunjukkan reaksi terkuat (misalnya, > 60% saturasi), ++ (mis., saturasi 30-50%), + (mis., saturasi 10-20%) atau - (mis., kejenuhan <10%).
- 4) Lakukan analisis setidaknya satu tingkat kontrol positif dan kontrol negatif pada masing-masing kelompok sampel kasus.
- 5) Hasil karboksihemoglobin positif (> 10%) hanya dapat dilaporkan jika dikonfirmasi atau sesuai dengan hasil mikrodifusi palladium chloride. Jika terjadi inkonsistensi antara hasil UV / VIS dan paladium chloride, ulangi analisisnya. Jika,

setelah analisis berulang, inkonsistensi masih ada, sampel harus dilaporkan sebagai "tidak sesuai untuk analisis". Pengecualian ini harus diberi wewenang oleh ahli toksikologi dan didokumentasikan dalam file kasus.

- 6) Hasil positif yang lemah (lebih besar dari 10%) pada spesimen yang membusuk, terdekomposisi atau memburuk dapat dilaporkan kurang dari konsentrasi karboksihemoglobin yang toksik (misalnya, CO-Hb 12% pada spesimen kualitas rendah, yang dikonfirmasi dengan mikrodifusi paladium klorida, dapat dilaporkan sebagai karboksihemoglobin kurang dari 15%). Pengecualian ini harus diberi wewenang oleh ahli toksikologi dan didokumentasikan dalam file kasus.

Catatan

Senyawa belerang (misalnya Hidrogen sulfida dari spesimen putrefikasi) dapat bereaksi dengan PdCl₂. Untuk spesimen putrefied, pengganti timbal asetat 10% asam sulfat dan biarkan berdifusi selama 4 jam.

3. Penetapan Kadar CO-Hb metode Spektrofotometri

a. Alat :

- 1) 2 tabung reaksi 10 ml
- 2) Spektrofotometer
- 3) Flakon
- 4) 2 kuvet
- 5) Spuit 3 cc
- 6) Tourniquet
- 7) Pipet ukur 5 ml
- 8) Mikropipet (10µl – 100µl)
- 9) Yellow tip
- 10) Rak tabung reaksi
- 11) Spatula

b. Bahan :

- 1) Sampel darah 3 cc
- 2) EDTA (Etilen Diamin Tetra Acetic Acid)
- 3) Ammonia 0,1 %
- 4) Sodium dithionit

c. Cara Kerja

1) Pengambilan darah

- a) Menyiapkan spuit dan menguji spuit tersebut untuk memastikan masih berfungsi dengan baik.

- b) Memasang tornikuet dengan kencang pada lengan atas probandus, kurang lebih 5 cm di atas siku.
- c) Menentukan daerah yang akan diambil sampel darah, yaitu daerah vena mediana cubiti.
- d) Mengoleskan alkohol pada tempat yang akan diambil darahnya.
- e) Mengambil darah pasien sebanyak 3 cc dengan menggunakan spuit.
- f) Sampel darah sebanyak 0,5 cc dimasukkan ke dalam flakon yang sebelumnya telah ditambahkan EDTA untuk membuat whole blood (WB).
- g) Sisa sampel darah sebanyak 2.5 cc dimasukkan ke dalam tabung EDTA.

2) Pemeriksaan CO-Hb

- a) Mengambil ammonia 0,1 % sebanyak 20 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
- b) Mengambil sampel *whole blood* sebanyak 10 µl dengan menggunakan yellow tip.
- c) Sampel *whole blood* dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi amonium salisilat 0,1%.
- d) Campuran dari tabung erlenmeyer kemudian dipisahkan ke dalam 2 tabung reaksi (tabung 1 dan tabung 2), masing-masing sebanyak 5 cc :
 - 1) Tabung 1 : tidak ditambah sodium dithionit
 - 2) Tabung 2 : ditambah sodium dithionit sebanyak 1 spatula
- e) Dari masing-masing tabung reaksi, masukkan ke masing-masing kuvet (tingginya sampai 7/8 pada tabung kuvet)
- f) Diukur absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm

d. Nilai normal :

- 1) CO endogen : 0,7 %
- 2) CO-Hb : < 1 %
- 3) Batas toleransi CO-Hb : 2% – < 5 %
- 4) 5% : mulai timbul gejala / tidak normal/ keracunan

4. Tes lainnya

Tes laboratorium lainnya mungkin berguna, tergantung pada tingkat keparahan gejala keracunan. Analisis elektrolit akan mengkonfirmasi asidosis metabolik serta perlu mengukur glukosa darah. Setiap korban keracunan CO yang pingsan rentan terhadap rhabdomyolysis, dan tes skrining kreatin kinase mungkin berguna.

Sebagian besar pasien CO tidak memerlukan neuroimaging untuk mengubah status mental. Jika dilakukan karena alasan lain, tomografi otak yang dihitung dapat menunjukkan perubahan kepadatan rendah pada *globus pallidus* dan materi putih subkortikal pada awal 4 sampai 6 jam setelah keracunan parah. Lesi ini terkait dengan hasil klinis yang buruk. Pencitraan resonansi magnetik mungkin lebih berguna karena lebih unggul dari tomografi terkomputerisasi (*computed tomography*=CT-scan) dalam menunjukkan cedera CO. Terlepas

dari mana modalitas neuroimaging digunakan, tes semacam itu jarang mengubah pengobatan dan umumnya dilakukan untuk kasus yang gagal merespons pengobatan awal atau memiliki diagnosis yang tidak jelas.

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Sebutkan sumber karbonmonoksida!
2. Jelaskan 3 mekanisme toksisitas karbonmonoksida !
3. Jelaskan akibat keracunan karbonmonoksida secara
 - a. Akut
 - b. Kronik
4. Sebutkan gejala keracunan karbonmonoksida!
5. Jelaskan parameter laboratorium pada keracunan karbonmonoksida!

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Epidemiologi keracunan karbonmonoksida
2. Toksisitas keracunan karbonmonoksida
3. Patofisiologi keracunan karbonmonoksida
4. Gejala klinis keracunan karbonmonoksida
5. Analisis Laboratorium keracunan karbonmonoksida Gas CO

Ringkasan

Karbonmonoksida (CO) adalah gas yang tidak berbau, tidak berwarna dan tidak mengiritasi tetapi dapat mengakibatkan keracunan dari yang ringan sampai fatal. Karbonmonoksida dihasilkan dalam jumlah sedikit <1% secara endogen dari proses degradasi heme. Sedangkan sumber dari luar dapat berasal dari proses pembakaran dengan bahan bakar berkarbon, seperti bensin, gas alam, minyak tanah, atau minyak.

Toksisitas CO disebabkan karena gas ini memiliki afinitas lebih tinggi 250 kali terhadap hemoglobin daripada oksigen, akibatnya adalah pergeseran ke kiri dalam kurva disosiasi oxyhemoglobin dan menurunkan ketersediaan oksigen sehingga terjadi hipoksia jaringan. Selain Hb, CO terikat pada protein lain yang mengandung heme, termasuk mioglobin di otot jantung dan otot rangka, sitokrom c oksidase mitokondria serta protein lain yang berakibat stress oksidatif sehingga mengakibatkan gangguan otot jantung, dan sel saraf. Keracunan

karbonmonoksida pada dasarnya ditentukan dengan penetapan kadar CO-Hb dalam darah serta analisis gas darah.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Gas karbonmonoksida memiliki afinitas yang tinggi terhadap hemoglobin dalam eritrosit, maka akibatnya adalah terjadi....
 - A. Anemia
 - B. Hipoksia
 - C. Hemolysis
 - D. Hipotermia
 - E. Leukopenia
2. Pada keracunan, karbonmonoksida juga berikatan dengan enzim sitokrom mitokondria, maka akibatnya adalah terjadi
 - A. Pusing
 - B. Mual
 - C. Penurunan produksi energy
 - D. Penurunan suhu tubuh
 - E. Peningkatan radikal bebas
3. Akibat kekurangan energy berupa ATP maka tubuh mengkompensasi dengan mengaktifkan jalur an aerob, akibatnya adalah terjadi ...
 - A. Laktat asidosis
 - B. Respirasi asidosis
 - C. Metabolic alkalosis
 - D. Metabolic alkalosis
 - E. Aterosklerosis
4. Penegakan diagnosis keracunan karbonmonoksida adalah dengan pemeriksaan
 - A. Kadar hemoglobin
 - B. Kadar deoksi-Hb
 - C. Kadar Met-HB
 - D. Kadar CO-Hb
 - E. Indeks eritrosit

5. Penegakan diagnosis keracunan karbonmonoksida pada korban hidup memerlukan pemeriksaan laboratorium, maka sampel yang diambil adalah
- A. Biopsy otot jantung
 - B. Darah vena atau arteri
 - C. Udara ekspirasi
 - D. Darah kapiler
 - E. Urin

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

- 1) B
- 2) A
- 3) C
- 4) D
- 5) C

Test Formatif 2

- 1. C
- 2. B
- 3. A
- 4. D
- 5. B

Daftar Pustaka

- ATSDR (2006) *Toxicological Profile for Cyanide*. Registry, A.f.T.S.a.D. (ed).
- Barclay, M., Hart, A., Knowles, C., Meeussen, J. and Tett, V. (1998) *Biodegradation of metal cyanides by mixed and pure cultures of fungi*. *Enzyme and microbial technology* 22(4), 223-231.
- Baxter, J. and Cummings, S. (2006) *The current and future applications of microorganism in the bioremediation of cyanide contamination*. *Antonie van Leeuwenhoek* 90(1), 1-17.
- Cacace, D., Ashbaugh, H., Kaori, N., Bledsoe, S., Lancaster, S. and Chalk, S. (2007). *Spectrophotometric determination of aqueous cyanide using a revised phenolphthalin method*. *Analitica Chemica Acta* 589(2007), 137-141.
- Departemen Kesehatan RI, 1998, *Peraturan Menteri Kesehatan RI No.445/Menkes/Per/V/1998, Tentang Bahan, Zat Warna, Sub Stratum, Zat pengawet dan Tabir Surya Pada Kosmetik*, Jakarta.
- Ford, M.D., Delaney, K.A., Ling, L.J., Erickson, T., (2001). Ford: *Clinical Toxicology*, 1st ed., 2001 W. B. Saunders Company.
- Gümüş, G., Demirata, B. and Apak, R. (2000) Simultaneous spectrophotometric determination of cyanide and thiocyanate after separation on a melamine-formaldehyde resin. *Talanta* 53(2000), 305-315.
- Kelada, N.P. (1999) *Irradiation-Distillation apparatus and method for measuring cyanide species.*, United States
- Kao, L.W Kao, Nanagas, K.A. (2006). *Carbon Monoxide Poisoning*. *EmergMedClin N Arn*22 (2004) 985-1018.
- Kjeldsen, P. (1999) *Behaviour of cyanides in soil and groundwater: A review*. *Water, air and soil pollution* 115(1-4), 279-307.
- Kyle, J. (1988) *The extraction and recovery of gold*, WASM Metallurgy Department.

- Luque-Almagro, V.M., Blasco, R., Martinez-Luque, M., Moreno-Vivian, C., Castillo, F. and Roldan, M.D. (2011) *Bacterial cyanide degradation is under review: Pseudomonas pseudoalcaligenes CECT5344, a case of an alkaliphilic cyanotroph*. Biochemical Society Transactions 39(1), 269-274
- Morper, M.R. (1999) *Combination Therapy Tackles Wastewater Toxins Chemical Engineering* 106(8), 66-70.
- Nio, Kam Oey, (1989), *Zat-zat Toksik yang Secara Alamiah Ada pada Bahan Makanan Nabati Cermin Dunia Kedokteran* No.58, 24-28
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. *Antioxidant properties of phenolic compounds: reviews*. Trends in Plant Science2(4):152-159.
- Rose, J.J., Wang, L., Xu, Q., McTiernan, C.F., Shiva,S, Tejero, J, Gladwin, M.T. (2016.) *Carbon Monoxide Poisoning: Pathogenesis, Management, and Future Directions of Therapy*, American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.
- Setiadji, B., Tranggono, Suparno,Sardjono, dan Ibnu Ghalib G, (1990), *Kajian Kimiawi Pangan II, Cetakan Pertama*, Tiara Wacana PUA Pangan dan Gizi UGM,Yogyakarta, Hal 273-28
- Smith, A. and Mudder, T. (1991) *The Chemistry and Treatment of Cyanidation Waste*, Mining Journal Books Ltd., London.
- Suprpti, Lies., (2005). *Tepung Tapioka*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, ISBN 979-21-0854-8
- Wahyudhy, U., (2006), *Keracunan Sianida* (on-line). <http://klikharry.wordpress.com/2006/12/14/keracunan-sianida/>,

Bab 8

ANALISIS SIANIDA DAN KARBON MONOKSIDA

Drs. Mohamad Firman Solihat, MT.

Muji Rahayu, S.S., M.Sc., Apt

Pendahuluan

Bahan tambahan makanan digolongkan menjadi dua, yakni alami dan sintetis. Telah banyak penelitian yang menyebutkan efek samping bahan tambahan makanan. Dalam bab ini akan dibahas toksokinetika bahan tambahan pangan dan patofisiologi terjadinya keracunan serta analisis laboratorium untuk menemukan penyebab.

Pada topik 1 akan dibahas tentang bahan tambahan pangan. Sedangkan pada topik 2 akan dibahas tentang parasetamol yang merupakan salah satu obat analgesik antipiretik yang dijual bebas dan banyak digunakan masyarakat. Akan tetapi juga banyak disalahgunakan oleh pedagang jamu sebagai bahan kimia obat (BKO) yang ditambahkan dalam produk jamu terutama jamu asam urat, pegal linu dan rematik. Sesuai Siaran Pers (Peringatan Publik) oleh BPOM (2014) memaparkan 17 dari 51 jamu jamu dinyatakan positif mengandung parasetamol (BPOM, 2014).

Tujuan dari pembahasan bab ini adalah agar Anda dapat memahami bahan tambahan pangan dan parasetamol, mekanisme toksitasnya serta analisis laboratoriumnya untuk menegaskan diagnosis maupun memantau hasil terapinya.

Topik 1

Bahan Tambahan Pangan

A. DEFINISI

Secara garis besar bahan tambahan makanan digolongkan menjadi dua, yakni alami dan sintetis. Dipandang dari segi manfaat dan risiko, penggunaan bahan tambahan makanan sintetis lebih berbahaya dibandingkan bahan tambahan makanan alami. Aspek keamanan pangan yang menjadi perhatian utama adalah penggunaan bahan tambahan makanan yang melebihi dosis. Seperti diketahui bersama telah banyak penelitian yang menyebutkan efek samping bahan tambahan makanan. Oleh karena itu perlu adanya regulasi dan pengawasan oleh pemerintah dengan kerjasama dari berbagai pihak yang terkait.

Berikut beberapa dosis maksimum penggunaan bahan tambahan makanan. Batas maksimum penggunaan siklamat adalah 500 mg - 3 g/kg bahan, sedangkan untuk sakarin adalah 50-300 mg/kg bahan (Depkes, 1997). Batas Maksimun Penggunaan pewarna sintetis yangizinkan seperti Ponceau 4 : 300mg/Kg bahan makanan, tatrazin, brilliant blue dan sunset yellow: 100mg/Kg bahan makanan (Depkes, 1998).

Sekalipun peraturan mengenai bahan tambahan makanan telah dikeluarkan, akan tetapi masih banyak juga yang tidak atau belum mengindahkannya. Rata-rata pemakai tidak mengetahui kegunaan, bahaya, dosis dan dampak yang mungkin timbul akibat pemakaian bahan tambahan makanan tersebut. Hal tersebut karena dampak pemakaian bahan tambahan makanan baru dirasakan atau disadari setelah lama berselang atau setelah timbul gangguan kesehatan.

Oleh karena itu pemerintah telah berupaya untuk melakukan tindakan pengawasan tentang penggunaan bahan tambahan makanan. Bentuk pengawasan tersebut dilakukan oleh Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Selain itu terdapat pula lembaga lain yang turut serta mengawasi yakni beberapa LSM, seperti YLKI (Yayasan Lembaga Konsumen Indonesia). MUI pun turut serta mengawasi halal atau tidaknya bahan tambahan yang digunakan.

Kategori bahan tambahan makanan berdasarkan aturan penggunaan, dijelaskan sebagai berikut:

1. Aman (*Generally Recognized as Safe* = GRAS)

Bahan tambahan yang termasuk dalam kategori aman adalah bahan yang dosis penggunaannya relatif bebas dan tidak dibatasi. Sebagai conoh, penggunaan amilum sebagai pengental. Menurut *Food and Drug Administration* (FDA), ada sekitar 600 jenis

bahan tambahan makanan yang termasuk dalam daftar zat aditif yang bersifat aman. Meskipun sudah dianggap aman, namun kelak ada kemungkinan bahan-bahan tersebut dicabut dari daftar apabila hasil penelitian lanjutan menunjukkan bahan tersebut berbahaya.

2. Memakai aturan penggunaan (Non-GRAS)

Mengingat tingkat bahaya dan ancaman yang ditimbulkan zat aditif makanan, maka penggunaannya perlu diatur dengan peraturan atau undang-undang. Dalam hal ini Menteri Kesehatan Republik Indonesia telah mengeluarkan beberapa peraturan diantaranya menyangkut dosis maksimal penggunaan. Selain itu pemerintah melalui Menteri Kesehatan juga mengeluarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 722/Menkes/Per/IX/88 tentang Bahan Tambahan Makanan.

Dalam PP no 8 tahun 2004, tentang larangan pemerintah mengenai penggunaan bahan tambahan makanan yang jelas-jelas dilarang penggunaannya. Dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1168/Menkes/Per/X/1999, dijelaskan beberapa bahan tambahan makanan yang dilarang. Pelarangan bahan-bahan tambahan tersebut berdasarkan pada penelitian para ahli.

Berikut ini adalah bahan tambahan makanan yang dilarang penggunaannya oleh pemerintah:

1. Asam Borat (Boric Acid) dan senyawanya
2. Asam Salisilat dan garamnya (Salicylic Acid and its salt)
3. Dietilpirokarbonat (Diethylpirocarbonate DEPC)
4. Dulsin (Dulcin)
5. Kalium Klorat (Potassium Chlorate)
6. Kloramfenikol (Chloramphenicol)
7. Minyak Nabati yang dibrominasi (Brominated vegetable oils)
8. Nitrofurazon (Nitrofurazone)
9. Formalin (Formaldehyde)
10. Kalium Bromat (Potassium Bromate)

PENGAWET

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 tentang Bahan Tambahan makanan, BTP pengawet adalah bahan tambahan pangan yang dapat mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman atau penguraian dan perusakan lainnya terhadap pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme.

Proses pengawetan adalah upaya menghambat kerusakan pangan dari kerusakan yang disebabkan oleh mikroba pembusuk yang mungkin memproduksi racun atau toksin. Tujuan pengawetan yaitu menghambat atau mencegah terjadinya kerusakan, mempertahankan

mutu, menghindarkan terjadinya keracunan dan mempermudah penanganan dan penyimpanan. Daya keawetan pangan berbeda untuk setiap jenisnya. contohnya telur yang diawetkan dapat bertahan 1-2 bulan; daging yang dibekukan dapat awet 6-9 bulan; ikan asin sekitar enam bulan; apel segar yang disimpan dengan kontrol atmosfer (dalam ruang pendingin atau refrigerator/ chiller pada temperatur 6-10 °C) dapat awet sekitar 3 bulan. Secara umum metoda pengawetan dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu :

- a. Penambahan BTP Pengawet
- b. Pemanasan dengan suhu tinggi (Pemanasan)

A. Metode Pengawetan dengan penambahan BTP Pengawet.

Kondisi lingkungan yang beriklim tropis dan kelembaban udara yang tinggi memungkinkan untuk tumbuhnya mikroba perusak makanan. Sesuai dengan peraturan menteri kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 terdapat 26 jenis pengawet yang diijinkan untuk ditambahkan ke dalam makanan dan minuman.

Jenis pengawet yang diizinkan digunakan dalam pangan terdiri dari asam asetat, kalsium asetat, natrium asetat, asam benzoat dan garamnya (kalium benzoat, kalsium benzoat, dan natrium benzoat), asam propionat dan garamnya (kalium propionat, kalsium propionat, dan natrium propionat), asam sorbat dan garamnya (kalium sorbat, kalsium sorbat, dan natrium sorbat), belerang dioksida dan garam sulfit (kalium bisulfit, kalium metabisulfit, kalium sulfit, kalsium bisulfit, natrium bisulfit, natrium metabisulfit, dan natrium sulfit), p-hidroksibenzoat (etil p-hidroksibenzoat, metil p-hidroksibenzoat, dan propil p-hidroksibenzoat), lisozim hidroklorida, nitrat (kalium nitrat dan natrium nitrat), dan nitrit (kalium nitrit dan natrium nitrit).

Penggunaan pengawet diatas diizinkan ditambahkan dengan jumlah tidak melebihi batas maksimum dan sesuai dengan kategori pangan. Pada peraturan Permenkes tersebut juga disebutkan 9 jenis bahan tambahan yang *dilarang* digunakan dalam makanan diantaranya Asam Borat (Boric Acid) dan *Formalin* yang sering disalahgunakan.

Zat pengawet terdiri dari senyawa organik dan anorganik dalam bentuk asam atau garamnya. Setiap jenis bahan pengawet mempunyai aktivitas dan keefektifan masing-masing dalam menghambat pertumbuhan bakteri, khamir ataupun kapang. Zat pengawet organik lebih banyak dipakai daripada yang organik karena bahan ini lebih mudah dibuat dan dipakai dalam bentuk asam maupun garamnya seperti asam sorbat, asam propionat, asam benzoat dan asam asetat.

Zat pengawet anorganik yang masih sering dipakai adalah sulfit, nitrat dan nitrit. Sulfit digunakan dalam bentuk gas SO₂, garam Na, atau K-sulfit, bisulfit dan metabisulft. Bentuk efektifnya sebagai pengawet adalah asam sulfit yang tak terdisosiasi dan terutama terbentuk pada tingkat keasaman (pH) dibawah 3.

a. Kajian Keamanan

Kajian keamanan BTP pengawet mengacu kepada sumber lembaga-lembaga yang berwenang dan dapat dipertanggungjawabkan seperti *Codex Alimentarius Commission* (CAC), *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA), Badan POM RI, *US Food and Drug Administration*, *Food Standard Australian and New Zealand* (FSANZ) dan *European Food Safety Authority* (EFSA).

Berikut adalah beberapa kajian keamanan terhadap bahan pengawet yang sering dipakai dalam produk makanan dan diketahui umum oleh masyarakat:

Asam Benzoat

Asam benzoat (C_6H_5COOH) dan garamnya merupakan bahan pengawet yang banyak digunakan secara luas pada bahan makanan yang bersifat asam. Bahan ini efektif untuk mencegah pertumbuhan khamir, kapang dan bakteri pada tingkat keasaman pH 2.5 – 4.0. Asam benzoat secara alami terdapat dalam tanaman rempah-rempah seperti cengkeh dan kayu manis dan juga buah berry.

Dalam the *Journal of the American Chemical Society* di th 1954, Dr. W. H. Stein melaporkan bahwa benzoate secara natural dimetabolisme dengan cepat dalam tubuh manusia, diserap oleh usus dalam bentuk asam benzoate, dimetabolisme secara cepat dalam waktu 1 sampai 2 hari dieksresi 80% melalui urine sebagai asam hipurat dan asam benzoil glukoronat ($\pm 10\%$), 0.1% melalui paru-paru sebagai CO_2 dan 2% tertinggal dikarkas.

US FDA (*Food Drug Administration*) memuat pengawet benzoat dalam list sebagai kategori aman atau *GRAS* (*generally recognized as safe*). Penggunaan pada produk makanan diperbolehkan tidak melebihi dari 0.1% atau 1000 ppm. JECFA FAO/WHO terakhir mengevaluasi asam benzoat dan garamnya pada tahun 2002 dan menyatakan percobaan pada tikus dalam jangka panjang tidak menunjukkan unsur penyebab kanker atau efek karsinogenik.

Asam Propionat

Asam Propionat (CH_3CH_2COOH) yang mempunyai struktur yang terdiri dari tiga atom karbon tidak dapat dimetabolisasi oleh mikroba. Hewan tingkat tinggi dan manusia dapat memetabolisasi asam propionate ini seperti asam lemak biasa. Propionat efektif terhadap kapang dan beberapa khamir pada makanan dan minuman dengan tingkat keasaman pH diatas 5.

Asam Sorbat

Sorbat digunakan terutama untuk mencegah pertumbuhan kapang dan bakteri. Mekanisme asam sorbat dalam mencegah pertumbuhan mikroba adalah dengan mencegah kerja enzim dehidrogenase terhadap asam lemak. Struktur α -diena pada asam sorbat dapat mencegah oksidasi asam lemak oleh enzim tersebut. Sorbat lebih aktif pada makanan dengan tingkat keasaman diatas 6.5. Sorbat ditemukan secara alami ditanaman buah beri dan dinyatakan sebagai aman (*Generally Recognize as Safe*) oleh *US Food Drug Administration*.

JECFA FAO/WHO terakhir mengevaluasi asam sorbat pada tahun 1973 dan hasil percobaan pada tikus dalam jangka panjang tidak menemukan efek abnormalitas atau kematian. Banyak negara termasuk Indonesia melalui Badan POM RI, Australia (*Food Standard Australian and New Zealand* (FSANZ)) dan Malaysia telah mengatur penggunaan asam sorbat tersebut.

Menurut FDA, bahan tambahan pangan (BTP) adalah zat yang secara sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk menghasilkan sifat fungsional tertentu pada makanan baik secara langsung atau tidak langsung dan menjadi bagian dari makanan tersebut (termasuk zat yang digunakan selama produksi, pengemasan, pengolahan, transportasi, penyimpanan). Kegunaan BTP adalah untuk meningkatkan nilai nutrisi, nilai sensori, dan umur simpan makanan (Belitz dan Grosch 1999). BTP tidak boleh digunakan bila bertujuan untuk menyembunyikan kerusakan atau kebusukan makanan atau untuk menipu konsumen (Fennema, 1996).

Salah satu golongan BTP adalah bahan pengawet. Sejak dahulu, bahan kimia telah ditambahkan untuk mengawetkan pangan segar. Beberapa bahan pengawet kimia seperti gula, garam, nitrit, dan sulfat telah digunakan selama bertahun-tahun. Salah satu alasan meningkatnya penggunaan bahan pengawet kimia adalah perubahan dalam cara produksi dan pemasaran makanan. Sekarang ini, konsumen mengharapkan makanan yang selalu tersedia, bebas dari mikroba patogen, dan memiliki umur simpan yang panjang.

Walaupun telah dikembangkan sistem pengolahan dan pengemasan untuk mengawetkan makanan tanpa bahan kimia, namun bahan pengawet tetap memiliki peranan yang penting dalam melindungi suplai makanan. Hal ini disebabkan perubahan pemasaran makanan menjadi sistem yang lebih global sehingga makanan jarang dipasarkan secara lokal seperti zaman dahulu. Makanan yang diproduksi di satu wilayah, dikirim ke wilayah lain untuk diolah maupun untuk didistribusikan. Oleh karena itu, dibutuhkan waktu berbulan-bulan atau bertahun-tahun dari sejak makanan diproduksi hingga dikonsumsi. Untuk mencapai kebutuhan umur simpan yang panjang, beberapa cara pengawetan sering diperlukan.

U.S. Food and Drug Administration (FDA; 21CFR 101.22(a)(5)) mendefinisikan bahan pengawet kimia sebagai "any chemical that, when added to food, tends to prevent or retard deterioration thereof, but does not include common salt, sugars, vinegars, spices, or oils extracted from spices, substances added to food by direct exposure thereof to wood smoke, or chemicals applied for their insecticidal or herbicidal properties". Bahan pengawet digunakan untuk mencegah atau memperlambat kerusakan baik kerusakan kimia maupun kerusakan biologis. Bahan pengawet yang digunakan untuk mencegah kerusakan kimia di antaranya antioksidan, untuk mencegah autoksidasi pigmen, flavor, lipid, dan vitamin; antibrowning, untuk mencegah pencoklatan enzimatis dan nonenzimatis; dan antistaling untuk mencegah perubahan tekstur. Bahan pengawet yang digunakan untuk mencegah kerusakan biologis disebut dengan antimicrobial agents (Davidson dan Branen 2005).

FDA mendefinisikan antimicrobial agents (21CFR 170.3(o)(2)) sebagai “substances used to preserve food by preventing growth of microorganism and subsequent spoilage, including fungistats, mold, and rope inhibitors”. Fungsi utama bahan antimikroba adalah untuk memperpanjang umur simpan dan mempertahankan kualitas makanan melalui penghambatan mikroba pembusuk (Davidson dan Branen 2005). Mekanisme penghambatan bahan antimikroba pada umumnya adalah reaksi dengan membran sel mikroba yang menyebabkan perubahan permeabilitas atau gangguan pada pengambilan dan transpor, inaktivasi enzim-enzim yang penting, gangguan pada mekanisme genetik, atau penghambatan sintesis protein (Davidson dan Branen 2005).

Bahan antimikroba juga telah banyak digunakan untuk penghambatan atau inaktivasi mikroorganisme patogen di dalam makanan. Beberapa bahan antimikroba telah digunakan untuk mengontrol pertumbuhan patogen tertentu. Misalnya, nitrit dapat menghambat *Clostridium botulinum* pada cured meats; asam organik bertindak sebagai sanitiser terhadap patogen pada karkas sapi; nisin dan lysozyme menghambat *Clostridium botulinum* dalam keju pasteurisasi; laktat dan diasetat dapat menginaktivasi *Listeria monocytogenes* dalam daging olahan (Davidson dan Branen 2005).

Menurut Winarno (1995), bahan pengawet terdiri dari senyawa organik dan anorganik dalam bentuk asam atau garamnya. Bahan pengawet organik lebih banyak dipakai daripada bahan pengawet anorganik karena bahan pengawet organik lebih mudah dibuat. Bahan pengawet organik yang sering dipakai yaitu asam sorbat, asam propionat, asam benzoat, asam asetat, dan epoksida. Sementara bahan pengawet anorganik yang masih sering dipakai adalah sulfit, nitrit, dan nitrat.

Dalam memilih bahan antimikroba, ada beberapa hal yang harus dipertimbangkan (Branen 1983). Pertama, spektrum bahan antimikroba dari komponen yang digunakan. Hal ini bertujuan agar penggunaan bahan antimikroba sesuai dengan target mikroba yang dituju. Bahan pengawet ini memiliki daya kerja yang berbeda-beda, ada yang khusus menghambat bakteri atau khamir atau kapang. Bahan pengawet yang baik adalah bahan yang memiliki spektrum antimikroba yang luas sehingga untuk menghambat beberapa jenis mikroba cukup menggunakan satu jenis bahan pengawet. Kedua, sifat fisik dan kimia bahan antimikroba dan produk pangan. Faktorfaktor seperti pKa, kelarutan bahan antimikroba dan pH dari makanan akan mempengaruhi efisiensi penggunaan bahan antimikroba. Bahan antimikroba seperti asam-asam organik mempunyai efektivitas hanya pada makanan berasam tinggi dengan pH kurang dari pH 4.5 (Davidson dan Branen 2005).

Faktor ketiga adalah kondisi penyimpanan produk dan interaksi produk dengan proses yang lain. Hal ini untuk memastikan bahan antimikroba tetap berfungsi selama penyimpanan produk. Proses pengawetan tertentu akan berpengaruh pada jenis dan kadar bahan antimikroba yang dibutuhkan. Sebagai contoh, penurunan A_w akan menyebabkan tumbuhnya kapang dan khamir,

sehingga membutuhkan bahan antimikroba yang berbeda (Davidson dan Branen 2005). Keempat, keadaan mikroba awal bahan pangan sebelum ditambahkan bahan pengawet. Bahan pangan harus memiliki kualitas awal mikrobiologi yang tinggi yang berarti bahwa jumlah mikroba awal pada bahan pangan tersebut berada pada level yang rendah. Oleh karena itu, bahan pengawet dilarang digunakan jika tujuannya untuk menyembunyikan cara kerja yang bertentangan dengan cara produksi yang baik untuk makanan. Pertimbangan lain dalam memilih bahan antimikroba adalah keamanan dan legalitas komponen bahan antimikroba.

1. ASAM BENZOAT DAN NATRIUM BENZOAT .

Sifat Fisik dan Kimia

Asam benzoat (C_6H_5COOH) dan natrium benzoat (C_6H_5COONa) memiliki struktur kimia seperti pada Gambar 1. Bentuk asam (BM 122.1) dan garam natriumnya (BM 144.1) telah banyak digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dalam makanan. Asam benzoat juga disebut sebagai asam fenilformat atau asam benzenkarboksilat (Chipley 2005). Kelarutan asam benzoat dalam air sangat rendah (0.18, 0.27, dan 2.2 g larut dalam 100 ml air pada $4^\circ C$, $18^\circ C$, dan $75^\circ C$) (Chipley 2005). Asam benzoat termasuk asam lemah (konstanta disosiasi pada $25^\circ C$ adalah 6.335×10^{-5} dan pK_a 4.19), sangat larut dalam etanol dan sangat sedikit larut dalam benzene dan acetone (WHO 2000).

Natrium benzoat berupa bubuk kristalin yang stabil, tidak berbau, berwarna putih dengan rasa menyengat (astringent) yang manis. Natrium benzoat sangat larut dalam air (62.8, 66.0, dan 74.2 gram larut dalam 100 ml air pada $0^\circ C$, $20^\circ C$, dan $100^\circ C$), higroskopik pada RH di atas 50 %, memiliki pH sekitar 7.5 pada konsentrasi 10 g/liter air, larut dalam etanol, metanol, dan etilen glikol (WHO 2000; Chipley 2005). Karena kelarutan natrium benzoat dalam air jauh lebih besar daripada asam benzoat, maka natrium benzoat lebih banyak digunakan.

Asam benzoat terdapat secara alami dalam buah-buahan dan rempah-rempah seperti cranberries, prunes, buah plum, kayu manis, dan cengkeh yang tua atau masak (Fardiaz et al. 1988). Asam benzoat juga terdapat secara alami pada produk-produk fermentasi seperti bir, dairy products, teh, dan anggur (Chipley 2005).



Gambar 8.1. Struktur Asam Benzoat dan Natrium Benzoat (Chipley 2005)

2. Aktivitas dan Mekanisme Penghambatan

Asam benzoat aktif bersifat sebagai antimikroba pada pH rendah yaitu dalam keadaan tidak terdisosiasi (Fardiaz et al. 1988). Semakin tinggi pH, persentase asam tidak terdisosiasi makin kecil sehingga daya kerja benzoat akan semakin rendah. Pengaruh pH pada disosiasi asam benzoat dapat dilihat pada Tabel 1. Karena jumlah asam yang tidak terdisosiasi menurun dengan meningkatnya pH, penggunaan asam benzoat atau natrium benzoat sebagai pengawet makanan terbatas pada makanan yang asam atau memiliki pH rendah. Benzoat paling efektif pada pH 2.524.0 dan kurang efektif di atas pH 4.5 (Davidson dan Juneja 1990).

Tabel 8.1. Pengaruh pH pada Persentase Asam Tidak Terdisosiasi

pH	Asam tidak terdisosiasi (%)
3	93.5
4	59.3
5	12.8
6	1.44
7	0.144

Sumber : Chipley (2005)

Asam benzoat 100 kali efektif dalam larutan asam dan hanya asam yang tidak terdisosiasi yang mempunyai aktivitas antimikroba. Toksisitas natrium benzoat dalam larutan adalah hasil dari molekul asam benzoat yang tidak terdisosiasi (Chipley 2005). Sebagai contoh, pada keadaan netral, kurang lebih 4% natrium benzoat diperlukan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme fermentatif; pada pH 2.322.4 hanya diperlukan konsentrasi 0.0220.03% dan pada pH 3.524.0 (rentang pH sebagian besar jus buah) diperlukan konsentrasi 0.0620.1% (Aurand et al. 1987).

Fungsi utama dari asam benzoat dan natrium benzoat adalah sebagai antimycotic agents. Kebanyakan kapang dan khamir dihambat pada konsentrasi 0.05% sampai 0.1 % asam tidak terdisosiasi (Chipley 2005). Bakteri penghasil racun dan bakteri pembentuk spora secara umum dapat

dihambat pada konsentrasi 0.01% sampai 0.02% asam tidak terdisosiasi, tetapi bakteri pembusuk jauh lebih resisten.

Mekanisme penghambatan mikroba dari asam yang tidak terdisosiasi disebabkan bentuk yang tidak terdisosiasi tidak memiliki muatan. Oleh karena itu, asam yang tidak terdisosiasi dapat larut dalam bagian lipid dari membran sel. Menurut Fardiaz et al. (1988), di dalam sel, asam benzoat akan terdisosiasi menjadi ion H^+ dan radikal asam $^-$. Ion H^+ tersebut mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan ion di dalam sel mikroba dan mikroba akan berusaha mengeluarkannya. Untuk mengeluarkan ion H^+ tersebut, diperlukan energi dalam

jumlah yang besar sehingga mikroba akan kekurangan energi untuk pertumbuhannya.

Hal yang senada juga dikemukakan oleh Lopez et al. seperti dikutip oleh Saragih (2007) bahwa mekanisme kerja bahan pengawet yang terdiri dari asam organik adalah berdasarkan permeabilitas dari membran sel mikroba terhadap molekul-molekul asam yang tidak terdisosiasi. Isi sel mikroba mempunyai pH yang selalu netral. Bila sitoplasma mempunyai pH lebih asam atau basa maka akan terjadi gangguan pada organ-organ sel sehingga metabolisme dalam sel menjadi terhambat. Menurut Chipley (2005), asam benzoat menghambat atau membunuh mikroba dengan mengganggu permeabilitas membran sel mikroba dan menyebabkan gangguan pada sistem transpor elektron.

3. Aplikasi

Sebagai bahan pengawet makanan, kelebihan asam benzoat dan natrium benzoat antara lain harganya yang murah, mudah diaplikasikan ke produk, dan tidak berwarna. Sementara rentang pH yang sempit, terjadinya off flavor pada produk, dan sifat toksikologi dibandingkan dengan bahan pengawet yang lain telah berkontribusi pada usaha untuk mengganti asam benzoat dan natrium benzoat dengan bahan pengawet lain yang memiliki karakteristik lebih baik. Benzoat tidak dapat mengontrol pertumbuhan mikroorganisme pada level yang tinggi dan karenanya tidak dapat digunakan pada makanan yang menggunakan bahan-bahan yang berkualitas rendah atau diolah dengan cara yang buruk.

Natrium benzoat telah digunakan secara luas pada berbagai produk pangan seperti minuman, produk bakeri, dan makanan lain (Tabel 2). Asam benzoat juga digunakan sebagai pengawet dalam industri kosmetik dan farmasi. Umumnya, natrium benzoat dengan konsentrasi 0.1%-0.5 % digunakan pada kosmetik, sedangkan dalam industri farmasi digunakan konsentrasi 0.05%-0.1% (Chipley, 2005). Asam benzoat juga dapat digunakan untuk mengontrol penyakit pascapanen pada berbagai buah dan sayur. Asam benzoat dan turunannya telah disarankan untuk digunakan sebagai fungisida, khususnya terhadap *A. flavus* pada kacang.

Tabel 8.2. Konsentrasi Natrium Benzoat pada Berbagai Produk

Produk pangan	Konsentrasi (%)
Minuman berkarbonasi	0.0320.05
Sirup	0.1
Cider	0.0520.1
Margarin	0.1
Olives	0.1
Pikel	0.1
Relishes	0.1

Kecap	0.1
Jam, jeli, dan preserve	0.1
Pengisi pai dan roti	0.1
Salad buah	0.1
Salad dressing	0.1

Sumber : Davidson dan Juneja (1990)

Menurut FDA, benzoat hingga konsentrasi 0.1 % digolongkan sebagai 'generally recognized as safe' (GRAS). Di negara-negara selain Amerika Serikat, natrium benzoat digunakan hingga konsentrasi 0.15% dan 0.25%. Batas European Commission untuk asam benzoat dan natrium benzoat adalah 0.015-0.5%. Di Indonesia, penggunaan asam benzoat dan natrium benzoat telah diatur dalam SNI 01-0222-1995 tentang Bahan Tambahan Makanan yang kadarnya berkisar dari 0.06 %-0.1 %. Batas maksimum penggunaan asam benzoat dan natrium benzoat pada berbagai jenis makanan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 8.3. Batas Maksimum Penggunaan Asam Benzoat dan Natrium Benzoat di Indonesia

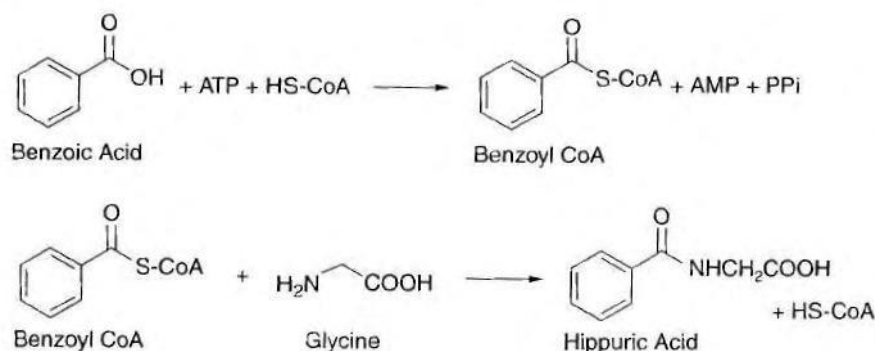
Nama Bahan Tambahan	Jenis atau Bahan Makanan	Batas Maksimum Penggunaan
Asam Benzoat	1. Kecap	600 mg/kg
	2. Minuman ringan	600 mg/kg
	3. Acar ketimun dalam botol	1 g/kg, tunggal atau campuran dengan kalium dan natrium benzoat
	4. Margarin	1 g/kg, tunggal atau campuran dengan garamnya atau dengan
	5. Pekatan sari nanas	1 g/kg, tunggal atau campuran dengan garamnya atau dengan asam sorbat dan garamnya dan senyawa
	6. Saus tomat	1 g/kg
	7. Makanan lain	1 g/kg
Natrium Benzoat	1. Jem dan jeli	1 g/kg, tunggal atau campuran dengan asam sorbat dan garam kaliumnya, atau dengan ester dari
	2. Kecap	600 mg/kg

	3. Minuman ringan	600 mg/kg
	4. Saus tomat	1 g/kg
	5. Makanan lain	1 g/kg

Sumber : SNI 01-0222-1995

4. Mekanisme Detoksifikasi

Benzoat memiliki toksisitas yang rendah terhadap manusia dan hewan karena manusia dan hewan memiliki mekanisme detoksifikasi. Benzoat diabsorpsi dari usus halus dan diaktivasi melalui ikatan dengan CoA untuk menghasilkan benzoyl coenzyme A. Selanjutnya benzoyl coenzyme A berkonjugasi dengan glisin dalam hati untuk membentuk asam hipurat yang kemudian dikeluarkan melalui urin (White et al. 1964 diacu dalam Chipley 2005). Tahap pertama dikatalisis oleh enzim synthetase; tahap kedua dikatalisis oleh enzim acyltransferase. Keseluruhan reaksi dapat dilihat pada Gambar 2. Mekanisme ini mampu mengeluarkan sekitar 66295 % asam benzoat. Sisa benzoat yang tidak dikeluarkan sebagai asam hipurat dapat didetoksifikasi melalui konjugasi dengan asam glukuronat dan dapat dikeluarkan melalui urine.



Gambar 8.2. Proses Detoksifikasi Asam Benzoat (White et al. 1964 diacu dalam Chipley, 2005)

Faktor pembatas dalam biosintesis asam hipurat adalah ketersediaan glisin. Penggunaan glisin dalam detoksifikasi benzoat menyebabkan penurunan kadar glisin dalam tubuh. Oleh karena itu, konsumsi asam benzoat atau garamnya mempengaruhi fungsi tubuh atau proses metabolik yang melibatkan glisin, sebagai contoh penurunan kreatinin, glutamin, urea, dan asam urat (WHO, 2000). Penelitian yang dilakukan oleh Hauschildt et al (1983), menunjukkan bahwa pemberian benzoat pada tikus menyebabkan peningkatan sintesis dan dekarboksilasi glisin.

5. Metode Analisis

Metode analisis untuk penentuan asam benzoat meliputi metode spektrofotometri,

yang memerlukan prosedur ekstraksi yang rumit dan sangat tidak spesifik; Gas Chromatography (GC), yang lebih sensitif dan spesifik tetapi membutuhkan persiapan sampel dan derivatisasi yang panjang sebelum penentuan; High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) yang memiliki spesifisitas tinggi dan persiapan sampel yang minimum dan tidak memerlukan derivatisasi (WHO 2000).

Metode AOAC Official Methods antara lain metode GC yang diaplikasikan pada jus apel, pasta almond, dan homogenat ikan pada konsentrasi 0.522 g/kg, liquid chromatography yang digunakan untuk penentuan 0.5210 ppm asam benzoat dalam jus jeruk (AOAC 983.16 1999; AOAC 994.11 1999; Wood et al. 2004). Karakteristik kedua metode ini dapat dilihat pada Lampiran 1. Analisis kadar asam benzoat dalam minuman ringan bersoda secara kromatografi cair kinerja tinggi dilakukan oleh Hayun et al. (2004). Karakteristik metode yang didapat adalah sebagai berikut : limit deteksi sebesar 0.2 ppm; limit kuantisasi sebesar 0.852; rentang kurva kalibrasi antara 1260 ppm; dan persen perolehan kembali sebesar 98.73 %.

C. VALIDASI DAN VERIFIKASI METODE

Metode analisis mempunyai atribut tertentu seperti ketepatan, ketelitian, spesifisitas, sensitivitas, kemandirian, dan kepraktisan yang harus dipertimbangkan ketika memilih metode yang cocok untuk memecahkan masalah tertentu (Garfield et al, 2000). Namun atribut-atribut tersebut tidak mungkin semuanya dapat dioptimalkan selama analisis. Karena itu semua informasi yang ada harus dievaluasi dan diputuskan karakteristik metode yang cocok dan tingkat ketidakpastian yang dapat diterima. Informasi ilmiah ini harus seimbang dengan pertimbangan praktis seperti waktu, biaya, resiko kesalahan, dan tingkat keahlian yang diperlukan.

Pemilihan metode yang tepat sangat penting dalam analisis. Pemilihan sebuah metode sangat tergantung dari tujuan pengukuran. Sebagai contoh, metode yang digunakan untuk pengukuran rapid online processing mungkin kurang akurat dibandingkan dengan metode standar (Nielsen 2003). Metode yang dipilih adalah metode yang telah diuji dan divalidasi; metode yang telah direkomendasikan dan diadopsi oleh organisasi internasional; metode yang sederhana, biaya rendah, atau cepat; metode yang banyak diaplikasikan ke banyak substrat atau analit (Garfield et al. 2000). Menurut Hadi (2007), sebuah laboratorium harus memilih metode yang sesuai yang sudah dipublikasikan dalam standar internasional, regional, atau nasional, atau oleh organisasi teknis yang mempunyai reputasi, atau dari teks atau jurnal ilmiah yang relevan, atau sesuai dengan spesifikasi pabrik pembuat alat. Selain itu, metode yang dikembangkan atau diadopsi oleh laboratorium juga dapat digunakan bila sesuai dan telah divalidasi.

Untuk mendapatkan data yang valid, di samping pengujian dilakukan oleh personel yang kompeten dengan peralatan dan instrumentasi yang telah dikalibrasi, penggunaan

metode yang valid juga memegang peranan yang sangat penting (Hadi, 2007). Dengan metode yang valid, tingkat akurasi dan presisi data hasil pengujian dapat diketahui. Konsekuensinya, laboratorium harus memvalidasi metode sebelum metode tersebut digunakan.

Validasi metode adalah suatu proses untuk mengkonfirmasi bahwa prosedur analisis yang dilakukan untuk pengujian tertentu sesuai dengan tujuan yang diharapkan (Huber, 2001). Sedangkan menurut Garfield et al (2000), validasi metode adalah sebuah proses yang penting dari program jaminan mutu hasil uji dimana sifat-sifat dari sebuah metode ditentukan dan dievaluasi secara obyektif. Hasil dari validasi metode dapat digunakan untuk menilai kualitas, tingkat kepercayaan (reliability), dan konsistensi hasil analisis; itu semua menjadi bagian dari praktek analisis yang baik (Huber, 2001).

Laboratorium harus memvalidasi metode tidak baku, metode yang didesain/dikembangkan laboratorium, metode baku yang digunakan di luar lingkup yang dimaksudkan, dan penegasan serta modifikasi dari metode baku

untuk mengkonfirmasi bahwa metode itu sesuai untuk penggunaan yang dimaksudkan (Hadi, 2007). Apabila laboratorium menggunakan metode standar yang telah dipublikasi dan sudah divalidasi oleh lembaga atau organisasi nasional maupun internasional, idealnya laboratorium itu harus memvalidasi metode tersebut meskipun hanya meliputi aspek-aspek tertentu saja. Hal ini dimaksudkan agar laboratorium yang bersangkutan memiliki data validasi yang merupakan bukti obyektif yang berlaku di laboratorium tersebut dan sesuai dengan kebutuhannya. Validasi metode dengan aspek pengujian yang terbatas disebut juga verifikasi metode (Hadi 2007).

Pemilihan parameter validasi tergantung pada beberapa faktor seperti aplikasi, sampel uji, tujuan metode, dan peraturan lokal atau internasional. Parameter-parameter validasi meliputi ketepatan/recovery, ketelitian, spesifisitas, limit deteksi, limit kuantisasi, linearitas, rentang, robustness, dan ruggedness (ICH 1996). Ketepatan menyatakan kedekatan dengan nilai yang dapat diterima, baik nilai sebenarnya maupun nilai pembanding. Ketepatan dilaporkan sebagai persen recovery. Ketelitian menyatakan kedekatan antara satu seri pengukuran yang diperoleh dari pengambilan ganda terhadap contoh homogen yang sama pada kondisi tertentu.

Spesifisitas menyatakan kemampuan metode untuk menilai secara pasti analit yang berada bersama komponen lain. Komponen lain dapat berupa hasil urai, pengotor, dan matriks contoh. Limit deteksi menyatakan jumlah analit terkecil yang dapat dideteksi dalam contoh. Limit kuantisasi menyatakan jumlah terendah analit dalam contoh yang secara kuantitatif dapat ditetapkan dengan ketelitian dan ketepatan yang sesuai. Linearitas menyatakan kemampuan metode analisis untuk memberikan hasil uji yang secara langsung

proporsional terhadap konsentrasi analit dalam contoh pada rentang yang ditentukan.

Rentang adalah interval antara konsentrasi tertinggi dan terendah analit dalam contoh yang telah dibuktikan bahwa prosedur analisis ketepatan, ketelitian, dan linearitas pada tingkat yang sesuai. Robustness ialah ukuran

kemampuan metode analisis untuk tidak terpengaruh oleh perubahan kecil variasi yang sengaja dibuat dalam parameter metode analisis dan memberikan indikasi keandalannya dalam penggunaan secara normal. Ruggedness adalah derajat reproduibilitas hasil uji yang diperoleh dari analisis contoh yang sama pada berbagai kondisi pengujian normal. Karakteristik validasi metode pengujian dapat dilihat pada Tabel 4

Tabel 8.4. Validasi Metode Pengujian

Karakteristik yang dievaluasi	Prosedur yang harus diikuti	Jumlah pengujian
Presisi (Repitibilitas)	Pengulangan analisis terhadap	Setidak-tidaknya 7 kali setiap tipe matrik
Ketahanan (Robustness)	Analisis sampel dan sampel yang diperkaya (spiked samples) serta	Pengulangan analisis setidak-tidaknya 7 kali oleh analis yang berbeda
Reproduktibilitas (Ruggedness)	Analisis oleh operator yang berbeda (biasanya melalui uji banding antar	Pengulangan pengujian oleh analis yang berbeda, laboratorium yang berbeda,
Uji pungut ulang/uji temu balik (Recovery test)	Analisis (spike) pada konsentrasi yang sesuai	Setidak-tidaknya 7 kali setiap 3 konsentrasi pada tipe
	Analisis bahan acuan bersertifikat (Certified Reference Materials/CRMs)	setidak-tidaknya 7 kali setiap bahan acuan bersertifikat (CRM)
Selektivitas (gangguan) Efek	Analisis (spiked samples), standar bahan acuan (CRMs)	Setidak-tidaknya 7 kali setiap 3 konsentrasi tiap matrik sampel
Batas deteksi Batas kuantitas	Analisis blanko dan (spiked samples) pada level rendah	Setidak-tidaknya 7 kali setiap tipe matrik sampel

Rentang linearitas	Analisis (spiked samples) dan standar	Setidak-tidaknya 7 kali setiap 5 konsentrasi pada
Akurasi (bias, kesalahan sistematis)	Bahan acuan (CRMs, jika tersedia)	Setidak-tidaknya 7 kali pengulangan analisis tiap CRM

Sumber : Hadi (2007)

Antioksidan

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 tentang Bahan Tambahan Makanan, Antioksidan Adalah Bahan tambahan makanan yang dapat mencegah atau menghambat oksidasi.

Antioksidan adalah bahan tambahan yang digunakan untuk melindungi komponen-komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap), terutama lemak dan minyak. Meskipun demikian antioksidan dapat pula digunakan untuk melindungi komponen lain seperti vitamin dan pigmen, yang juga banyak mengandung ikatan rangkap di dalam strukturnya.

Adanya ion logam, terutama besi dan tembaga, dapat mendorong terjadinya oksidasi lemak. Ion-ion logam ini seringkali diinaktivasi dengan penambahan senyawa pengkelat, dan dapat juga disebut bersifat sinergistik dengan antioksidan karena menaikkan efektivitas antioksidan utamanya.

Untuk dapat digunakan sebagai antioksidan, suatu senyawa harus mempunyai sifat-sifat : tidak toksik, efektif pada konsentrasi rendah (0,01-0,02%), dapat terkonsentrasi pada permukaan/lapisan lemak (bersifat lipofilik) dan harus dapat tahap pada kondisi pengolahan pangan umumnya.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat digolongkan ke dalam dua jenis. *Pertama*, antioksidan yang bersifat alami, seperti komponen fenolik/flavonoid, vitamin E, vitamin C dan beta-karoten. *Kedua*, antioksidan sintesis seperti BHA (*Butylated Hydroxyanisole*), BHT (*Butylated Hydroxytoluene*), PG (Propil Galat), dan TBHQ (*di-t-Butyl Hydroquinone*). Tabel 1 menunjukkan komponen-komponen flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan beserta sumbernya

BHA (Butylated Hydroanisole). BHA merupakan campuran dua isomer, yaitu 2- dan 3-tertbutilhidroksianisol. Di antara kedua isomer tersebut, isomer 3-tert memiliki aktivitas antioksidan yang lebih efektif dibandingkan isomer 2-tert. Bentuk fisik BHA adalah padatan putih menyerupai lilin, bersifat larut dalam lemak dan tidak larut dalam air.

BHT (Butylated Hydroxytoluene). Sifat-sifat BHT sangat mirip dengan BHA dan

bersinergis dengan BHA.

Propil Galat. Propil galat merupakan ester propanol dari asam trihidroksi benzoat. Bentuk fisik propil galat adalah kristal putih. Propil galat memiliki sifat-sifat : (1) dapat bersinergis dengan BHA dan BHT, (2) sensitif terhadap panas, (3) membentuk kompleks berwarna dengan ion logam, oleh karenanya jika dipakai dalam makanan kaleng dapat mempengaruhi penampakan produk.

TBHQ (Tertiary Butylhydroquinone). TBHQ merupakan antioksidan yang paling efektif dalam minyak makan dibandingkan BHA, BHT, PG dan tokoferol. TBHQ memiliki sifat-sifat: (1) bersinergis dengan BHA (2) cukup larut dalam lemak (3) tidak membentuk kompleks dengan ion logam tetapi dapat berubah menjadi merah muda, jika bereaksi dengan basa

Dosis penggunaan tiap-tiap antioksidan sintetis ini tidak sama untuk masing-masing negara. Tabel 2 menunjukkan dosis pemakaian antioksidan BHA, BHT, Galat dan TBHQ di beberapa negara

Jenis-jenis Antioksidan

Jenis antioksidan yang diizinkan digunakan dalam pangan terdiri dari:

- a. *Ascorbic Acid* (Asam askorbat dan garamnya (natrium askorbat, kalsium askorbat, dan kalium askorbat))
- b. *Ascorbil palmitate* (Askorbil palmitat)
- c. *Ascorbil stearate* (Askorbil stearat)
- d. *Erythroic Acid* ((Asam eritroat dan garamnya (natrium eritroat))
- e. *Tertiary butyl hydroquinone (TBHQ)* (Butil Hidrokinon Tersier)
- f. *Butylated hydroxyanisole (BHA)* (Butil Hidroksianisol)
- g. *Butylated hydroxy Toluene (BHT)* (Butil Hidroksitoluen)
- h. *Propyl gallate* (Propil galat)
- i. *Tocopherol* (tokoferolcampuran pekat, alfa tokoferol dan gama tokoferol), yang telah diyakini keamanannya.
- j. *Dilauryl Thiodipropionate* (Dilauril Tiodipropionat)
- k. *Stannous Chloride* (Timah II Klorida)

ANTI KEMPAL

Definisi

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 722/MENKES/PER/ IX/88, anti kempal dapat mencegah pengempalan makanan yang berupa serbuk. Contoh: aluminium silikat (susu bubuk), dan kalsium aluminium silikat (garam meja).

Fungsi Anti Kempal adalah senyawa anhidrat yang dapat mengikat air tanpa menjadi basah dan biasanya ditambahkan ke dalam bahan pangan yang bersifat bubuk atau partikulat seperti garam meja, campuran kering (*dry mixes*), dan lain-lain. Penambahan senyawa anti kempal bertujuan untuk mencegah terjadinya penggumpalan dan menjaga agar bahan tersebut tetap

dapat dituang (*free flowing*).

Mekanisme Kerja

Senyawa anti kempal biasanya merupakan garam-garam anhidrat yang bersifat cepat terhidrasi dengan mengikat air, atau senyawa-senyawa yang dapat mengikat air melalui pengikatan di permukaan (*surface adhesion*) tanpa menjadi basah dan menggumpal. Senyawasenyawa tersebut biasanya adalah senyawa yang secara alami berbentuk hampir kristal (*near crystalline*). Senyawa anti kempal dapat digolongkan menjadi :

- a. Garam (aluminium, amonium, kalsium, potassium, dan sodium).
- b. Kalsium posfat.
- c. Magnesium oksida.
- d. Garam (magnesium, kalsium, dan campuran kalsium aluminium) dari asam silikat.

Senyawa golongan 1, 2, dan 3 membuat hidrat, sedangkan senyawa 4 dan 5 menyerap air. Senyawa anti kempal biasanya dapat dimetabolisme atau tidak toksik pada tingkat penggunaan yang diizinkan. Kalsium silikat banyak digunakan untuk menghindari penggumpalan *baking powder* dan mempunyai kemampuan untuk mengikat air 2,5 kali dari beratnya. Selain mengikat air, kalsium silikat juga dapat mengikat minyak dan senyawa-senyawa nonpolar lainnya.

Sifat inilah yang membuat kalsium silikat banyak digunakan di dalam campuran-campuran yang mengandung bumbu, terutama yang kandungan minyak atsirinya tinggi. Kalsium stearat sering digunakan sebagai *processing aid* dalam pembuatan permen keras (*hard candy*). Senyawa anti kempal yang relatif baru dikembangkan adalah bubuk selulose berkrystal mikro (*microcrystalline cellulose powder*). Senyawa ini banyak dipakai untuk produk keju parut agar tidak membentuk gumpalan

Bahan-bahan makanan yang tergolong bahan anti kempal di antaranya:

- a. *Aluminium Silicate* (Aluminium silikat)
- b. *Calcium Aluminium Silicate* (Kalsium aluminium silikat)
- c. *Calcium Silicate* (Kalsium silikat)
- d. *Magnesium Carbonate* (Magnesium karbonat)
- e. *Magnesium Oxide* (Magnesium oksida)
- f. *Magnesium Silicate* Magnesium silikat
- g. *Sodium Alumino Silicate* (Natrium alumino silikat)
- h. *Myristic Acid, Palmitic Acid and Stearic Acid* (Miristat, palmitat dan stearat)
- i. *Silicon Dioxide amorphus* (Silikon Dioksida Amorf)
- j. *Calcium Phosphate, Tribasic* (Tri-kalsium fosfat)
- k. *Magnesium Phosphate, Tribasic* (Trimagnesium fosfat)

PENGATUR KEASAMAN

Defenisi

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/ Per/IX/1988 tentang Bahan Tambahan Makanan, Pengatur keasaman adalah bahan tambahan makanan yang dapat mengasamkan, menetralkan dan mempertahankan derajat keasaman makanan. Zat aditif ini dapat mengasamkan, menetralkan, dan mempertahankan derajat keasaman makanan. Contoh: asam asetat, aluminium amonium sulfat, amonium bikarbonat, asam klorida, asam laktat, asam sitrat, asam tentrat, dan natrium bikarbonat.

Fungsi Asam, baik organik maupun anorganik, secara alami terdapat di dalam bahan pangan. Keberadaannya beragam, dari sebagai metabolit antara hingga sebagai komponen pendapar (*buffering agent*). Asam seringkali ditambahkan ke dalam bahan pangan dan proses pengolahan pangan.

Fungsinya yang paling penting adalah sebagai senyawa pendapar. Asam dan garamnya sering pula ditambahkan sebagai campuran pembentuk adonan (*leavening system*), sebagai antimikroba dan senyawa pengkelat. Asam berperan sangat penting dalam pembentukan gel pektin, dapat bertindak sebagai penghilang busa (*defoaming agent*) dan membantu proses denaturasi protein dalam pembuatan yogurt, keju, dan produk-produk fermentasi susu lainnya. Dalam proses pengolahan buah dan sayuran, asam sering ditambahkan untuk menurunkan pH dan mengurangi kebutuhan panas selama proses sterilisasi. Fungsi lain dari asam yang tak kalah pentingnya, tentu saja adalah kontribusinya terhadap rasa dan aroma bahan pangan. Asam juga mempunyai kemampuan untuk mengubah dan meningkatkan intensitas rasa dari komponen citarasa lainnya. Asam lemak rantai pendek berkontribusi terhadap aroma berbagai makanan.

Bahan-bahan yang tergolong pengatur keasaman di antaranya:

- a. *Alumunium Amonium Sulfat*
- b. *Aluminium Natrium Sulfat*
- c. *Alumunium kalium Sulfat*
- d. *Amonium Bikarbonat*
- e. *Amonium Hidroksida*
- f. *Amonium Karbonat*
- g. *Asam Adipat*
- h. *Asam Asetat Glasial*
- i. *Asam Fosfat*
- j. *Asam Fumarat*
- k. *Asam Klorida*
- l. *Asam Laktat*
- m. *Asam Malat*

- n. *Asam Sitrat*
- o. *Asam Tartrat*
- p. *Diamonium Fosfat*
- q. *Dikalsium Fosfat*
- r. *Dinatrium Fosfat*
- s. *kalium Bikarbonat*

PEMANIS BUATAN

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 tentang Bahan Tambahan Makanan, Pemanis buatan adalah bahan tambahan makanan yang dapat menyebabkan rasa manis pada makanan, yang tidak atau hampir tidak mempunyai nilai gizi.

Yang dimaksud dengan BTP Pemanis Buatan adalah BTP yang dapat menyebabkan rasa manis pada produk pangan yang tidak atau sedikit mempunyai nilai gizi atau kalori. Bahan ini hanya boleh ditambahkan ke dalam produk pangan dalam jumlah tertentu. Pemanis buatan pada awalnya diproduksi komersial untuk memenuhi ketersediaan produk makanan dan minuman bagi penderita Diabetes mellitus yang harus mengontrol kalori makanannya. Dalam perkembangannya, pemanis buatan juga digunakan untuk meningkatkan rasa manis dan citarasa produk-produk yang mengharuskan rasa manis dan di dalamnya sudah terkandung gula. Ketentuan terkait pemanis buatan dikeluarkan BPOM berupa SK Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Nomor : HK.00.05.5.1.4547 tentang Persyaratan Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan Dalam Produk Pangan.

Peraturan Teknis ini terdiri dari :

- a) Ketentuan Umum berisi definisi dan informasi yang perlu diketahui.
- b) Penggunaan Pemanis Buatan Dalam Produk Pangan.
 - Penggunaan Umum Pemanis Buatan.
 - Penggunaan Pemanis Buatan Golongan Poliol.
 - Persetujuan Penggunaan Pemanis Buatan.
 - Larangan Penggunaan Pemanis Buatan Dalam Produk Pangan.
- c) Ketentuan Label.
- d) Pengawasan dan Pembinaan.
- e) Sanksi.
- f) Ketentuan Peralihan.

Selanjutnya Peraturan Teknis ini dituangkan dalam bentuk SNI 01-6993 2004. Jenis Pemanis Buatan SNI 01-6993-2004 mengatur 13 jenis pemanis buatan. Dalam hal ini, batas maksimum penggunaan pemanis buatan dibuat per kategori pangan.

Tabel 8.5. Jenis BTP Pemanis Buatan beserta Nilai Kalori dan ADI

No	Jenis BTP Pemanis Buatan	Nilai Kalori		ADI* Mg/kg BB
		Kkal /g	KJ/g	
1	Alitam	1,4	5,85	0,34
2	Asesulfam-K	0	0	15
3	Aspartam	0,4	1,67	50
4	Isomalt	22	28,36	tidak dinyatakan karena termasuk Generally Recognized as Safe (GRAS)
5	Laktitol	2	8,36	tidak dinyatakan karena termasuk GRAS
6	Maltitol	2,1	8,78	tidak dinyatakan karena termasuk GRAS
7	Manitol	1,6	6,69	tidak dinyatakan karena termasuk GRAS
8	Neotam	0	0	2
9	Sakarin	0	0	5
10	Siklamat	0	0	11
11	Silitol	2,4	10,03	tidak dinyatakan karena termasuk GRAS
12	Sorbitol	2,6	10,87	tidak dinyatakan karena termasuk GRAS
13	Sukralosa	0	0	15

* ADI : *Acceptable Daily Intake* (Asupan harian yang dapat diterima) yaitu istilah untuk menentukan jumlah maksimum suatu pemanis buatan yang dinyatakan dengan mg/kg berat badan yang dapat dikonsumsi setiap hari selama hidup tanpa menimbulkan efek merugikan terhadap kesehatan.

Pemanis Non Kalori

Pemanis non kalori umumnya dibuat dari bahan sintetis atau bahan kimia. Pemanis non kalori mempunyai kadar manis yang kuat, jauh lebih kuat dari manis gula alami atau sukrosa. Beberapa pemanis buatan yang masuk pada pemanis non kalori adalah :

a) Alitam (INS 956)

- Memiliki rumus kimia ($C_{14}H_{25}N_3O_4S \cdot 2.5H_2O$.)
- Dibuat dari sintesis asam amino L-asam aspartat dan Alanin.
- Kadar manis 2.000 kali tingkat sukrosa.

b) Asesulfam-K (INS 950)

- Memiliki rumus kimia $C_4H_4KNO_4S$.
- Kadar manis 200 kali tingkat sukrosa

c) Aspartam (INS 951)

- Memiliki rumus kimia $C_{14}H_{18}N_2O_5$.
- Kadar manis 220 kali tingkat sukrosa

d) Siklalat (INS 952)

- Memiliki rumus kimia $C_6H_{13}NO_3S$.
- Kadar manis 30 kali tingkat sukrosa.

e) Sakarin (INS 954)

- Memiliki rumus kimia $C_{14}H_8CaN_2O_6S_2 \cdot 3H_2O$ atau $C_7H_4KNO_3S \cdot 2H_2O$ atau $C_7H_4NaNO_3S \cdot 2H_2O$
- Kadar manis 300 sampai 500 kali tingkat sukrosa

f) Neotam (INS 961)

- Memiliki rumus kimia $C_{20}H_{30}N_2O_5$
- Kadar manis 7.000 sampai 13.000 kali tingkat sukrosa.

g) Manitol (INS 421)

- Memiliki rumus kimia $C_6H_{14}O_6$.
- Dibuat dengan cara hidrogenasi maltosa yang diperoleh dari hidrolisis pati.
- Kadar manis 0,7 kali tingkat sukrosa.
- Dapat menimbulkan efek laksatif jika dikonsumsi lebih dari 20 g/hari.

h) Sorbitol (INS 420)

- Memiliki rumus kimia $C_6H_{14}O_6$.
- Kadar manis 0,5-0,7 kali tingkat sukrosa.
- Dapat menimbulkan efek laksatif, jika dikonsumsi lebih dari 50 g/hari.

i) Silitol (INS 967)

- Memiliki rumus kimia $C_5H_{12}O_5$.
- Umum terdapat pada buah dan sayur.
- Kadar manis sama dengan sukrosa.

j) Laktitol (INS 966)

- Memiliki rumus kimia $C_{12}H_{24}O_{11}$.
- Dibuat dari proses reduksi glukosa yang berasal dari disakarida laktosa.
- Kadar manis 0,3-0,4 kali tingkat sukrosa.
- Dapat menimbulkan efek laksatif jika dikonsumsi lebih dari 20 g/hari.

k) Isomalt (INS 953)

- Dibuat dari sukrosa melalui dua tahap proses enzimatik, mengandung glukomanitol dan glukosorbitol.

- Kadar manis 0,45-0,65 kali tingkat sukrosa.

l) Maltitol (INS 965)

- Memiliki rumus kimia $C_{12}H_{24}O_{11}$.
- Dibuat dengan cara hidrogenasi maltosa yang diperoleh dari hidrolisis pati.
- Kadar manis 0,9 kali tingkat sukrosa.

m) Sukralosa (INS 955)

- Memiliki rumus kimia $C_{12}H_{19}Cl_3O_8$.
- Kadar manis 600 kali tingkat sukrosa.

PEMUTIH DAN PEMATANG TEPUNG

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 tentang Bahan Tambahan Pangan, Pemutih dan pematang tepung adalah bahan tambahan makanan yang dapat mempercepat proses pemutihan dan atau pematang tepung sehingga dapat memperbaiki mutu pemanggangan.

Bahan sekuestran seperti asam Etilen Diamin Tetra Asetat (EDTA), bisa menimbulkan gangguan pada absorpsi mineral-mineral esensial seperti tembaga, besi, dan seng. Bahan tambahan makanan yang digunakan untuk memperbaiki tekstur, yaitu karboksimetil selulosa, epiklorohidrin, natrium dan kalsium karagenan, polieksietilen stearat, saponin, dan natrium alginat.

Penggunaan karboksimetil selulosa dapat menyebabkan gangguan pada usus, dan bersifat karsinogenik. Saponin mengakibatkan efek pada masa kehamilan, dan gangguan darah. Karagen bisa memicu luka pada hati, efek pada sistem imun, karsinogenik, dan menyebabkan bisul pada perut. Penggunaan Epiklorohidrin secara berlebihan dapat menyebabkan kerusakan ginjal, karsinogenik, dan bahkan efek perubahan pada kromosom. Polieksietilen stearat dapat menyebabkan efek pada usus lambung dan urin, seperti batu pada tumor, dan kandung kemih. Sedangkan penggunaan natrium alginat dapat menyebabkan reaksi alergi dan penyerapan pada mineral esensial.

Bahan-bahan yang termasuk bahan pemutih dan pematang tepung di antaranya:

- Asam Askorbat
- Aseton Peroksida
- Azodikarbon Amida
- Kalsium stearoil
- Natrium Stearil Fumarat
- Natrium Stearoil
- L-Sisteina (Hidroklorida)

Beberapa bahan tambahan makanan seperti pembentuk cita rasa seperti koumarin, safrol, minyak kalamus, dan sinamil antranilat, semuanya dilarang. Masing-masing mempunyai daya pengoksidasi yang tinggi, sehingga tidak bisa digunakan sebagai BTM mamin

berlemak, karena akan memicu ketengikan. Bahan pemutih dan pematang yang diizinkan adalah asam askorbat.

PENGEMULSI, PEMANTAP DAN PENGENTAL

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 tentang Bahan Tambahan makanan, Pengemulsi, pemantap, dan pengental adalah bahan tambahan makanan yang dapat membantu terbentuknya atau memantapkan sistem dispersi yang homogen pada makanan.

Emulsi adalah suatu sistem yang terdiri dari dua fase cairan yang tidak saling melarut, di mana salah satu cairan terdispersi dalam bentuk globula-globula di dalam cairan lainnya. Cairan yang terpecah menjadi globula-globula dinamakan fase terdispersi, sedangkan cairan yang mengelilingi globula-globula dinamakan fase kontinyu atau medium dispersi

Istilah pengemulsi (emulsifier) atau surfaktan dalam beberapa hal kurang tepat. Alasannya, bahan ini dapat melakukan beberapa fungsi yang pada beberapa jenis produk tidak berkaitan langsung dengan pembentukan emulsi sama sekali.

Fungsi-fungsi pengemulsi pangan dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan utama yaitu :

- a. Untuk mengurangi tegangan permukaan pada permukaan minyak dan air, yang mendorong pembentukan emulsi dan pembentukan kesetimbangan fase antara minyak, air dan pengemulsi pada permukaan yang memantapkan antara emulsi.
- b. Untuk sedikit mengubah sifat-sifat tekstur, awetan dan sifat-sifat reologi produk pangan, dengan pembentukan senyawa kompleks dengan komponen-komponen pati dan protein.
- c. Untuk memperbaiki tekstur produk pangan yang bahan utamanya lemak dengan mengendalikan keadaan polimorf lemak.

Sistem kerja emulsifier berhubungan erat dengan tegangan permukaan antara kedua fase (tegangan interfisial). Selama emulsifikasi, emulsifier berfungsi menurunkan tegangan interfisial sehingga mempermudah pembentukan permukaan interfisial yang sangat luas. Bila tegangan interfisial turun sampai di bawah 10 dyne per cm, maka emulsi dapat dibentuk. Sedangkan bila tegangan interfisial mendekati nilai nol, maka emulsi akan terbentuk dengan spontan.

Berikut ini adalah contoh-contoh emulsifier yang umum digunakan dalam bahan pangan :

- a. *Mono dan Diglycerides*, dikenal juga dengan istilah discrete substances. Pertama kali dibuat oleh Berthelot pada tahun 1853 melalui reaksi esterifikasi asam lemak dan glycerol. Mono dan diglycerides merupakan zat pengemulsi yang umum digunakan. Komponen-komponen ini dapat diperoleh dengan memanaskan triglyceride dan glycerol dengan suatu katalis yang bersifat basa. Reaksi ini akan menghasilkan campuran yang terdiri dari ± 45 persen monogliserida dan ± 45 persen digliserida,

serta $\pm$ 10 persen trigliserida bersamasama dengan sejumlah kecil gliserol dan asam-asam lemak bebas. Mono dan digliserida yang terbentuk kemudian dipisahkan dengan cara destilasi molekuler. Yang tergolong mono dan diglycerides antara lain:

- *Glycerol monolaurate*, dibuat dari reaksi glycerol dan asam laurat.
- *Ethoxylated mono dan diglycerides (EMG)*, juga disebut dengan *polyoxyethylene (20) mono dan diglycerides*.
- *Diacetyl tartaric acid ester of monoglycerides (DATEM)*.
- *Lactic acid ester of monoglycerides*, misalnya *glyceril lactylpalmitate*.
- *Succinylated monoglycerides*

- b. *Stearoyl Lactylates*, merupakan hasil reaksi dari steric acid dan lactic acid, selanjutnya diubah ke dalam bentuk garam kalsium dan sodium. Bahan pengemulsi ini sering digunakan dalam produk-produk bakery.
- c. *Propylene Glycol Ester*, merupakan hasil reaksi dari propylene glycol dan asam-asam lemak. Umumnya digunakan dalam pembuatan kue, roti dan *whipped topping*.
- d. *Sorbitan Esters*. Asam sorbitan yang terbentuk dari reaksi antara sorbitan dan asam lemak. Sorbitan adalah produk dihidrasi dari gula alkohol yang dapat diperoleh secara alami yaitu sorbitol. Sampai saat ini hanya sorbitan monostearat, satu-satunya ester sorbitan yang diizinkan digunakan dalam pangan. Bahan tersebut umumnya digunakan dalam pembuatan kue, *whipped topping*, *cake icing*, *coffee whiteners*, serta pelapis pelindung buah dan sayuran segar.
- e. *Polysorbates*. Ester polioksietilen sorbitan umumnya disebut polisorbat. Ester ini dibuat dari reaksi antara ester-ester sorbitan dan ethylene oxide. Tiga jenis polisorbat yang diizinkan untuk digunakan dalam pangan adalah polisorbat 60, Polisorbat 65, polisorbat 80.
- f. *Polyglycerol Ester*, dibuat dari reaksi antara asam-asam lemak dan glycerol yang sudah mengalami polimerisasi. Tingkat polimerisasinya antara 2-10 molekul. Ester-ester poliglycerol digunakan dalam pangan yang diaerasi mengandung lemak, *beverage*, *icing*, dan margarine.
- g. *Ester-ester Sukrosa*, adalah mono, di dan triester sukrosa dan asam-asam lemak. Ester ini dihasilkan dari reaksi sukrosa dan lemak sapi. Penggunaannya dalam pangan umumnya pada pembuatan roti, produk tiruan olahan susu, dan *whipped milk product*.
- h. *Lecitin*, adalah campuran fosfatida dan senyawa-senyawa lemak yang terdiri dari fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil inositoll, dan komponen-komponen lainnya. Lesitin merupakan bahan penyusun alami pada hewan maupun tanaman. Lecitin paling banyak diperoleh dari kedele dan kuning telur. Biasanya digunakan untuk emulsifier pada margarine, roti, kue dan lain-lain.

Algin

Algin merupakan komponen utama dari getah ganggang coklat (*Phaeophyceae*) yang diperoleh dengan cara melarutkannya dalam alkali larutan natrium karbonat. Proses ini untuk menghilangkan selulosa sekaligus memisahkan algin dalam bentuk garam kalsium atau asam alginat. Selain itu, produk sampingan terpenting proses pemisahan Algin adalah propilen glikol alginat.

Algin yang memiliki mutu *food grade* harus bebas dari selulosa serta warnanya sudah dilunturkan. Fungsi algin dalam industri pangan dianggap cukup penting, sebagai salah satu alternatif bahan tambahan makanan yang halal. Fungsi algin pada prinsipnya dapat menggantikan gelatin atau lemak hewan yang berfungsi sebagai stabilizer-emulsifier dan pengental penstabil emulsi.

Algin merupakan molekul linier dengan berat molekul tinggi. Kondisi ini memberikan implikasi pada algin, yakni mudah menyerap air. Inilah alasan yang memungkinkan algin dijadikan sebagai bahan pengental. Di samping proses pengentalan larutan itu sendiri, algin juga dapat meningkatkan daya suspensi larutan tersebut (stabilisator).

Pada sistem yang lain, algin -- yang memiliki produk sampingan propilen glikol alginat -- memiliki gugus hidrolik dan lipofilik. Keadaan ini memungkinkan algin berfungsi sebagai pengemulsi yang asli dengan sifat pengental yang kuat. Dengan sifat-sifat di atas, algin digunakan dalam industri makanan pada produk:

- a. Susu (es krim). Dalam hal ini, algin berfungsi sebagai stabilisator yang dapat menjaga keutuhan es krim dan membuahkan tekstur yang halus. Selain itu mencegah timbulnya kristal es yang besar dalam produk yang dihasilkan – sesuatu yang sangat dihindari dalam pembuatan es krim. Algin juga digunakan sebagai stabilisator pada produk susu lainnya, seperti susu es (*ice milk*), *milk shake mixes* dan sherbets, yoghurt, roti dan kue. Karena sifatnya yang baik dalam menahan air (*water holding capacity*), algin dapat mengatasi cepat mengeringnya produk pada keadaan udara berkelembapan rendah. Algin dipergunakan pada roti dan kue dalam *cake filling* dan *toppings*, *bakery jellies*, *pie filling* dan lain sebagainya.
- b. Bumbu salad. Propylen glikol alginat yang terdapat pada algin memiliki sifat selain sebagai pengemulsi, juga sebagai bahan pengental. Karena itu, algin sangat tepat jika ditambahkan dalam produk *french dressing*. Adanya algin pada produk tersebut akan membuat bumbu salad menjadi tahan lama dan tidak pecah, baik disimpan pada suhu tinggi maupun suhu rendah.
- c. Permen agar-agar. Algin mempunyai kemampuan untuk menyimpan atau menahan air yang baik. Penggunaan algin dalam pembuatan permen agar-agar menjadikan permen bersifat bening dan tahan lama serta memiliki tekstur yang empuk sampai saat pengunyahan.
- d. Produk kalengan. Produk pangan yang dikalengkan, biasanya mengandung cairan. Penambahan algin mengganti sebagian besar pati pada produk pangan kaleng untuk

mengurangi waktu proses pemanasan. Pengurangan waktu proses pemanasan ini berkaitan dengan adanya ion kalsium pada algin. Saat terjadi pemanasan, ion kalsium terhambat. Akibatnya, larutan memiliki viskositas yang rendah. Setelah proses pemanasan-sterilisasi selesai dan suhu diturunkan, ion kalsium bereaksi dengan algin yang menyebabkan viskositas meningkat hingga mencapai kondisi yang diinginkan.

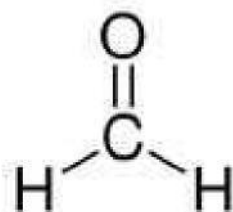
e. Karena memiliki kandungan kalori yang rendah (1,4 kkal/gram) algin juga digunakan pada produk pelangsing tubuh (*dietetic foods*). Selain cocok untuk produk pangan, algin juga dapat digunakan pada produk obat-obatan dan kosmetika. Sebagai contoh untuk bahan suspensi, stabilisator dalam pembuatan salep dan sebagai pengikat (binder) dalam pembuatan tablet.

Bahan penstabil dan pemekat

Kanji, dekstrin, pektin, amilosa, gelatin, karagenan, dan turunan protein termasuk bahan penstabil dan pemekat. Bahan-bahan tersebut memberikan kestabilan dan kepekatan kepada makanan termasuk pembentukan gel seperti pada agar-agar. Makanan yang memerlukan bahan-bahan ini antara lain pie, puding, minuman susu coklat, jeli, dan dressing salad.

Bicara mengenai penstabil dan pemekat, kita mungkin perlu memberikan perhatian lebih terhadap gelatin. Sumber gelatin bisa hewan maupun tumbuhan. Gelatin diperoleh dari pemanasan kolagen (diambil dari tulang dan tendon hewan) dalam air. Gelatin digunakan secara meluas dalam industri makanan. Oleh karena itu konsumen perlu berhati-hati membeli makanan yang mempunyai gelatin pada labelnya.

Bahan tambahan ilegal yang sering terdeteksi pada produk olahan ikan adalah asam borat (borax), rhodamin B dan formaldehid (formalin). Formaldehid adalah gas dengan titik didih 21°C sehingga tidak dapat disimpan dalam keadaan cair atau gas. Formalin digunakan produsen pengolahan ikan karena memiliki sifat antimikroba. Formalin tidak hanya berbahaya jika dikonsumsi tetapi juga berbahaya jika kita melakukan kontak dengannya (melalui udara). Formalin biasa digunakan dokter forensik untuk mengawetkan mayat. Bahaya formalin terhadap kesehatan: bersifat karsinogenik. Penelitian terhadap tikus dan anjing menunjukkan dapat mengakibatkan kanker saluran cerna. Penelitian lain terhadap pekerja tekstil akibat hirupan formalin meningkatkan resiko kanker tenggorokan dan hidung.



Gambar 8.3. Struktur bangun formaldehid (Formalin oximethylene) (Cahyadi, 2012)

Formalin mampu mengaktivasi protein dengan cara mengkondensasi dengan asam amino bebas dalam protein menjadi campuran lain yang menyebabkan protein mengeras dan terkoagulasi (Cahyadi, 2012). Formaldehid bersifat racun dan berbahaya bagi tubuh

manusia. Jika kandungan didalam tubuh tinggi makan akan bereaksi secara kimia dengan hampir semua zat di dalam sel sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kematian sel. Efek yang langsung tersa adalah iritasi lambung, alergi, diare, kencing berdarah dan kematian akibat kegagalan aliran darah.

Formaldehid sering digunakan sebagai bahan pengawet dalam produk pangan. Bahan pengawet adalah bahan tambahan pangan yang dapat mencegah atau menghambat proses fermentasi, pengasaman atau penguraian lain terhadap makanan yang disebabkan oleh mikroba. Bahan tambahan ini biasanya ditambahkan ke dalam makanan yang mudah rusak atau bahan pangan yang disukai sebagai media tumbuhnya bakteri atau jamur misalnya pada produk daging, perikanan dan buah. Definisi lain bahan pengawet adalah senyawa yang dapat menghambat, menahan atau menghentikan dan memberi perlindungan bahan pangan dari proses pembusukan (Cahyadi, 2012).

Peraturan perundang-undangan yang secara langsung berkaitan dengan bahan tambahan pangan adalah Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 722/Menkes/Per/IX/88 tentang bahan tambahan pangan, tertanggal 20 September 1988. Penggunaan bahan pengawet dalam proses produksi pangan perlu diwaspadai bersama, baik oleh produsen maupun konsumen. Penyimpangan penggunaannya akan membahayakan konsumen. Penggunaan bahan pengawet juga harus tepat jenis dan dosisnya. Formalin dilarang penggunaannya dalam bahan pangan sesuai dengan Permenkes RI No.722/Menkes/Per/IX/88 dan No.1168/Menkes/Per/X/99.

Formaldehid merupakan bahan beracun dan berbahaya bagi kesehatan manusia. Jika kandungannya dalam tubuh tinggi akan bereaksi secara kimia dengan hampir semua zat di dalam sel sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kematian sel dan kemudian menyebabkan keracunan pada tubuh. Selain itu juga akan menyebabkan iritasi lambung. Alergi, bersifat karsinogenik dan mutagen. Jika formalin menguap di udara akan membuat nafas sesak. Pemaparan pada kulit menyebabkan kulit mengeras, menimbulkan kontak dermatitis dan reaksi sensitifitas. Jika terkena organ reproduksi wanita makan akan menimbulkan gangguan menstruasi, toksemia, dan anemia pada kehamilan, peningkatan aborsi spontan serta penurunan berat badan pada bayi yang baru lahir. Uap formalin akan menyebabkan iritasi organ mukosa hidung dan tenggorokan (Cahyadi, 2012).

Boraks sering digunakan sebagai pengawet. Selain sebagai pengawet, boraks bisa berfungsi sebagai pengental makanan. Contoh makanan yang sering ditambahkan boraks, bakso, mie, kerupuk. Bahaya boraks bagi kesehatan: iritasi pada kulit, mata atau saluran pencernaan, gangguan kesuburan dan janin, dan gagal ginjal.

Asam salisilat digunakan agar sayuran dan buah-buahan tetap segar; Asam salisilat bukanlah pestisida, melainkan sejenis antiseptik yang salah satu fungsinya untuk

memperpanjang daya keawetan. Biasanya sayuran yang disemprot asam salisilat akan berpenampilan sangat mulus dan tak ada lubang bekas hama.

A. Metode analisis

1. Identifikasi dan Penetapan Kadar Formalin dalam Sampel

a) Bahan dan Alat

- 1) Asam fosfat (H_3PO_4)
- 2) Asam kromatropat jenuh dalam asam sulfat (dibuat segar)
- 3) Kertas lakmus
- 4) Alat destilasi
- 5) tabung reaksi
- 6) Gelas ukur
- 7) Neraca
- 8) Water bath

b) Cara Kerja

- 1) Timbang lebih kurang 20 g sampel (mie basah atau tahu) yang telah dihaluskan, tambahkan lebih kurang 100 ml aquades
- 2) Masukkan ke dalam labu destilasi, asamkan dengan asam fosfat, setelah asam lebihkan 1 mL.
- 3) Hubungkan labu dengan alat destilasi, perlahan lahan deslitasi sampel dan tampung destilat sampai didapat lebih kurang 10 mL
- 4) Masukkan 2 mL larutan asam kromatropat ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL destilat. Campurkan
- 5) Panaskan dalam penangas air mendidih selama 15 menit.

c) Pengamatan

Adanya formalin ditunjukkan oleh timbulnya warna ungu pada larutan

d) Catatan

Untuk penetapan kadar perlakuan penimbangan dan penambahan pereaksi dilakukan secara kuantitatif. Warna ungu yang terjadi diukur absorbannya pada panjang gelombang maksimum.

2. Identifikasi Senyawa Borax dalam Baso

a) Bahan dan Alat

- 1) Kertas kurkumin

- 2) Kalsium oksida (CaO)
 - 3) Asam klorida (HCl) encer
 - 4) Natrium hidroksida (NH₄OH) encer atau NH₄OH pekat
 - 5) Cawan pijar
 - 6) Oven Pengabuan (*Furnace*)
- b) Cara Kerja
- 1) Timbang 5 – 10 g sampel (baso) yang telah dihaluskan
 - 2) Tambahkan suspensi kalsium oksida sampai alkalis, kemudian diuapkan sampai kering sambil diaduk.
 - 3) Pijarkan residu pada pemanasan yang rendah sampai bebas zat organik
 - 4) Dinginkan, kemudian encerkan dengan 15 mL air
 - 5) Asamkan dengan HCl
 - 6) Teteskan larutan ke kertas kurkumin dan keringkan pada suhu kamar. Adanya boraks ditunjukkan oleh timbulnya warna merah pada kertas kurkumin
 - 7) Teteskan larutan NH₄OH encer atau kenakan dengan uap NH₄OH, warna kertas kurkumin menjadi warna hijau biru gelap

3. Identifikasi Asam Salisilat dalam Saus Tomat

- a) Bahan dan Alat
- 1) Eter
 - 2) Larutan FeCl₃ 6,5%
 - 3) Corong pisah 100 mL
 - 4) Gelas ukur 25 mL
- b) Cara Kerja
- 1) Masukkan 10 – 50 mL sampel (saus tomat) kedalam corong pisah, tambahkan 5 mL HCl (1:3), kemudian diekstraksi menggunakan 25 mL eter
 - 2) Bila terbentuk emulsi tambahkan 10 –15 mL petroleum eter
 - 3) Biarkan sampai kedua lapisan memisah
 - 4) Tampung lapisan eter
 - 5) Cuci lapisan eter dengan 2 x 5 mL air, pisahkan dari fase air.
 - 6) Uapkan eter pada suhu kamar
 - 7) Tambahkan 1 tetes larutan FeCl₃ 6,5 % pada sisa eter (residu)
- Pengamatan** : Adanya asam salisilat ditunjukkan oleh timbulnya warna ungu violet

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Senyawa apa yang terdapat dalam kurkuma dan jelaskan reaksi yang terjadi bila terdapat senyawa borax dalam baso?
2. Mengapa warna merah yang positif mengandung borax berubah setelah penambahan larutan basa?
3. Tuliskan reaksi yang terjadi antara formalin dan asam kromotropat?
4. Senyawa apa yang mungkin mengganggu pada penetapan formalin?
5. Jelaskan prinsip pemeriksaan asam salisilat
6. Mengapa ekstraksi asam salisilat dilakukan pada suasana asam?
7. Senyawa apa yang dapat mengganggu pemeriksaan asam salisilat?

Ringkasan

Secara garis besar bahan tambahan makanan digolongkan menjadi dua, yakni alami dan sintetis. Dipandang dari segi manfaat dan risiko, penggunaan bahan tambahan makanan sintetis lebih berbahaya dibandingkan bahan tambahan makanan alami. Aspek keamanan pangan yang menjadi perhatian utama adalah penggunaan bahan tambahan makanan yang melebihi dosis. Seperti diketahui bersama telah banyak penelitian yang menyebutkan efek samping bahan tambahan makanan. Oleh karena itu perlu adanya regulasi dan pengawasan oleh pemerintah dengan kerjasama dari berbagai pihak yang terkait.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Sejumlah sampel ditimbang kemudian dihaluskan dan ditambah akuades. Setelah diasamkan dengan asam fosfat selanjutnya didestilasi. Destilat direaksikan dengan asam kromatofat dalam penangas air mendidih selama 15 menit. Prosedur ini dilakukan untuk **identifikasi**
 - A. boraks
 - B. formalin
 - C. asam salisilat
 - D. parasetamol
 - E. arsen

2. Prosedur pada soal nomor 1 merupakan uji kualitatif. Untuk **mengetahui jumlah zat** yang terdapat dalam sampel, prosedur di atas dapat dilanjutkan dengan cara
- A. spektrofotometri infra merah
 - B. spektrofotometri ultra violet
 - C. kromatografi cair kinerja tinggi
 - D. spektrofotometri sinar tampak
 - E. spektrofotometri serapan atom
3. Sejumlah sampel setelah dihaluskan ditambah suspensi kalsium oksida, kemudian diuapkan. Setelah dipijarkan dan diasamkan dengan asam klorida, ditetaskan pada kertas kurkumin. Setelah kering dilanjutkan dengan penetesan ammonium hidroksida. Prosedur ini dilakukan untuk **identifikasi**
- A. boraks
 - B. formalin
 - C. asam salisilat
 - D. parasetamol
 - E. arsen
4. Pada prosedur soal nomor 3 **kertas kurkumin** setelah ditetaskan larutan ammonium hidroksida atau dikenakan dengan uap ammonium hidroksida menunjukkan hasil positif bila warna yang terbentuk adalah
- A. merah
 - B. kuning
 - C. hijau
 - D. biru
 - E. ungu
5. Sejumlah sampel dalam corong pisah setelah diasamkan dengan asam klorida diekstraksi dengan dietil eter. Lapisan eter setelah dipisahkan kemudian diuapkan. Sisa penguapan ditetesi larutan besi(III) klorida. Prosedur ini dilakukan untuk **identifikasi**
- A. boraks
 - B. formalin
 - C. asam salisilat
 - D. parasetamol
 - E. arsen

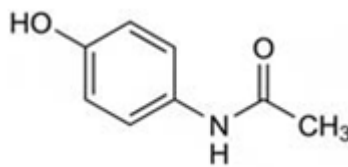
6. Pada prosedur soal nomor 5 sebelum diekstraksi dengan dietil eter, **sampel diasamkan** dengan asam klorida (1:3). Tujuan penambahan asam klorida tersebut adalah untuk
- A. menurunkan kelarutan zat dalam air
 - B. menaikkan kelarutan zat dalam air
 - C. menurunkan kelarutan zat dalam dietil eter
 - D. menaikkan kelarutan zat dalam dietil eter
 - E. melarutkan zat pengganggu

Topik 2

Parasetamol

A. PENGANTAR

Rumus kimia Parasetamol adalah $C_8H_9NO_2$ dengan nama kimia menurut IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) adalah *N-(4-Hydroxyphenyl) acetamide* dengan sinonim Acetaminophen; N-acetyl-p-aminophenol (APAP), dengan nama dagang Panadol, dsb. Struktur kimia parasetamol seperti Gambar 8.7 berikut:



Gambar 8.4 Struktur kimia Parasetamol
(Sumber: Moffat, 2004)

Parasetamol adalah analgesik antipiretik ringan dengan sedikit sifat anti-inflamasi dan tidak berpengaruh pada agregasi trombosit. Tidak ada efek iritan pada mukosa lambung dan dapat digunakan dengan aman dan efektif pada kebanyakan individu yang tidak toleran terhadap aspirin. Ini adalah analgesik dan antipiretik standar pada anak-anak karena, tidak seperti aspirin, dan dapat diformulasikan dalam bentuk supensi yang stabil. Dosis dewasa yang biasa adalah 0,5-1 g yang diulang pada interval empat sampai enam jam jika diperlukan (Ritter, et al., 2008).

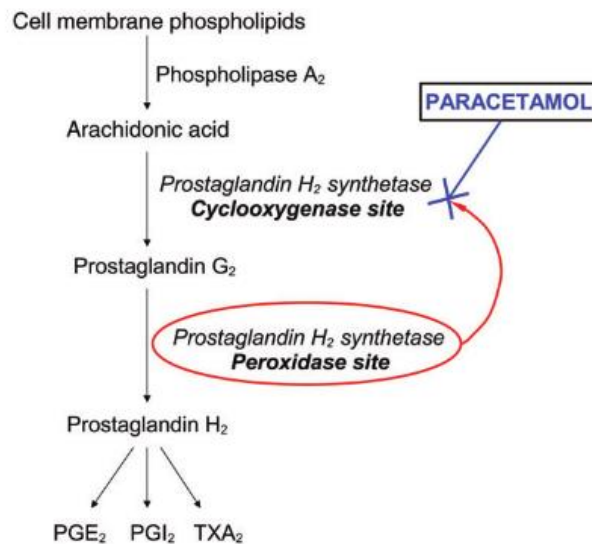
Cedera pada hati setelah konsumsi acetaminophen adalah penyebab paling umum morbiditas dan kematian serius, walaupun sistem organ selain hati juga mungkin akan terpengaruh. Pencegahan cedera hati memerlukan diagnosis dan pengobatan dini. Pengalaman klinis yang ekstensif telah menunjukkan bahwa terjadinya hepatotoksisitas dapat diprediksi dan kejadiannya dicegah dengan pemberian N-acetylcysteine (NAC) yang tepat waktu (Ford, 2007).

B. MEKANISME AKSI TERAPETIK

Mekanisme terapi Parasetamol adalah menghambat biosintesis prostaglandin dalam beberapa keadaan (misalnya demam), tapi tidak pada kondisi yang lain (Ritter, et al., 2008).

Parasetamol dijadikan pengobatan lini pertama untuk nyeri dan pireksia, mekanismenya dengan menghambat produksi prostaglandin siklooksigenase (COX) (Gambar 8.8), parasetamol telah ditujukan untuk tidak mengurangi peradangan jaringan (Sharma,

2013). Parasetamol termasuk golongan obat anti-peradangan non steroid (*non steroid anti inflammatory drugs=NSAID*).



Gambar 8.5 Mekanisme kerja Parasetamol

Sumber: Sharma, 2013

C. Efek samping

Efek toksik parasetamol yang paling penting adalah nekrosis hati yang menyebabkan gagal hati setelah overdosis, namun gagal ginjal karena tidak adanya gagal hati juga telah dilaporkan setelah overdosis. Tidak ada bukti yang meyakinkan bahwa parasetamol menyebabkan penyakit hati kronis bila digunakan secara teratur dalam dosis terapeutik (4 g/24 jam). Parasetamol secara struktural terkait erat dengan phenacetin (sekarang ditarik karena hubungannya dengan nefropati analgesik) yang menimbulkan pertanyaan apakah pelepasan parasetamol jangka panjang juga menyebabkan nefropati analgesik, sebuah masalah yang belum terselesaikan (Ritter, et al., 2008).

Parasetamol cepat dimetabolisme di hati. Konjugat sulfat dan glikoida utama (yang mengandung sekitar 95% dosis parasetamol) diekskresikan dalam urin. Ketika parasetamol dikonsumsi overdosis, kapasitas mekanisme konjugasi terlampaui dan metabolit toksik, N-asetil benzoquinimin (NABQI), terbentuk melalui metabolisme melalui enzim sitokrom P450 (CYP450) (Ritter, et al., 2008).

D. Toksikinetika

1. Absorpsi

Penyerapan parasetamol terjadi dengan cepat di duodenum, karena senyawanya sebagai asam lemah. Jika pasien mengkonsumsi bersama makanan, mungkin ada

penundaan pada saat itu, namun tidak mengganggu penyerapan obat. Sama seperti konsumsi makanan bersamaan yang menyebabkan penundaan waktu dalam penyerapan parasetamol, pasien dengan penyakit hati kronis berisiko mengalami masa paruh obat serum yang berkepanjangan (dengan rata-rata 2,0 sampai 2,5 jam, dan lebih dari 4 jam), terutama jika mengkonsumsi formulasi parasetamol *extended-release*. Sementara overdosis parasetamol menghasilkan konsentrasi serum puncak (10 - 20 mg / mL) dalam 4 jam. Pasien yang minum obat sesuai dosis akan mencapai konsentrasi puncak dalam 1,5 jam, dengan waktu paruh 1,5 - 3 jam (Yoon, et al., 2016).

Penyerapan parasetamol setelah pemberian oral meningkat dengan metoklopramid, dan ada hubungan yang signifikan antara pengosongan lambung dan penyerapan (Ritter et al., 2008). Sebagian besar bentuk acetaminophen cepat diserap setelah konsumsi. Dalam sebuah penelitian, 97 persen suplemen eletir supratherapeutik 5 jam diserap setelah 2 jam. Tingkat puncak terjadi pada 30 sampai 60 menit setelah dosis terapeutik dari tablet yang tidak bersalut. Sediaan acetaminophen lepas lambat (*extended-release*) yang lebih baru memiliki pola penyerapan farmakokinetik yang serupa dengan formulasi pelepasan reguler, dengan tingkat puncaknya kurang dari 4 jam setelah konsumsi tetapi dengan penurunan konsentrasi dan area maksimal di bawah kurva (*area under the curve=AUC*) (Ford, 2007).

2. Data Farmakokinetika

Bioavailabilitas parasetamol antara 70-90%, Waktu paruh plasma setelah dosis terapeutik, lebih kurang 1-3 jam pada orang dewasa, lebih kurang 5 jam di neonatus; plasma lebih besar dari 4 jam pada orang dewasa menunjukkan kemungkinan kerusakan hati (Moffat et al., 2011). Parasetamol didistribusikan secara luas ke sebagian besar cairan tubuh dan terdapat dalam air liur pada konsentrasi yang paralel dengan plasma. Parasetamol melintasi plasenta dan ditemukan pada air susu ibu (Yoon, et al., 2016). Volume distribusi kurang lebih 0,8-1,0 L/kg (Moffat et al., 2011).

Konsentrasi terapeutik dalam plasma, biasanya di kisaran 10-20 mg/L. Konsentrasi plasma sangat bervariasi antar subyek. Konjugat glukuronida dan sulfat terakumulasi pada subyek dengan gangguan fungsi ginjal.

Setelah dosis oral tunggal 1,5 g pada 14 subyek, konsentrasi parasetamol plasma puncak 7,4-37 mg/L (rerata, 24) dicapai pada 0,5-3 jam (rata-rata, 1,4). Setelah pemberian 4 dosis dubur parasetamol, 20 mg/kg setiap 6 jam, pada 10 neonatus jangka penuh yang menjalani prosedur yang menyakitkan atau memiliki kondisi yang buruk, rata-rata konsentrasi serum puncak adalah 10,79, 15,34 dan 6,24 mg/L pada keseluruhan kelompok, anak laki-laki dan perempuan. Waktu rata-rata untuk mencapai konsentrasi serum puncak adalah 1,5 jam setelah dosis pertama dan 15 jam

untuk beberapa dosis. Dosis awal 30 mg/kg diikuti 20 mg/kg rektal pada interval yang meningkat dari 6-8 jam diusulkan untuk neonates (Moffat et al., 2011).

Dari 24 anak (di atas 25 kg) menjalani operasi elektif dan diberi parasetamol secara rektal pada dosis 1 atau 40 mg/kg, kebanyakan anak di kelompok 1 g gagal mencapai tingkat plasma terapeutik sedangkan kelompok 40 mg/kg tercapai (rerata konsentrasi plasma puncak 7,8 dan 15,9 mg/L masing-masing mencapai 3,8 dan 2,6 jam. [Howell, Patel 2003].

Plasma *clearance* kurang lebih 5 mL/menit/kg. Ikatan protein dalam plasma: tidak terikat pada konsentrasi <60 mg/mL. Pada subyek yang keracunan, pengikatan protein telah dilaporkan bervariasi antara 8-40%. Dosis maksimal 4 g setiap hari (Moffat, et al., 2011).

Dosis mematikan minimum adalah lebih kurang 10 g. Gejala kerusakan hati tidak terjadi paling sedikit 12 jam setelah overdosis namun mungkin tidak muncul sampai 4-6 hari kemudian. Konsentrasi plasma telah digunakan untuk menunjukkan kemungkinan nekrosis hati; pada 4 jam, nekrosis hati dimungkinkan pada konsentrasi parasetamol 120-300 mg/L, kemungkinan pada konsentrasi di atas 300 mg/L, dan tidak mungkin pada konsentrasi <120 mg/L. Demikian pula, pada konsentrasi 12 jam, konsentrasi di atas 120 mg/L menunjukkan probabilitas nekrosis, konsentrasi 50-120 mg/L menunjukkan bahwa hal itu mungkin, dan konsentrasi di bawah 50 mg/L menunjukkan bahwa hal itu tidak mungkin terjadi.

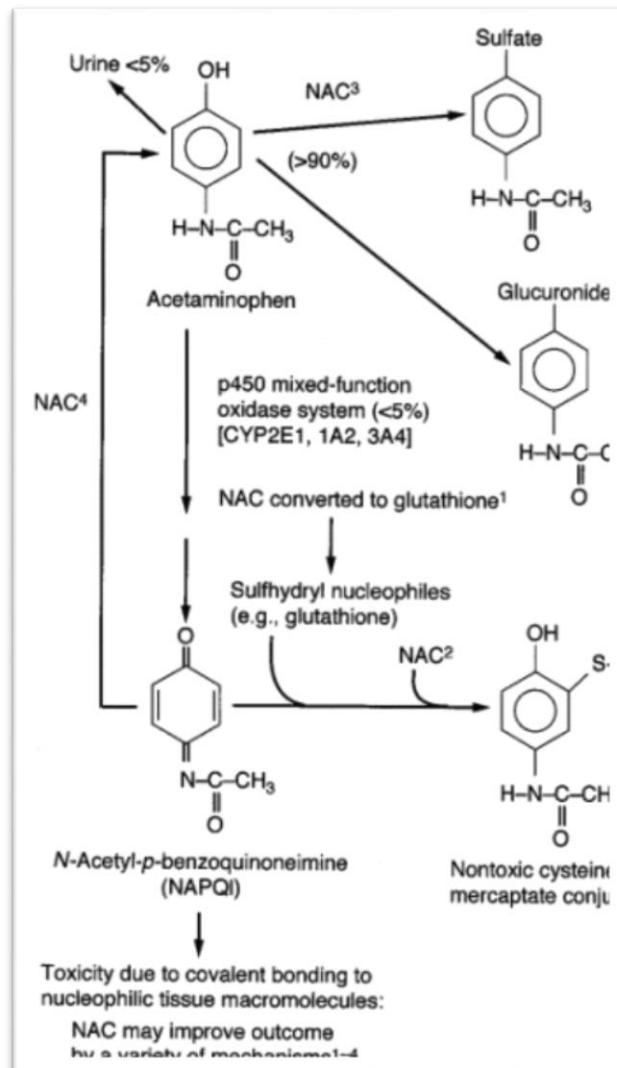
Konsentrasi jaringan postmortem berikut dilaporkan dalam 3 kematian: 160, 200 dan 387 mg/L dalam darah; 180, dan 900 mg/L dalam empedu; dan 385 mg/g dalam hati; 200, dan 475 mg/L dalam darah hati; dan 180, 620 dan - mg/L dalam urin (Moffat, et al., 2011)

3. Metabolisme

Asetaminofen dimetabolisme hampir secara eksklusif di hati. Lebih dari 90 persen secara langsung dikonversi menjadi konjugat nukleoksida dan sulfida nontoksik dan kurang dari 5 persen diekskresikan tidak berubah dalam urin. Sisanya (sekitar 5 persen) dioksidasi oleh berbagai enzim sitokrom P-450, termasuk P4502E1, P4501A2, dan P4503A4. Metabolisme melalui enzim ini menghasilkan elektrofil reaktif N-asetil-p-benzoquinoneimin (NAPQI) (Gambar 8.9). Dalam kebanyakan keadaan, NAPQI segera bergabung dengan glutathione untuk membentuk konjugasi mercaptide yang tidak beracun. Enzim sitokrom P-450 juga ditemukan di ginjal, dan beberapa NAPQI terbentuk di ginjal (Ford, 2007).

Metabolisme parasetamol terjadi pada mikrosom hati pada tingkat mikroskopis. Perlu diketahui bahwa tidak semua pasien mengalami nasib yang sama

ketika mengonsumsi parasetamol dan hepatotoksitas. Ada tiga fase metabolisme Parasetamol. Sebagian besar (hampir 90%) parasetamol disalurkan ke jalur metabolisme fase II, di mana konjugasi parasetamol dikatalisis oleh UDP-glucuronosyl transferases (UGT) dan sulfotransferase (SULT), dengan konversi ke metabolit terglucouronidasi dan sulfatasi yang dieliminasi dari tubuh dalam urin (Gambar 8.9).



Gambar 8.5 Biotransformasi Parasetamol di hati

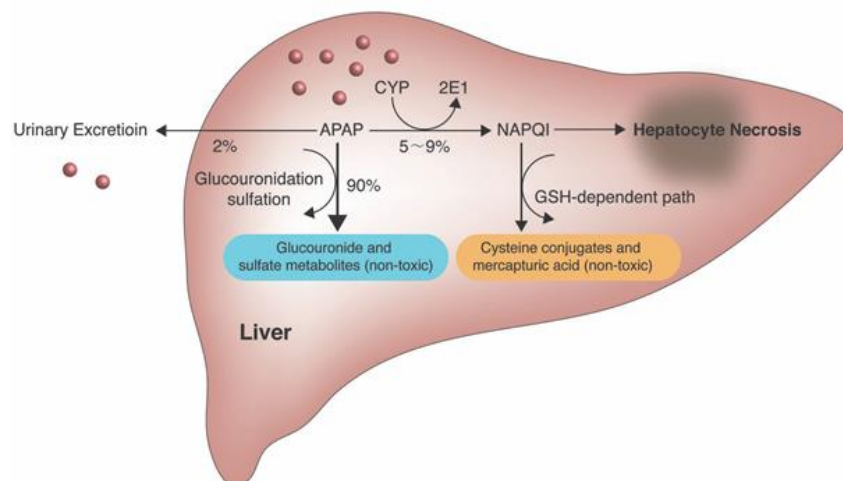
Sumber: Ford, 2007

Sejumlah kecil parasetamol yang dapat diukur (lebih kurang 2%) diekskresikan dalam urin tanpa mengalami metabolisme apapun. Sebagian lain parasetamol (sekitar 10%) dihalangi oleh sitokrom CYP 2E1 hati (pada tingkat yang lebih rendah dengan CYP 1A2 dan 3A4) ke oksidasi fase I, di mana metabolit toksik yang sangat reaktif, N-acetyl-para-benzo-kuinone imine (NAPQI), dibentuk. Tahap III melibatkan transportasi metabolit dalam bentuk ekskresi empedu yang memerlukan transporter (Yoon, et al., 2016).

Parasetamol mengalami metabolisme lintas pertama dan dimetabolisme terutama oleh konjugasi untuk membentuk glukuronida dan ester sulfat; 3-hidroksilasi juga terjadi diikuti oleh konjugasi atau O-metilasi dari gugus hidroksi. Oksidasi pada metabolit reaktif sebagai asetilino-p-benzoquinon sedikit banyak terjadi pada dosis terapeutik namun menjadi lebih signifikan setelah dosis yang lebih besar, dan metabolit ini nampaknya bertanggung jawab atas nekrosis hati pada overdosis parasetamol; biasanya didetoksifikasi oleh konjugasi glutathione untuk membentuk asam merkapturat dan konjugat sistein tetapi setelah sumber glutathione habis, metabolit bebas tersedia untuk mengikat secara kovalen dengan protein sel hati. Pengikatan ini terjadi lebih kurang 10-12 jam setelah pemberian (Moffat,et al., 2011).

4. Ekskresi

Sekitar 90% dosis terapeutik diekskresikan dalam urin dalam 24 jam; dari bahan yang diekskresikan, 1-4% tidak berubah, 20-30% dikonjugasi dengan sulfat, 40-60% dikonjugasi dengan asam glukuronat, 5-10% terdiri dari 3-hidroksi-3-sulfat, 3-methoxyglucuronide dan metabolit 3-methoxy-3-sulfate, dan lebih kurang 5-10% terdiri dari asam merkapturat dan konjugat sistein; 3-methylthio-4-hydroxyacetanilide juga telah diidentifikasi pada konsentrasi <1%. Jumlah yang lebih besar dari asam merkapturat dan konjugat sistein diekskresikan pada pasien overdosis (Moffat,et al., 2011).



Gambar 8.6 Metabolisme Parasetamol

(Sumber: Yoon, et al., 2016)

E. Toksisitas

Cedera hati akibat obat (*drugs induced liver injury=DILI*) bukanlah hal yang tidak biasa. Tingkat kematian telah terjadi dalam praktik klinis, karena sejumlah besar senyawa, termasuk ramuan obat dan obat alternatif, dimetabolisme dalam mikrosom hati.

Presentasi klinis yang paling merugikan adalah kegagalan hati fulminan, di mana pasien tanpa riwayat penyakit hati dengan ensefalopati hati dan koagulopati sebelum penyakit kuning. Asetaminofen, juga dikenal sebagai APAP (di Amerika Serikat), parasetamol (di Eropa dan daerah lain di dunia) atau N-acetyl-p-aminophenol, adalah salah satu senyawa yang paling umum digunakan di seluruh dunia; penggunaannya sebagai obat antipiretik atau analgesik telah dominan sejak tahun 1955, terutama karena fakta bahwa parasetamol mudah didapat dengan berbagai formulasi sebagai obat bebas. Parasetamol dilaporkan dikonsumsi secara teratur oleh lebih dari 60 juta orang Amerika setiap minggu, menjadikannya obat analgesik dan antipiretik yang paling banyak digunakan di Amerika Serikat. Diiklankan dengan aman dalam dosis sampai 4000 mg setiap 24 jam oleh Food and Drug Administration (FDA) Amerika Serikat, konsumsi pada dosis ini umumnya tidak menghasilkan efek toksik. Parasetamol yang berdiri sendiri bukanlah satu-satunya formulasi obat yang harus dicurigai dengan toksisitas parasetamol potensial. Dengan demikian, mungkin sulit untuk mengenali toksisitas parasetamol, sebagian karena sediaannya dalam berbagai formulasi, seperti tablet, cairan, supositoria rektum dan cairan intravena, dan juga suplemen kombinasi yang dijual sebagai *over-the-counter* dan analgesic dengan resep dokter. Kasus yang dilaporkan dari hepatotoksitas akibat APAP pertama kali muncul di Amerika Serikat pada pertengahan tahun 1980an, dan sejak itu menunjukkan adanya kejadian yang meningkat. Telah dilaporkan bahwa ini adalah salah satu produk farmasi yang paling umum menyebabkan cedera hati akibat obat (*DILI*) (Yoon, et al., 2016).

Mortalitas telah dilaporkan mendekati 0,4% pada pasien overdosis, yang tunjukkankan dengan terjadinya 300 kematian setiap tahun di Amerika Serikat.¹ Meskipun dosis yang menyebabkan kegagalan hati biasanya lebih dari 150 mg / kg, semakin banyak laporan muncul yang menunjukkan bahwa dosis lebih rendah APAP dapat menyebabkan cedera dan gagal hati akut. Fenomena yang disebut "terapeutik mislvenure", yang diciptakan oleh Zimmerman dkk., semakin diakui, karena beberapa pasien telah mengalami gagal hati akut walaupun konsumsi dosis parasetamol yang "aman". Beberapa dari pasien ini mungkin memiliki beberapa faktor risiko spesifik, seperti kondisi metabolisme parasetamol pada tingkat mitokondria dan molekuler, yang saat ini sedang diselidiki dengan harapan dapat menjelaskan perannya lebih lanjut terhadap kondisi yang mengancam jiwa ini (Yoon, et al., 2016).

Parasetamol adalah salah satu analgesik yang paling umum digunakan di Amerika Serikat dan dilaporkan merupakan penyebab paling umum kegagalan hati akut di Amerika Serikat.^{2,3,5} Di Amerika Serikat, sekitar 30.000 pasien dirawat di rumah sakit setiap tahun untuk perawatan hepatotoksitas akibat parasetamol. Meskipun tampaknya ada rasio genap yang mendekati dosis APAP secara sadar dan tidak sadar (52% banding 48%), kedua

kelompok rentan terhadap kegagalan hati dan menghasilkan rujukan untuk transplantasi hati. Meskipun sebagian besar pasien mengalami reaksi merugikan ringan, seperti hepatitis, kolestasis atau peningkatan enzim hati asimtomatik, hepatotoksitas parasetamol umumnya diperkirakan mencapai sekitar 48% diagnosis gagal hati akut. Selain itu, penelitian telah menunjukkan bahwa 29% pasien dengan gagal hati akut sekunder akibat toksisitas parasetamol menjalani transplantasi hati, dan bahwa kasus ini memiliki tingkat kematian 28% (Yoon, et al., 2016).

Munculnya analgesik kombinasi parasetamol dan opioid serta peredaran narkotika yang diresepkan oleh praktisi medis, sejumlah besar pasien berada dalam bahaya karena mereka memiliki risiko hepatotoksitas parasetamol yang signifikan. Kurang dari satu dekade yang lalu, pada tahun 2010, lebih dari 130 juta resep untuk parasetamol dan hidrocodone diresepkan di Amerika Serikat.³ Dilaporkan, 63% overdosis APAP yang tidak disengaja terjadi dengan penggunaan kombinasi opioid- parasetamol, dengan tambahan 17 % orang dewasa menderita cedera hati.^{5,6} Untungnya, FDA Amerika Serikat telah mengakui bahaya kombinasi resep parasetamol dan analgesik narkotika sehingga pada 14 Januari 2014, menetapkan jumlah parasetamol yang disetujui per unit dosis kombinasi analgesik tablet dalam praktik. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa ada kekurangan pengetahuan tentang potensi berbahaya parasetamol. Hal ini tidak biasa bagi pasien untuk mengacaukan obat anti-inflamasi non-steroid (NSAID), seperti naproxen atau ibuprofen, dengan parasetamol. Sambil menyediakan pendidikan pengetahuan kesehatan untuk mengajarkan perbedaan parasetamol dan NSAID penting, ada beberapa yang berpendapat bahwa hal itu mungkin lebih bermanfaat untuk mengurangi kemungkinan parasetamol yang tidak tepat karena konsumsi dengan mengurangi ukuran kemasan sediaan parasetamol, yang menurut mereka dapat mengurangi kejadian dan tingkat keparahannya. dari hepatotoksitas parasetamol (Yoon, et al., 2016)

Toksitas hepatotoksik APAP terjadi melalui pembentukan metabolit NAPQI yang berbahaya, yang terdapat dalam jumlah yang berlebihan, seperti yang diperkuat oleh gambaran terjadinya deplesi glutathione (GSH), oksidatif stres dan disfungsi mitokondria yang menyebabkan penurunan persediaan adenosin trifosfat (ATP). Ada bukti untuk mendukung teori bahwa aktivasi metabolik parasetamol menghasilkan NAPQI yang mengikat sejumlah protein seluler, terutama protein mitokondria. Peranan protein mitokondria, terutama dalam pengaturan penipisan GSH, penting karena pengikatan protein mitokondria menghabiskan fungsi antioxidant alami dan juga mengubah subunit ATP-synthase mitokondria, yang menyebabkan produksi ATP yang tidak efektif (Yoon, et al., 2016)

Mekanisme lain dari hepatotoksitas termasuk pembentukan radikal bebas beracun, seperti peroksinitrit, dari reaksi superoksida dan oksida nitrat, yang kemudian

membentuk produk nitrotyrosin di dalam mitokondria. Penambahan GSH tidak hanya memberikan kelebihan sistein sebagai substrat energi untuk Krebs Siklus, juga berperan penting dalam pembilasan untuk radikal bebas dan peroksinitrit. Mitokondria, yang sangat penting untuk respirasi dan metabolisme sel, mengalami kerusakan pada DNA mitokondria mereka sendiri oleh tindakan spesies oksigen reaktif dan senyawa peroksinitrit, dan mereka telah terlibat langsung dalam proses yang menyebabkan penghentian sintesis ATP (Yoon, et al., 2016).

Banyak penelitian biokimia telah dilakukan dalam model murine. Namun, ketika sel induk HepaRG yang diturunkan dari hepatosit manusia dikenai parasetamol, mekanisme hepatotoksitas yang sama ditunjukkan dimulai dengan deplesi GSH dan bergerak melalui pembentukan *adduct protein*, pembentukan superoksida peroksinitrit dan penyerapan besi lisosom menjadi mitokondria. Stress oksidatif serta adanya penyerapan besi lisosomal ke dalam mitokondria menyebabkan disfungsi membran mitokondria melalui gangguan transisi pori, permeabilitas membran mitokondria, yang memicu nekrosis sel. Pembengkakan organ menyebabkan nekrosis seluler dan pelepasan isi mitokondria, seperti faktor pendorong apoptosis (*apoptosis inducing factor=AIF*) dan endonuklease G (EndoG), yang kemudian bermigrasi ke nukleus dan menyebabkan fragmentasi DNA. Pembengkakan seluler, karyolisis, kariorheksis, vakuolisasi, pembengkakan dan pelepasan kandungan seluler (alanine aminotransferase, ALT) adalah proses kunci nekrosis hepatosit dan kematian terkait pada manusia, seperti yang ditunjukkan oleh bukti biokimia tentang peningkatan yang berat aminotransferase, terutama ALT (Jaesche, 2012).

Dalam penggunaan parasetamol yang tidak toksik, pengolahan NAPQI terjadi dengan konjugasi cepat oleh GSH hati untuk membentuk senyawa mercaptate dan sistein yang tidak beracun yang diekskresikan dalam urin.⁸ Tubuh memerlukan keseimbangan antara produksi dan detoksifikasi atau pengangkutan spesies reaktif dan produk protein yang berbahaya, dan saat pertahanan ini diliputi oleh dosis parasetamol yang bersifat hepatotoksik, jalur glukoronisasi dan sulfonasi menjadi jenuh, mendorong sebagian besar APAP dimetabolisme ke NAPQI oleh jalur CYP 2E1 dan mengakibatkan penipisan GSH dan peningkatan NAPQI (Jaesche, 2012).

Myeloperoxidase dan cyclooxygenase-1 adalah enzim yang juga berfungsi dalam pengolahan NAPQI menjadi metabolit yang tidak reaktif. Selain itu, hepatosit memiliki kemampuan untuk menginduksi pertahanan kekebalan bawaan dan adaptif untuk meredam respons inflamasi selama nekrosis. Telah disarankan bahwa mungkin peran sistem kekebalan bawaan, yang dimediasi oleh sel pembunuh alami (*natural killer=NK*) dan pembunuh alami T sel (*natural killer T cell=NKT*) yang melimpah di hepatosit, menyebabkan pelepasan sitokin dan kemokin yang meningkatkan sitotoksitas hepatoselular. Spesies molekuler terkait kerusakan (DAMP) dilepaskan ke dalam sirkulasi,

seperti fragmen inti dan DNA mitokondria (mtDNA), tampaknya perekrutan sel-sel inflamasi melalui sistem kekebalan bawaan adalah usaha hati untuk menghilangkan sisa-sisa sel nekrotik dan mendorong fase pemulihan hati (Yoon, et al., 2016).

Kematian sel yang disebabkan oleh APAP menyebabkan perubahan karakteristik nekrosis. Hepatotoksisitas APAP terletak terutama dengan senyawa NAPQI yang sangat toksik dan reaktif, yang membentuk ikatan kovalen dengan kelompok sulfhidril pada molekul sistein dan lisin di dalam mitokondria hepatosit dan yang secara spontan bereaksi dengan GSH dan mengikat protein hati (Mc Gill, 2013). Protein adduct terbentuk, khususnya protein pengganti mitokondria, menyebabkan cedera oksidatif dan nekrosis hepatoselular. Pengurangan GSH sekitar 70% telah diusulkan sebagai ambang batas untuk pengikatan protein terjadi; Namun, teori ini telah dipertanyakan karena aditif protein APAP telah terdeteksi pada 1 jam setelah pengobatan APAP, suatu waktu yang akan mendahului penipisan GSH (Mc Gill, 2013). Namun penting untuk diketahui bahwa hubungan terbalik yang jelas telah ditunjukkan antara konsentrasi GSH dan aktivitas pengaktifan metabolik APAP (Mc Gill, 2013). Temuan dari penelitian terkini tentang hepatotoksisitas APAP tampaknya mendukung mekanisme cedera toksik yang terkait dengan retikula endoplasma mitokondria yang menyebabkan cedera hepatosit dan nekrosis (Yoon, et al., 2016).

F. Gejala Klinis

1. Akut

Pengenalan dini overdosis acetaminophen akut sangat penting, karena prognosinya paling baik bila pengobatan antidotal dimulai dalam 8 jam setelah overdosis. Tanda-tanda awal toksisitas mungkin termasuk malaise, mual, dan muntah, dengan sedikit temuan pada pemeriksaan fisik. Banyak pasien dengan tingkat asetaminofen yang toksik dan potensi hepatotoksisitas yang signifikan pada awalnya asimtomatik setelah konsumsi akut (tahap I pada Tabel 8.2). Tanda-tanda cedera hati, seperti sakit perut, muntah terus-menerus, icterus, dan nyeri tekan kuadran kanan atas, hanya menjadi jelas 24 sampai 48 jam setelah konsumsi akut (tahap II). Transaminase serum mulai meningkat sejak 16 jam setelah konsumsi yang signifikan dan selalu meningkat pada saat tanda klinis hepatotoksisitas pada awalnya bermanifestasi (Ford, 2007).

Tabel 8.6. Tahapan Klinis Toksisitas Asetaminofen

Tahap	Waktu Setelah Penelanan	Karakteristik
I	0,5 sampai 24 jam	Anorexia, mual, muntah, malaise, pucat, diaphoresis

II	24 sampai 48 jam	Resolusi karakteristik di atas; perut kanan atas sakit perut dan nyeri tekan; peningkatan bilirubin, waktu protrombin, INR, transaminase hati, oliguria
III	72 sampai 96 jam	Fungsi hati puncak kelainan; anoreksia, mual, muntah, malaise dapat muncul kembali; Gagal hati fulminan (FHF) dengan asidosis metabolik, INR > 6, dan disfungsi ginjal mungkin tampak jelas.
IV	4 d sampai 2 minggu	Resolusi disfungsi hepar pada orang yang selamat. Gagal ginjal oliguric dapat berkembang; kematian dapat terjadi pada pasien dengan FHF

Sumber : Ford, 2007

Cedera ginjal dapat terjadi, bahkan pada kasus di mana hepatotoksisitas ringan. [12] [44] [49] Hal ini disebabkan oleh luka lokal dengan produksi in situ NAPQI dalam enzim tubular P-450 ginjal. Gagal ginjal akut juga terjadi pada kasus gagal hati akut akibat cedera hati (hepatorenal syndrome). Menentukan ekskresi fraksional natrium (FeNa) dapat membantu dalam membedakan cedera ginjal primer (FeNa > 1) dari sindrom hepatorenal (FeNa < 1) (Ford, 2007).

2. Hepatotoksisitas Terkait dengan Tertelan Kronis Asetaminofen

Pasien yang mengalami cedera hati setelah dosis acetaminophen berlebih, seringkali untuk rasa sakit kronis, atau overdosis formulasi pediatri yang tidak disengaja, paling sering terjadi ke bagian gawat darurat dengan manifestasi cedera hati akut, dan bukan riwayat overdosis asetaminofen (Ford, 2007).

3. Evaluasi setelah overdosis berulang

Pasien dengan overdosis APAP yang tidak disengaja biasanya sering menelan APAP selama beberapa hari sebagai terapi analgesik atau anti-piretik. Gejala hepatotoksisitas mungkin sudah dimulai sejak awal penggunaan. Ikterus, nyeri kuadran kanan atas, mual, muntah, hepatomegali dan ensefalopati mengindikasikan tingginya tingkat konsumsi APAP, dan jika gejala ini teramati, tingkat APAP pasien harus diperiksa. Pengobatan dengan NAC akan sesuai untuk menemukan tingkat APAP > 20 mg/mL, dengan atau tanpa elevasi ALT. NAC juga harus diberikan jika pasien menggunakan parasetamol yang berlebihan dengan aktivitas ALT yang meningkat, meskipun kadar parasetamol serum tidak terdeteksi. NAC tampaknya tidak bermanfaat bila kadar parasetamol tidak terdeteksi, pasien tidak menunjukkan gejala, atau tingkat ALT normal (Yoon, et al.,n, 2016).

G. Analisis Laboratorium Keracunan Parasetamol

1. Penilaian Cedera Hati

Setelah penggunaan parasetamol, diperlukan penelitian laboratorium tambahan untuk mendapatkan parameter klinis penting lainnya, termasuk gas darah arteri (untuk mengetahui status pH darah), profil koagulasi, panel metabolik dasar, tes fungsi hati, dan screening obat dalam urin (Yoon, et al., 2016)

Indikator laboratorium cedera hati harus diukur pada awalnya dan setiap hari selama terapi pada pasien dengan konsentrasi acetaminophen serum di atas garis nomogram pengobatan. Dengan kegagalan hati yang progresif, pengujian harus dilakukan setiap 12 jam. Sebagian besar pasien yang akan mengembangkan toksisitas hati memiliki tingkat AST yang meningkat dalam waktu 24 jam setelah menelan, dan dalam satu seri kecil, semua kasus melaporkan peningkatan AST dalam waktu 36 jam. Aktivitas AST normal pada 36 jam setelah konsumsi asetaminofen cukup untuk menghilangkan kemungkinan toksisitas hati (Ford, 2007).

Bila terjadi cedera hati setelah konsumsi acetaminophen, diperlukan pengujian diagnostik tambahan untuk memandu pengobatan dan menilai prognosis. Cedera hati parah dikaitkan dengan gangguan hepatosit yang luas, penurunan kapasitas untuk mensintesis faktor koagulasi, penurunan glikogen dan homeostasis glukosa yang berubah, dan penurunan sintesis dan ekskresi bilirubin. Dalam beberapa kasus, gagal ginjal berkembang. Tingkat toksisitas dapat dinilai dengan penentuan waktu protrombin (*Protrombin time=PT*), INR, pH arteri, dan kreatinin serum. Pasien dengan INR lebih dari 2 pada 24 jam, 4 pada 48 jam, atau 6 pada 72 jam cenderung mengembangkan *fulminant hepatic failure(FHF)*. Asidosis metabolik yang persisten meski terjadi penurunan volume intravaskular juga mengindikasikan prognosis buruk. Ini harus dibedakan dari asidosis laktik, terjadi pada awal overdosis dan tanpa bukti FHF, yang disebabkan oleh efek langsung asetaminofen pada pengambilan asam laktat hati dan oksidasi. Tingkat transaminase tidak memprediksi jalur klinis. Mereka mungkin mengalami penurunan selama pemulihan hati atau dengan FHF progresif. Selama pemulihan, biasanya terjadi penurunan transaminase serum, terjadi sebelum penurunan bilirubin serum. Insufisiensi ginjal akut juga terjadi dan mengindikasikan prognosis yang lebih buruk saat kreatinin serum lebih besar dari 300 mmol/L (3,4 mg/dL) yang berasosiasi dengan waktu protrombin (PT) lebih besar dari 100 detik dan ensefalopati hati grade III atau grade IV (Ford, 2007).

2. Darah

- a. Kolom GC: HP-5 (25 m 0,25 mm i.d., 0,33 mm).

- Suhu programme: 100 untuk 1 menit sampai 300 pada 10 / menit selama 14 menit. FID.
- b. Kolom GC-MS: SGE BPX5 (12 m 0,15 mm i.d., 0,44 mm). Program suhu: 80 selama 1 menit sampai 300 pada 20 / menit.
 - c. Kolom HPLC: LC8 Nova-Pak (150 mm). Fase gerak: asetonitril: 0,005 mol / L buffer fosfat (pH 6.0, 1: 9).
 - d. Kolom: Hipersil C18 (75 4,6 mm i.d., 3 mm). Fase mobile: 20 mmol / L ammonium formate buffer (pH 3.5): metanol (96: 4 selama 5 menit sampai 46: 54 pada 15 menit sampai 10: 90 pada 16 menit selama 2 menit sampai 96: 4 pada 19 menit selama 5 menit), aliran tingkat 0,8 mL / menit sampai 15 menit bila 1,0 mL / menit sampai 19 menit sampai 0,8 mL / menit. Deteksi UV (λ 254 nm). Batasan deteksi, 600 pg.
 - e. Kolom: LC-8DB (150 4,6 mm i.d., 5 mm). Fase gerak: asetonitril: metanol: 0,1 mol / L kalium dihidrogen fosfat: air (20: 10: 5: 65), laju alir 1,1 mL / menit. Deteksi UV (λ 245 nm).
 - f. Kolom: ODS-Hypersil (200 2,1 mm i.d., 5 mm). Fase gerak: buffer fosfat 2 mmol / L: asetonitril (95: 5 sampai 50: 50 di atas 20 menit selama 10 menit, sampai 95: 5 di atas 1 menit), laju alir 0,4 mL / menit. DAD (λ 210 nm).
 - g. Kolom: Apex ODS II (150 0,005 mm, 0,5 mm). Fase gerak: air: asetonitril: asam asetat glasial (425: 50: 25).
 - h. Kolom: Ultrasphere ODS (150 4,6 mm i.d.).
Fase gerak: asetonitril: 0,01 mol / L asam fosfat (7: 93), laju alir 1,0 mL / menit. Deteksi elektrokimia. Batas deteksi, 0,1 mg / L.
3. Plasma:
 - a. GC-Kolom Chromosorb W HP 100/120 mesh (1,5 m 4 mm i.d.).
Gas pembawa: N₂, 40 mL / menit. Suhu: 235. FID. Batas deteksi, 10 mg / L
 - b. Kolom: 3% SP2100 pada Supelsoport 100/120 mesh (1,5 m 4 mm i.d.).
Gas pembawa: N₂, 50 mL / menit. Suhu: 300. ECD. Batas kuantifikasi, 5 mg/L
Kolom: 3% SP 2250 pada kromosom mesh 80/100 W, AW / DMCS (2 m 2 mm i.d.). FID.
Batasan deteksi, > 0,1 mg.
 4. Susu HPLC Lihat Cairan Oral.
 5. Cairan Oral:
 - a. Kolom HPLC : TSkgel ODS-80Tm (250 4,6 mm i.d., 5 mm).
 - 1) Fase gerak: metanol, laju alir 1,0 mL / menit. Deteksi fluoresensi (λ_{em} 560 nm, λ_{ex} 540 nm). Batas deteksi, 0,1 mg / L [Fujino et al. 2005].
 - 2) Fase gerak: air: asetonitril: TEH (94: 6: 0.5), laju alir 1 mL / menit. Batas deteksi, 0,3 mg / L

- b. Kolom: Bondapak C18. Fase gerak: 0,05 mol / L natrium asetat (pH 4.0): asetonitril (93: 10), laju alir 2,0 mL / menit. Waktu retensi: 3-5 menit. Batas deteksi, 0,5 mg / L
6. Isi Perut - GC-MS: Lihat Darah [Singer et al. 2007].
7. Vitreous Humor- HPLC: Lihat Darah [Singer dkk. 2007].
8. Otak - HPLC :Lihat Darah [Pufal et al. 2000].
9. Rambut - Kolom HPLC: Simetri C8 (250 4,6 mm i.d., 5 mm).
 - a. Kolom: CP SIL8 CB (25 m 0,25 mm i.d., 0,25 mm).
 - b. Gas pembawa: Helium, 1,3 mL / menit.
 - c. Program suhu: 50 selama 2 menit sampai 310 jam 15 menit untuk 4.67 min.
 - d. Fase gerak: asetonitril: buffer fosfat (pH 3.8).
 - e. Deteksi: UV
10. Ginjal - HPLC Lihat Darah [Pufal et al. 2000].
 - a. Kolom: Apex (3 mm).
 - b. Fase gerak: air suling: asetonitril (86: 14).
 - c. Deteksi UV (λ 254 nm).
 - d. Batas deteksi, 50 mg / L.
11. Hati GC-MS Lihat Darah [Speed et al. 2001]. HPLC Lihat Darah
12. Otot HPLC Lihat Darah

H. Uji Skrining : Parasetamol pada serbuk atau tablet, urin, darah, plasma (Ditjenyanmed, 2004)

17. Metode Liebermann

- f. Prinsip
Parasetamol setelah diekstraksi dengan eter pada pH 3-4 (HCl 2 N) bereaksi dengan NaNO_2 dalam suasana H_2SO_4 pekat membentuk senyawa berwarna ungu.
- g. Alat
Tabung reaksi, Sentrifuse, Waterbath, Pipet tetes, Pipet ukur
- h. Reagen
HCl 2N, Eter, Pereaksi Liebermann (1 gram NaNO_2 dalam 10 ml H_2SO_4 pekat)
- i. Cara Kerja
 - 2) Kedalam tabung reaksi dimasukkan urin sebanyak 2 ml kemudian ditambahkan HCl 2 N sampai pH 3-4
 - 3) Ekstraksi dengan 5 ml eter selama 15 menit
 - 4) Keringkan ekstrak di waterbath
 - 5) Residu yang didapat ditambahkan 1 tetes pereaksi Liebermann
- j. Pembacaan Hasil

Apabila terbentuk **Ungu**, diduga specimen mengandung **Parasetamol**, sehingga perlu pemeriksaan lebih lanjut (konfirmasi test)

18. Metode Alphanafthol

f. Prinsip

Parasetamol diasamkan dengan HCl 10%, bereaksi dengan NaNO₂ dalam suasana alkalis dengan penambahan alphanaphthol membentuk senyawa berwarna merah

g. Alat : Tabung reaksi, Pipet tetes, Pipet ukur

h. Reagen

- (1) HCl 10%
- (2) Natrium Nitrit 1%
- (3) Pereaksi Alphanaphthol (Alphanaphthol 1% dalam NaOH 10%)

i. Cara Kerja

- (1) Kedalam tabung reaksi dimasukkan urin sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan HCl 10% dinginkan
- (2) Tambahkan 2-3 tetes larutan Natrium Nitrit 1%
- (3) Tambahkan 2-3 tetes Alphanaphthol 1% dalam NaOH 10% (dibuat baru)

j. Pembacaan Hasil

Apabila terbentuk **warna merah**, diduga specimen mengandung **Parasetamol**, sehingga perlu pemeriksaan lebih lanjut (konfirmasi test)

19. Metode O-Cressol

f. Prinsip

Parasetamol dan metabolitnya dihidrolisa dalam suasana asam menjadi P Aminophenol, dengan asam cresol membentuk senyawa berwarna biru terang

g. Alat : pipet, tabung reaksi

h. Reagen

Pergunakan semua reagen proanalisa

- (1) Pereaksi O-Cressol
Jenuhkan pereaksi O-Cressol
Kocok 10 ml O-Cressol dengan 1 aquadest, biarkan selama 24 jam sebelum digunakan
- (2) Ammonium Hidroksida 2 mol/l (2M)
- (3) HCl 36%
- (4) Standar urin
Pergunakan urin specimen pasien yang telah mengkonsumsi Parasetamol 1 gram dalam waktu 24 jam

i. Cara Kerja

- (1) Pipet 0,5 ml specimen (test urin, standar urin dan aquadest sebagai blanko) masing-masing tambahkan 0,5 ml HCL 36% kemudian panaskan diatas waterbath selama 10menit pada suhu 100°C
- (2) Ke dalam campuran diatas tambahkan 10 ml air, 1 ml O-Cressol 1% dalam air dan 4 ml Ammonium Hidroksida 2 mol/l (2M)
- (3) Perhatikan warna yang terbentuk

j. Pembacaan Hasil

*Apabila terbentuk **warna biru**, diduga specimen mengandung **Parasetamol**, sehingga perlu pemeriksaan lebih lanjut (konfirmasi test)*

I. Identifikasi Parasetamol (bahan kimia obat = BKO) pada Jamu metode KLT

a. Alat dan Bahan

- 1) TLC plate
- 2) Chamber kromatografi
- 3) Pipet mikropipiler
- 4) Lampu UV
- 5) Labu ukur 10 ml
- 6) Gelas kimia 50 ml

b. Reagensia

- 1) 1,2 dichloroetan
- 2) Etanol 95%
- 3) Aceton
- 4) Etil acetate
- 5) Asam acetate glassial
- 6) Heksana

c. Cara Kerja

- 1) Sebanyak 1,5 gram sampel jamu dimasukkan ke dalam gelas kimia diekstraksi dengan methanol/ aceton beberapa menit.
- 2) Saring menggunakan kertas Whatman no. 1 masukkan filtrat ke dalam labu ukur 10 ml.
- 3) Ulangi ekstraksi (no 2 dan 3).
- 4) Tambahkan etanol sampai volume 10 ml.
- 5) Lakukan kromatografi engan kondisi sebagai berikut :
Fase diam : silica gel GF 254
Fase gerak : 1. Asam asetat glassial dan 1,2 dichloroetan (1 : 12)

- 2. 1,2 dichloroetan : aceton : etanol : heksana (5 1:1:2)
 - 3. Etil acetat dan asam asetat glassial (25 : 1)
- Penjenuhan : kertas saring
- Jarak rambat : 12-15 cm
- Penampak bercak : UV 254/366 nm

Petunjuk jawaban latihan:

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Farmakokinetika parasetamol
2. Toksisitas parasetamol
3. Analisis laboratorium parasetamol

Latihan

1. Jelaskan metabolisme parasetamol!
2. Jelaskan toksisitas kronik parasetamol!
3. Sebutkan metode uji kualitatif parasetamol!
 - a. Jelaskan prosedurnya
 - b. Jelaskan pengamatan hasilnya
4. Jelaskan metode uji konfirmasi parasetamol!

Ringkasan

Parasetamol adalah salah satu obat analgesic yang dijual bebas, bekerja dengan mekanisme menghambat sintesis prostaglandin. Penggunaan dalam dosis terapeutik tidak menimbulkan gangguan kesehatan, tetapi penggunaan yang berlebihan dapat mengakibatkan toksisitas kronik. Parasetamol juga dapat menyebabkan toksisitas akut pada dosis toksik. Parasetamol diekskresi sekitar 90% dosis terapeutik diekskresikan dalam urin dalam 24 jam; dari bahan yang diekskresikan, 1-4% tidak berubah, 20-30% dikonjugasi dengan sulfat, 40-60% dikonjugasi dengan asam glukuronat, 5-10% terdiri dari 3-hidroksi-3-sulfat, 3-methoxyglucuronide dan metabolit 3-methoxy-3-sulfate, dan lebih kurang 5-10% terdiri dari asam mercapturat dan konjugat sistein.

Pada kasus keracunan sampel analisis laboratorium dapat diambil berupa darah, urin dan bahan yang dicurigai. Sebagai pengarah dapat dilakukan screening test dengan metode uji warna (alfa naftol dan O-cresol) sedangkan uji konfirmasi dilakukan dengan metode spektrofotometri dan gas kromatografi.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Toksisitas parasetamol termasuk dalam kategori
 - A. Hepatotoksik
 - B. Neurotoksik
 - C. Nefrotoksik
 - D. Karsinogen
 - E. Teratogen
 - F.
2. Jika pada serbuk yang dicurigai parasetamol dilakukan uji warna metode alfa naftol, bagaimana kita dapat menyimpulkan hasil positif?
 - A. terbentuk warna biru
 - B. terbentuk warna violet
 - C. terbentuk warna merah
 - D. terbentuk fluoresensi ungu
 - E. terbentuk endapan merah
3. Parasetamol mengalami metabolisme di dalam hepar. Senyawa metabolit apakah yang bersifat toksik dari hasil reaksi tersebut?
 - A. fenacetin
 - B. acetamonifen
 - C. APAP
 - D. NAPQI
 - E. Glukoronida
4. Jika sampel pemeriksaan parasetamol berupa urin, senyawa apakah yang dominan terdeteksi dalam urin tersebut?
 - A. Parasetamol utuh
 - B. Konjugat sisten
 - C. konjugat sulfat
 - D. Merkapturat
 - E. glukoronida
5. Pada pengujian parasetamol dalam jamu didapatkan data sebagai berikut: Rf standar parasetamol: 0.57, Rf bercak sampel : 0,50 ; bagaimanakah interpretasi hasil tersebut?
 - A. Sampel positif mengandung parasetamol

- B. Sampel negatif, tidak mengandung parasetamol
- C. Sampel positif mengandung BKO selain parasetamol
- D. Sampel negatif, tidak mengandung BKO
- E. Sampel positif mengandung BKO

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 2

- 1) B
- 2) D
- 3) A
- 4) D
- 5) C
- 6) A

Test Formatif 2

- 1. A
- 2. B
- 3. D
- 4. E
- 5. D

Glosarium

- Sinkop : adalah suatu kondisi kehilangan kesadaran yang mendadak, dan biasanya sementara, yang disebabkan oleh kurangnya aliran darah dan oksigen ke otak. Gejala pertama yang dirasakan oleh seseorang sebelum pingsan adalah rasa pusing, berkurangnya penglihatan, tinitus, dan rasa panas. Selanjutnya, penglihatan orang tersebut akan menjadi gelap dan ia akan jatuh atau terkulai.
- Hipoksia : adalah kondisi kurangnya pasokan oksigen di sel dan jaringan tubuh untuk menjalankan fungsi normalnya dapat mengganggu fungsi otak, hati, dan organ lainnya dengan cepat

Daftar Pustaka

- Cahyadi, W., (2012). *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*, Penerbit Bumi Aksara, Jakarta.
- Chipley, J.R. (2005). *Sodium Benzoate and Benzoic Acid in Antimicrobials in Foods*, ed. P. M. Davidson, et. al, CRC Press, New York.
- Davidson, P. M. dan A. L. Branen. (2005). *Antimicrobials in Food 3rd edition*. CRC Press Taylor&Francis Group, Boca Raton
- Fennema. 1996. *Food Chemistry. 3th Edition*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Flanagan, R.J., Brathwaite, R.A., Brown, S.S., Widdop, B., de Wolff, F.A., (1995). *Basic Analytical Toxicology*, World Health Organization, Geneva.
- Ford, M.D., Delaney, K.A., Ling, L.J., Erickson, T., (2001). *Ford: Clinical Toxicology*, 1st ed., 2001 W. B. Saunders Company.
- Garfield, F. G., E. Klesta dan J. Hirsch. 2000. *Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories*. AOAC International, USA.
- Hadi, A. (2007). *Sistem Manajemen Mutu Laboratorium*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Hampson, N.B., (2016). *US Mortality from Carbon Monoxide Poisoning 1999-2014: Accidental and Intentional Deaths*, Article in *Annals of the American Thoracic Society* 13(10). July 2016. <https://www.researchgate.net/publication/305711621> Diunduh 08 [diakses Maret 08 2018].
- Huber, L. 2001. *Validation of Analytical Methods*. www.labcompliance.com
- ICH. (1996). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology* Q2(R1)

- Jaeschke, H., McGill, M. R., & Ramachandran, A. (2012). *Oxidant Stress, Mitochondria and Cell Death Mechanisms In Drug-Induced Liver Injury: Lessons Learned From Acetaminophen Hepatotoxicity*. *Drug Metabolism Reviews*, 44(1), 88–106. <http://doi.org/10.3109/03602532.2011.602688>
- Mack, E.MD., (2007). *Focus on Diagnosis: CO-oxymetri, Pediatric in Review*, Vol 28 No. 2 Februari 2007
- Manahan, E.S. (2003). *Toxicological Chemistry and Biochemistry*, 3rd ed. Lewis Publisher, London.
- McGill, M. R., & Jaeschke, H. (2013). *Metabolism and Disposition Of Acetaminophen: Recent Advances In Relation to Hepatotoxicity and Diagnosis*. *Pharmaceutical Research*, 30(9), 2174–2187. [Http://Doi.Org/10.1007/S11095-013-1007-6](http://doi.org/10.1007/S11095-013-1007-6)
- Moffat, C.A., Osselton M,D., Widdop, B., (2011). *Clark's Analysis of Drugs and Poison: in pharmaceutical, body fluid and post mortem material*, 4th ed. Pharmacy Press, Chicago.
- Ritter, J,M., Lewis, L.D., Mant, T.G.K., Ferro, A., (2008). *A Textbook of Clinical Pharmacology and Therapeutics 5th Ed.*, Hodder & Arnold, London October 2016
- Winarno, F.G., (1995), *Kimia Pangan dan Gizi*, PT, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, Hal 228-230.
- Yoon, et al., E, Babar A, Choudhary M, Kutner M, Pyrsopoulos N. (2016). *Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update*. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 2016;4(2):131-142. doi:10.14218/JCTH.2015.00052.

Bab 9

ANALISIS PESTISIDA ORGANOFOSFAT DAN ORGANOKLORIN

Muji Rahayu, S.Si., M.Sc., Apt.

Pendahuluan

Pestisida adalah senyawa kimia yang banyak digunakan dengan tujuan untuk membunuh hama atau mengendalikan hama yang mungkin merupakan serangga, tikus, jamur, nematoda, tungau, kutu, moluska, dan gulma atau tumbuhan yang tidak diinginkan. Pestisida termasuk bahan yang relatif toksik sehingga sering terjadi kasus keracunan baik tidak sengaja maupun sengaja. Oleh sebab itu diperlukan pemeriksaan untuk membantu menegakkan diagnose penyebab keracunan oleh pestisida maupun penetapan tindakan terapi.

Pada topik 1 Anda akan dapat mempelajari pestisida organofosfat, sedangkan pada topik 2 dibahas tentang pestisida organoklorin. Pembahasan dibatasi dalam hal klasifikasi, patofisiologi terjadinya keracunan, toksisitas dan tentang toksokinetika yang mendasari pemilihan sampel serta metode analisis laboratoriumnya.

Setelah mempelajari modul ini, saudara diharapkan dapat memahami dan mampu melakukan analisis laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis akibat keracunan pestisida. Analisis laboratorium juga diperlukan untuk mengetahui kondisi pasien agar dapat segera ditentukan tindakan terapinya.

Topik 1

Pestisida Organofosfat

A. PENGANTAR

Keracunan akut dengan pestisida adalah masalah kesehatan masyarakat global terutama di negara berkembang, setidaknya membunuh 250.000-370.000 orang di seluruh dunia setiap tahunnya (Dawson, 2010). Mayoritas kematian terjadi karena paparan organofosfat, organoklorin dan aluminium fosfida. Senyawa organofosfat menghambat asetilkolinesterase sehingga terjadi toksisitas akut. Sindroma intermediate dapat terjadi pada sejumlah pasien dan dapat menyebabkan kelumpuhan pernapasan dan kematian (Goel, dan Aggarwal, 2007).

Penggunaan bahan kimia beracun yang tidak sesuai sering terjadi di negara-negara berkembang, yang menyebabkan paparan berlebihan dan risiko keracunan yang tidak disengaja yang tinggi. Resiko sangat tinggi dengan pestisida yang digunakan di pertanian, di mana penduduk pedesaan miskin tinggal dan bekerja di dekat senyawa ini, yang sering disimpan di dalam dan di sekitar rumah. Diperkirakan 99% dari semua kematian akibat keracunan pestisida terjadi di negara-negara berkembang. Sementara toksisitas akut pestisida telah terdokumentasi dengan baik, masih sedikit diketahui efek pestisida terhadap kesehatan paparan pestisida kronis. Insektisida organofosfat telah banyak digunakan dalam pertanian di negara-negara berkembang, dengan sedikit perlindungan bagi masyarakat dan individu yang terpapar (Da Silva et al, 2006).

B. KLASIFIKASI PESTISIDA

Pestisida adalah senyawa yang digunakan untuk membunuh hama yang mungkin merupakan serangga, tikus, jamur, nematoda, tungau, kutu, moluska, dan gulma atau tumbuhan yang tidak diinginkan.

Klasifikasi pestisida dapat didasarkan berbagai hal, antara lain berdasarkan fungsinya sebagai berikut Insektisida, Rodentisida, Fungisida, Nematicida, Acaricides, Moluskisida, Herbisida, Pestisida lain (Pillay, 2013). Pestisida juga dapat diklasifikasikan berdasarkan senyawa aktifnya, yaitu Organofosfat, Organoklorin, Karbamat, Piretroid

C. TINJAUAN KIMIA PESTISIDA ORGANOFOSFAT

Organofosfat adalah bahan kimia penghambat kolinesterase yang digunakan sebagai pestisida. Senyawa ini juga digunakan sebagai bahan kimia perang (Ford, 2007), dan sebagai pestisida di bidang pertanian di seluruh dunia (Banday, 2015). OP mencakup berbagai macam

senyawa dengan sifat fisik dan biologi yang berbeda termasuk toksisitas. OP adalah cairan dari volatilitas yang berbeda, larut atau tidak larut dalam air, pelarut organik, dll (Bajgar, 2005).

Senyawa organofosfat yang banyak digunakan dikelompokkan berdasarkan toksisitasnya dengan ukuran LD50 sebagai berikut (Pillay, 2013) :

1. Sangat beracun (LD50: 1 sampai 50 mg/kg), atau toksik (LD50: 51 sampai 500 mg/kg) : Chlorfenvinphos, Chlorpyrifos, Demeton, Diazinon, Dichlorvos, Dimethoate, Disulfoton, Ediphenphos, Ethion, Fenitrothion, Fensulfothion, Fenthion, Fonophos, Formothion, Methyl Parathion, Mevinphos, Monocrotophos, Oxydemeton Methyl, Phenthoate, Phorate, Phosphamidon, Quinalphos, TEPP, dan Thiometon .
2. Senyawa berikut cukup toksik (LD50: 501 sampai 5000 mg / kg), atau sedikit toksik (LD50: lebih dari 5000 mg/kg): Abate, Acephate, Coumaphos, Cruformate, Famphur, Glyphosate, Malathion, Phenthoate, Primiphos Methyl, Ronnel, Temephos, Triazophos, dan Trichlorphon.

Bahkan dalam kasus di mana pengobatan dimulai lebih awal dengan atropin dan oksim, mortalitas pada keracunan organofosfat umumnya sampai 7 sampai 12% (Pillay, 2005).

Toksitas organofosfat adalah akibat stimulasi kolinergik yang berlebihan melalui penghambatan asetilkolinesterase. Efek toksiknya serupa dengan inhibitor kolinesterase yang digunakan secara medis untuk mengobati glaukoma (physostigmine), myasthenia gravis (neostigmine, pyridostigmine), takikardia supraventrikular (edrophonium), dan penyakit Alzheimer (*tetrahydro aminoacridine*). Paparan terhadap inhibitor kolinesterase mengikuti konsumsi dan overdosis yang disengaja dan tidak disengaja, kesalahan dan kecelakaan kerja, dan perang internasional. Identifikasi keracunan mungkin sederhana bila pasien hadir dengan paparan yang diketahui, atau mungkin sangat sulit dilakukan pada pasien yang sakit kritis dengan gejala yang membingungkan dan tidak ada riwayat pemaparan. Pengobatan terdiri dari dekontaminasi, blokade hiperaktivitas muskarinik dengan atropin, pembalikan penghambatan kolinesterase dengan nukleofil oxime (pralidoxime), dan koreksi kelainan metabolik. Mayoritas pasien yang terpapar secara signifikan terhadap organofosfat dan karbamat memiliki prognosis yang baik. Pasien yang mengalami polineuropati tertunda organophosphorus akan memiliki gejala sisa yang bertahan dalam waktu yang lama (Ford, 2007).

D. FISILOGI ASETILKOLIN DAN KOLINESTERASE

Acetylcholine, neurotransmitter pertama yang ditemukan, pada awalnya digambarkan sebagai "barang vagus" oleh Otto Loewi karena kemampuannya untuk meniru rangsangan listrik saraf vagus. Sekarang diketahui neurotransmitter pada semua ganglia otonom, pada banyak organ yang secara otonom diinervasi, di persimpangan neuromuskular, dan pada banyak sinapsis di susunan saraf pusat (SSP)

Dalam sistem saraf otonom, asetilkolin (ACh) adalah neurotransmitter pada neuron simpatik dan parasimpatik preganglionik. ACh juga merupakan neurotransmitter di medula adrenal dan berfungsi sebagai neurotransmitter pada semua organ yang mengandung parasimpatis. ACh juga merupakan neurotransmitter pada kelenjar keringat, dan pada otot piloerector ANS yang simpatik. Pada sistem saraf perifer, ACh adalah neurotransmitter di persimpangan neuromuskular antara saraf motor dan otot rangka.

1. Acetylcholine sebagai Neurotransmitter

Neurotransmitter ACh pertama ditemukan pada semua ganglia otonom, pada banyak organ yang dipersarafi secara otonom, pada sambungan neuromuskular, dan pada banyak sinapsis di sistem saraf pusat. Dalam sistem saraf otonom, ACh adalah neurotransmitter pada neuron simpatik dan parasimpatik preganglionik, dan juga di medula adrenal dan berfungsi sebagai penghantar saraf di semua organ yang mengandung parasimpatis. ACh juga merupakan neurotransmitter pada kelenjar keringat, dan pada otot piloerector dari sistem saraf otonom simpatis (Colovic et al., 2013).

Ketika acetylcholine (ACh) mengikat reseptornya, secara langsung atau tidak langsung menyebabkan pembukaan gerbang yang diatur secara kimia. Dalam banyak kasus, ini menghasilkan depolarisasi yang disebut potensial postsynaptic yang merangsang, atau EPSP. Dalam beberapa kasus, ACh menyebabkan hiperpolarisasi yang dikenal sebagai penghambat potensial postsynaptic, atau IPSP

Acetylcholine digunakan sebagai neurotransmitter eksitasi oleh beberapa neuron di SSP dan oleh neuron motor somatik pada sambungan neuromuskular. Pada ujung saraf otonom, ACh bisa berupa rangsang atau penghambatan, tergantung pada organ yang terlibat.

Berbagai tanggapan sel postsynaptic terhadap bahan kimia yang sama dapat dijelaskan, sebagian, oleh fakta bahwa sel-sel pasca-sinapsis yang berbeda memiliki sub tipe reseptor ACh yang berbeda. Sub tipe reseptor ini dapat secara khusus distimulasi oleh racun tertentu,

Efek stimulasi ACh pada sel otot skeletal dihasilkan oleh pengikatan reseptor ACh ke nicotinic ACh, dinamakan demikian karena dapat juga diaktifkan oleh nikotin. Efek ACh pada sel lain terjadi ketika ACh berikatan dengan reseptor ACh muskarinik; Efek ini juga bisa diproduksi oleh muscarine (obat yang berasal dari jamur beracun tertentu).

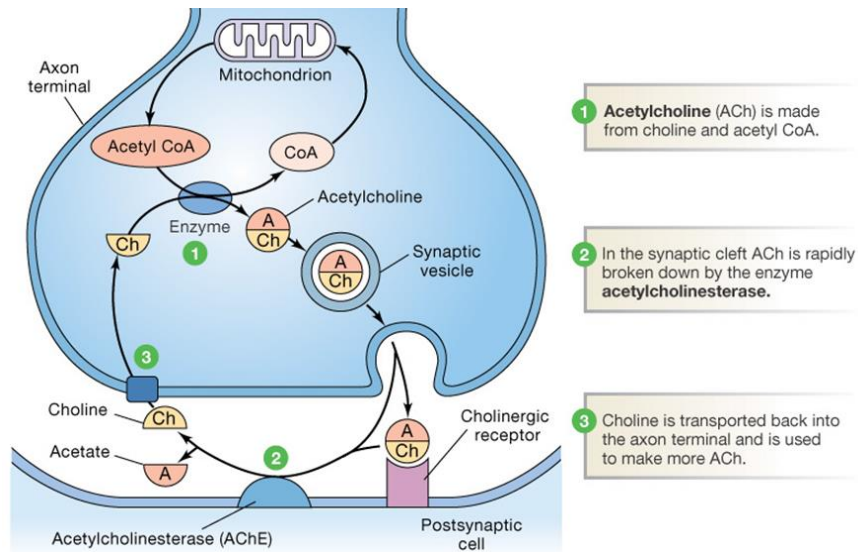
Gambaran tentang distribusi dua jenis reseptor ACh menunjukkan bahwa terminologi dan konsep asosiasinya ini penting dalam memahami fisiologi sistem tubuh yang berbeda.

- a. Reseptor ACC Nikotik. Ini ditemukan di daerah otak tertentu, di ganglia otonom, dan pada serat otot rangka. Pelepasan ACh dari neuron motor somatik dan pengikatnya selanjutnya ke reseptor nikotin, misalnya, merangsang kontraksi otot.
- b. Reseptor ACR muskarinik. Ini ditemukan di membran plasma sel otot polos, sel otot jantung, dan sel kelenjar tertentu. Dengan demikian, aktivasi reseptor ACH muscarinic

oleh ACh yang dilepaskan dari akson otonom diperlukan untuk pengaturan sistem kardiovaskular, sistem pencernaan, dan lain-lain.

2. Cholinesterase (Colovic et al., 2013)

Cholinesterase adalah keluarga enzim yang mengkatalisis hidrolisis neurotransmitter asetilkolin (ACh) menjadi kolin dan asam asetat, sebuah reaksi yang diperlukan untuk memungkinkan neuron kolinergik kembali ke keadaan istirahat setelah aktivasi. Ini melibatkan dua jenis:



Gambar 9.1 Fisiologi Asetilkolin dan kolinesterase

Sumber : http://faculty.pasadena.edu/dkwon/chap%208_files/textmostly/slide58.html

- Acetylcholinesterase (AChE, acetylcholine acetylhydrolase, E.C. 3.1.1.7) ditemukan pada banyak jenis jaringan pengatur: jaringan saraf dan otot, jaringan pusat dan perifer, serat motor dan sensor, dan serat kolinergik dan noncholinergik. Aktivitas AChE lebih tinggi pada neuron motorik daripada neuron sensorik. AChE juga ditemukan di selaput sel darah merah. Enzim ini berada dalam bentuk molekul ganda, yang memiliki sifat katalitik serupa, namun berbeda dalam rakitan oligomer dan cara menempelnya pada permukaan sel.
- Pseudokolinesterase (BuChE, EC 3.1.1.8), juga dikenal sebagai cholinesterase plasma, butyrylcholinesterase, atau acylcholine asylhydrolase, ditemukan terutama di hati. Berbeda dengan AChE, BuChE menghidrolisis butyrylcholine lebih cepat daripada ACh. (Colovic et al., 2013).

E. TOKSOKINETIKA

Senyawa golongan organofosfat adalah kumpulan senyawa yang memiliki kesamaan struktural. Kinetika masing-masing kelompok sangat bergantung pada

beberapa faktor fisik. Beberapa diantaranya meliputi rute pemberian (penyerapan, injeksi, inhalasi, penyerapan transdermal dan transmukosa), jarak dari organ target, metabolisme dan aktivasi lokal versus sistemik, rute eliminasi, hidrolisis endogen, dan konsumsi senyawa oleh berbagai esterase nonspesifik sebelum mencapai organ target. Pertimbangan struktural mencakup kelompok yang terikat pada bagian belerang, karbon, atau fosfor, kekencangan ikatan ke atom pusat, dan afinitas senyawa untuk cholinesterases (Ford, 2007).

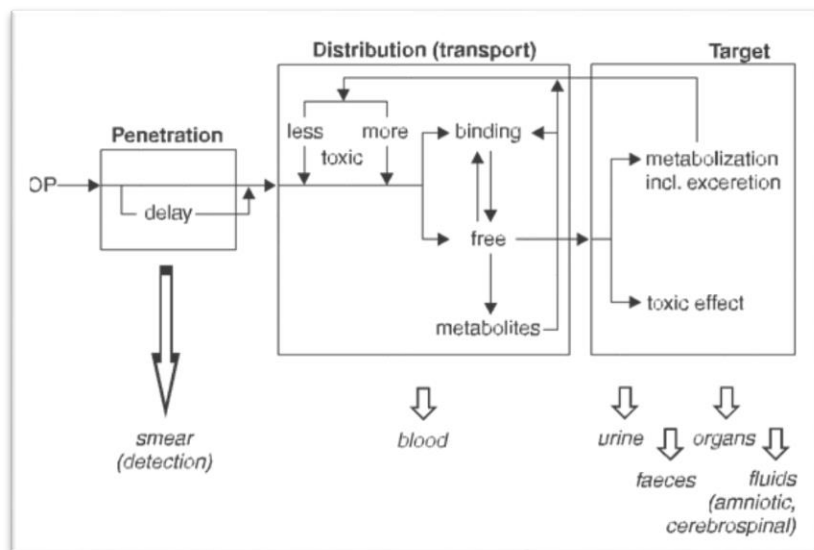
Senyawa organofosfat (OP) menembus ke dalam organisme tergantung rute paparan, injeksi i.v yang diberikan langsung ke aliran darah (sistem transportasi), OP menembus ke sistem transportasi (proses ini sedikit banyak tertunda), dan didistribusikan ke dalam sisi efek metabolik dan toksik (Bagjar, 2005).

Organofosfat dapat diserap oleh rute apapun termasuk transdermal, transconjunctival, inhalasi, melintasi mukosa saluran cerna dan melalui injeksi langsung (Pillay, 2013).

Metabolisme terjadi terutama oleh oksidasi, dan hidrolisis oleh esterase dan oleh reaksi dengan glutathione. Demetilasi dan glukuronidasi juga dapat terjadi. Oksidasi pestisida organofosfat dapat menyebabkan produk beracun. Secara umum fosforotioat tidak beracun secara langsung namun membutuhkan metabolisme oksidatif pada racun proksimal. Reaksi glutathione transferase menghasilkan produk yang, dalam banyak kasus, rendah toksisitasnya. Reaksi hidrolis dan transferase mempengaruhi kedua thioate tersebut dan turunannya. Berbagai reaksi konjugasi mengikuti proses metabolisme primer, dan eliminasi. Residu mengandung fosfor bisa melalui urine atau kotoran. Parathion, misalnya, harus diaktifkan oleh oksidatif konversi melalui hati enzim sitokrom P450 mikrosomal menjadi paraoxon, penghambat cholinesterase poten. Kedua senyawa tersebut dengan cepat dihidrolisis oleh esterase plasma dan jaringan, menjadi asam dietilthiophosphoric, asam dietil-fosfat, dan p-nitrophenol. Produk ini diekskresikan sebagian besar di urin dan mewakili mayoritas dosis parathion. Metabolit (dapat kurang atau lebih beracun dari pada senyawa induknya) dilepaskan ke dalam aliran darah dan didistribusikan ke lokasi target (Pillay, 2013).

Organofosfat dapat dimetabolisme, dapat terikat pada protein, enzim, dan lain-lain. Dengan demikian, ada beberapa kemungkinan untuk pengambilan sampel biologis seperti yang ditunjukkan pada Gambar 9.2. Sampel biologis yang mungkin (diperoleh pra atau post mortem) dapat dianalisis dengan cara yang berbeda seperti ditunjukkan pada Gambar 9.3. Namun, cairan dan organ sangat penting untuk mendeteksi keracunan pada manusia (ini lebih penting untuk diagnosis laboratorium penyakit lain). Dalam penelitian eksperimental tentang hewan, kombinasi organofosfat sering digunakan tidak hanya

untuk tujuan diagnostik, namun terutama untuk penelitian yang berkaitan dengan tindakan dan efek terapi antidotal (Bagjar, 2005).

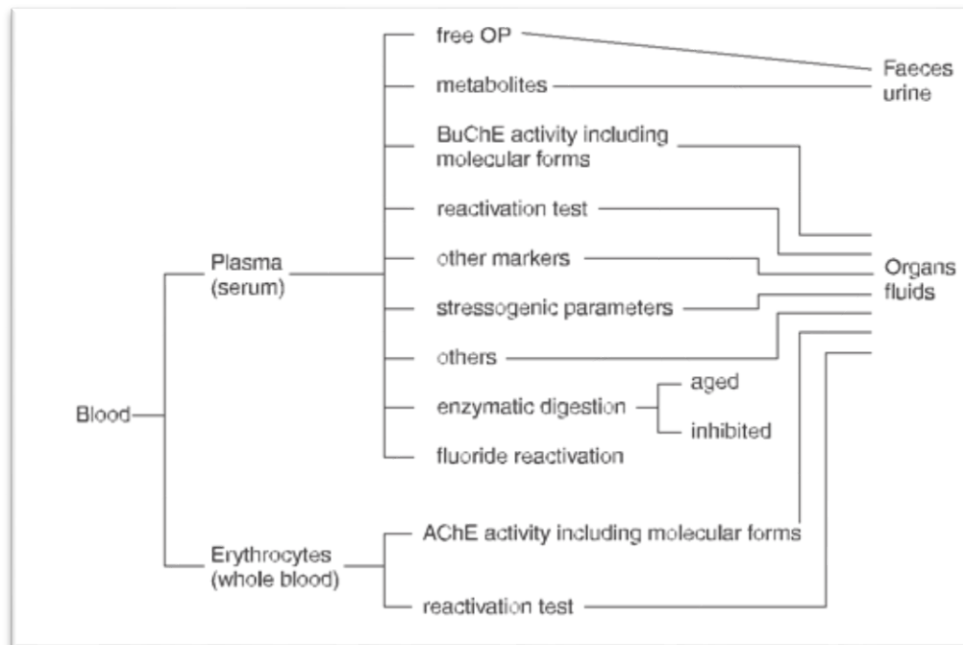


Gambar 9.2 Tahapan toksokinetika OP terkait dengan sampel untuk diagnosis keracunan OP
Sumber : Bagjar, 2005

Cholinesterase termasuk dalam kelompok hidrolase yang membelah ikatan ester, yaitu subkelompok esterase yang mengkatalisis hidrolisis ester menjadi alkohol dan asam. Cholinesterase menghidrolisis ester kolin lebih cepat daripada ester lainnya dan sensitif terhadap OP dan eserine.

Berdasarkan afinitas terhadap substrat alamnya yaitu ester kolin, cholinesterase dibagi menjadi AChE dan BuChE. AChE, kolinesterase spesifik atau "true", jenis "e" cholinesterase (EC 3.1.1.7) dengan afinitas yang lebih tinggi terhadap asetilkolin daripada butyrylolin, dan menghidrolisis asetil beta metilkolin. Aktivitas AChE tinggi diamati pada eritrosit, otak, organ *Electrophorus Electricus* dan sambungan neuromuskular. AChE terdiri dari subunit dan dapat dipisahkan ke dalam bentuk molekul yang berbeda. BuChE, pseudokolinesterase, kolinesterase tidak spesifik, jenis "s" cholinesterase (EC 3.1.1.8) terdapat dalam plasma (serum), pankreas dan hati (tempat enzim ini di sintetis). BuChE tidak menghidrolisis asetil-beta-metilkolin dan memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap butyryl dan propionil kolin dibandingkan dengan asetilkolin. Ada isoenzim BuChE yang ditentukan secara genetis. Bergantung pada materi genetis, beberapa individu memiliki aktivitas BuChE yang sangat rendah atau tidak sama sekali. Orang-orang dengan aktivitas BuChE yang genetis dapat berisiko lebih tinggi bila terkena pestisida. Plasma individu dengan aktivitas BuChE normal menghidrolisis suksinilkolin atau mengikat sebagian pestisida OP dan oleh karena itu, dosis sebenarnya dari senyawa-senyawa ini yang menembus ke lokasi target berkurang. Jika tidak

terjadi BuChE, dosis yang diberikan tidak menurun dan, oleh karena itu, dosis relatif lebih tinggi terjadi (Bagjar, 2005)



Gambar 9.3 Sampel dan parameter analisis laboratorium keracunan OP

Sumber : Bagjar, 2005

F. PATOFISIOLOGI

Gejala awal keracunan paling cepat dengan paparan inhalasi (dalam hitungan detik untuk gas tabun atau sarin) atau senyawa yang disuntikkan dan paling lambat dengan penyerapan transdermal, walaupun VX dapat menyebabkan toksisitas langsung setelah diaplikasikan pada kulit. Mayoritas agen harus menunjukkan beberapa tanda dan gejala toksisitas dalam waktu 6 sampai 12 jam setelah terpapar dengan pengecualian senyawa yang sangat larut dalam lemak (fenthion, difenthion, chlorfenthion). Senyawa yang larut dalam lemak mungkin tidak menyebabkan toksisitas selama beberapa hari sampai minggu karena zat tersebut harus "dikeluarkan dari lemak sampai jumlah cholinesterase yang cukup dihambat menyebabkan gejala. Agen lain yang mungkin telah menunda timbulnya gejala termasuk senyawa yang memerlukan aktivasi hati untuk mengubah zat ke keadaan toksik aktifnya (misalnya parathion ke paraoxon) (Ford, 2007).

Pasien akan tetap sakit secara klinis selama ada toksin aktif yang tersedia untuk mengikat kolinesterase bebas dan menekan cholinesterase menjadi kurang dari 20 persen aktivitas. Hal ini dipengaruhi oleh laju hidrolisis endogen (bulan untuk organofosfat sampai jam dengan karbamat), jumlah esterase nonspesifik yang tidak terikat yang tersedia untuk mengais racun bebas, dan menyebarkan pralidoxime. Kecuali agen yang larut dalam lemak,

pada awalnya diyakini bahwa sebagian besar residu organofosfat dieliminasi dalam 48 jam pertama setelah terpapar. Data yang lebih baru menunjukkan residu ini mungkin bertahan selama beberapa hari sampai berminggu-minggu, bahkan setelah pengobatan gejala awal yang berhasil. AChE, jika tidak diregenerasi oleh oksim nukleofilik seperti penangkal pralidoxime, harus dihasilkan di terminal saraf, sebuah proses yang mungkin memakan waktu beberapa bulan. BuChE adalah protein fase akut yang disintesis secara hepatis yang dapat diganti dalam beberapa minggu. Toksisitas, bagaimanapun, tergantung pada aktivitas AChE (Ford, 2007)

Senyawa organofosfat menghambat fungsi hidrolase ester karboksilat seperti chymotrypsin, AChE, plasma atau BuChE (pseudocholinesterase), plasma dan hati karboksilesterase (aliesterase), paraoxonase (asterase), dan esterase nonspesifik lainnya di dalam tubuh. Efek klinis yang paling menonjol dari keracunan dengan senyawa organofosfat terkait dengan penghambatan ACh (Ford, 2007).

Acetylcholine (ACh) adalah neurotransmitter yang ditemukan pada sambungan neuromuskular, pada sinapsis preganglionik pada sistem saraf otonom simpatik dan parasimpatis, pada terminal parasimpatis postganglionik (muskarinik), dan di dalam otak. Potensi aksi yang dihasilkan oleh stimulasi sistem kolinergik menyebabkan pelepasan ACh yang dimediasi kalsium di terminal saraf. ACh kemudian mengikat reseptor postsynaptic melalui protein G (muscarinic) dan saluran ion terkait ligan (nikotinic). Pengikatan reseptor mengubah aliran ion kalium, natrium, dan kalsium yang menyebabkan perubahan permeabilitas membran dan potensial membran yang berubah. Hal ini memungkinkan untuk propagasi potensi aksi. AChE, yang menghidrolisis ACh menjadi asam asetat dan kolin, ditemukan di setiap lokasi di mana ACh adalah neurotransmitter operatif. Ini mengakhiri efek pengikatan ACh dengan cepat menghancurkan ACh di celah sinaptik. Ketika AChE tidak aktif, ACh menumpuk dan depolarisasi membran masif terjadi, mengakibatkan stimulasi reseptor tetanik dan kelumpuhan fungsi akhirnya.

AChE juga secara genetis diekspresikan pada permukaan eritrosit. Jumlah aktivitas AChE dalam sel darah merah mencerminkan keadaan aktivitas AChE neuronal dan berotot. BuChE, atau pseudocholinesterase, diproduksi di hati dan ditemukan di plasma, hati, jantung, pankreas, dan otak. Peran BuChE belum terbentuk. Namun, mudah untuk diuji dan aktivitasnya mencerminkan AChE cukup dekat untuk memberikan penanda yang baik untuk fungsi kolinesterase.

Mekanisme aksi AChE didefinisikan dengan baik. ACh mengikat ke dalam lekukan asil pada molekul AChE. Di dekat lekukan adalah situs pengikat anionik dan situs aktif serin. Bentuk lekukan memberi stereospesifikasi karena mengikat AChE. ACh memasuki kantong dan mengikat di tempat aktif kolin, menyebabkan perubahan alosterik dalam bentuk lekukan atau

kantung. Setelah hidrolisis enzimatis ACh menjadi asam asetat dan kolin, lekukan akan kembali berbentuk normal. Waktu omset untuk enzim hidrolisis kira-kira 150 μ sec (Ford, 2007).

Organofosfat dan karbamat dapat mengikat ke dalam kantong asil di tempat aktif AChE. Pengikatan gugus fosfat (organofosfat) atau karbamil (karbamat) ke asam amino serin di tempat aktif ACh mengubah konfigurasi molekul enzim, menstabilkan dan mencegahnya berfungsi. Kelompok karbamil dari karbamat secara spontan akan terdisosiasi dalam waktu 24 jam, meninggalkan enzim fungsional. Namun, regenerasi spontan AChE terfosforilasi membutuhkan waktu beberapa hari sampai berbulan-bulan; Jadi, dari perspektif fisiologis, enzim yang terfosforilasi oleh organofosfat secara permanen tidak aktif. Fungsi hanya dapat dipulihkan jika enzim baru dibuat atau obat penawar menggantikan bagian fosfat. Karena regenerasi enzim memakan waktu berminggu-minggu, satu-satunya pilihan fisiologis sebenarnya adalah menggunakan obat penawar (Ford, 2007).

Organofosfat adalah penghambat kuat asetilkesterase yang bertanggung jawab untuk menghidrolisis asetil kolin menjadi kolin dan asam asetat setelah dilepaskan dan selesainya fungsinya (yaitu perambatan potensial aksi). Akibatnya, ada akumulasi asetilkolin dengan stimulasi reseptor lokal lanjutan dan kelumpuhan saraf atau otot akhirnya (Pillay, 2013).

Meskipun organofosfat berbeda secara struktural dari asetilkolin, mereka dapat mengikat molekul asetilkolinesterase di tempat aktif dan fosforilasi bagian serin. Bila ini terjadi, konjugat resultan jauh lebih stabil daripada konjugat asetilkolin-asetilkristalin, meskipun hidrolisis endogen memang terjadi. Bergantung pada jumlah stabilitas dan distribusi muatan, waktu untuk hidrolisis meningkat. Enzim fosforilasi terdegradasi sangat lambat selama beberapa hari sampai minggu, membuat asetilkolinesterase pada dasarnya tidak aktif.

Setelah asetilkolinesterase terfosforilasi, selama 24 sampai 48 jam selanjutnya gugus alkil akhirnya hilang dari konjugasi, yang selanjutnya memperburuk situasi. Karena bila ini terjadi, enzim tidak dapat lagi menghidrolisis secara spontan dan menjadi tidak aktif secara permanen.

Selain asetilkolinesterase, organofosfat mengakibatkan penghambatan yang kuat terhadap hidrolase ester karboksilat lainnya seperti chymotrypsin, butyrylcholinesterase (pseudocholinesterase), karboksiesterase, partikeloksinase, dan protease non spesifik lainnya.

Telah diusulkan bahwa neuropati perifer tertunda yang disebabkan oleh organofosfat adalah karena fosforilasi beberapa esterase selain asetilkolinesterase, seperti otoase neurotoksik, yang juga dikenal sebagai target neuropati esterase (NTE). Neuropati yang disebabkan oleh penghambatan NTE dapat berkembang 2 sampai 5 minggu setelah keracunan akut. Manifestasi biasanya dimulai dalam beberapa menit sampai beberapa menit jam, namun mungkin tertunda sampai 12 jam atau lebih dalam kasus senyawa tertentu (misalnya fenthion, parathion) (Pillay, 2013).

Tanda dan gejala keracunan inhibitor kolinesterase berkaitan dengan pengaruhnya terhadap tiga area yang terpisah dari sistem saraf kolinergik: (1) Efek terhadap organ post ganglionik ujung saraf parasimpatis (muskarinik); (2) efek ganglionic saraf simpatik dan parasimpatis dan somatik neuromuskular *junction* (nikotinik); dan (3) efek SSP. Pasien yang keracunan dapat menunjukkan tanda atau gejala yang terkait dengan berbagai tingkat stimulasi kolinergik di masing-masing dari ketiga area ini.

Rangsangan muskarinik menghasilkan tanda: air liur berlebihan, lakrimasi, bronkorea, inkontinensia kencing dan feses, dan muntah. Bronkokonstriksi adalah temuan muskarinik, seperti miosis. Efek kardiovaskular berhubungan dengan peningkatan tonus vagal yang nyata sebagai bradikardia, waktu konduksi nodus nodular berkepanjangan dan atrioventrikular yang berkepanjangan, dan penurunan periode refraktori atrium yang efektif (Ford, 2007).

1. Gambaran Klinis

a. Keracunan Akut:

1) Ekses Kolinergik

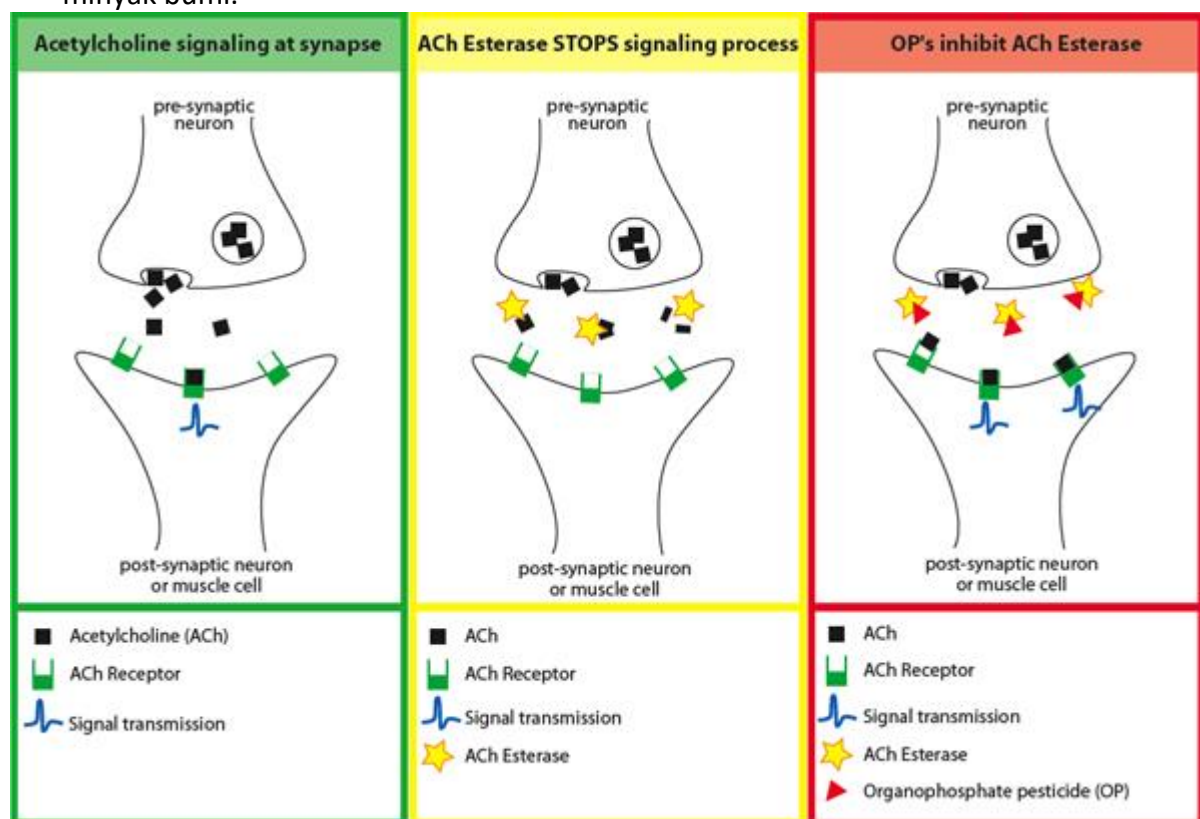
- a) Efek Muskarinik (manifestasi parasimpatis pada organ berongga): Manifestasi umum meliputi bronkokonstriksi dengan mengi dan dyspnoea, batuk, edema paru, muntah, diare, kram perut, peningkatan salivasi, lakrimasi, dan berkeringat, bradikardia, hipotensi, miosis, dan inkontinensia urin. Beberapa di antaranya bisa diingat dengan akronim *SLUDGE* (*Salivasi, Lacrimation, Urination, Diare, Gastrointestinal distress dan Emesis*). Air liur berlebihan, mual, muntah, kram perut, dan diare adalah efek muskarinik yang umum, dan telah dilaporkan terjadi bahkan setelah penyerapan organofosfat kulit. Bradycardia dan hipotensi terjadi setelah keracunan sedang sampai berat (Pillay, 2013).

Kumpulan gejalanya juga disebut *DUMBELS* (*diare, urinary incontinensia, miosis, muscle fasciculasi, bronkorea, bronkokonstriksi, bradikardi, emesis, lakrimasi, salivasi*) (Ford, 2007).

- b) Efek Nikotinik (efek motorik ganglionic dan somatik otonom): Fasciculasi, kelemahan, hipertensi, takikardia, dan kelumpuhan. Kelemahan otot, kelelahan, dan fasciculations sangat umum terjadi. Hipertensi dapat terjadi pada 20 persen pasien. Takikardia juga umum terjadi. Aritmia jantung dan defek konduksi telah dilaporkan pada pasien dengan keracunan berat. Kelainan EKG (echocardiogram) dapat meliputi sinus bradikardia atau takikardia, penundaan konduksi atrioventrikular dan atau atau intraventrikular, ritme idioventrikular, kelebihan paritas ventrikel prematur, takikardia ventrikel atau fibrilasi, perpanjangan interval PR, QRS, dan / atau QT, ST Perubahan gelombang T, (Gambar 9.3) dan fibrilasi atrium.
- c) Efek SSP: Kegelisahan, sakit kepala, tremor, stupor, delirium, ucapan kabur, ataksia, dan kejang. Dalam tinjauan 16 Kasus keracunan organofosfat pediatrik, semua 16 anak

mengalami stupor dan atau koma. Kematian biasanya diakibatkan oleh kegagalan pernafasan karena kelemahan otot pernafasan, serta depresi pada dorongan pernafasan sentral.

Cedera paru akut (*non-cardiogenic pulmonary edema*) merupakan manifestasi umum keracunan parah. Insufisiensi pernafasan akut, karena kombinasi depresi SSP, paralisis pernafasan, bronkospasme, atau peningkatan sekresi bronkus, adalah penyebab utama kematian pada keracunan organosfat akut. Asidosis telah terjadi pada keracunan parah. Aroma seperti kerosin khas seringkali terlihat di sekitar pasien karena pelarut yang digunakan pada banyak insektisida organofosfat adalah turunan minyak bumi.



Gambar 9.4 Efek Oragnofosfat terhadap AChE

Sumber: <http://emdidactic.blogspot.co.id/2015/06/organophosphorus-toxidrome.html>

2) Efek penting lainnya

- Peradeniya Organophosphorus Poisoning* (POP) adalah perkiraan kematian, kebutuhan akan ventilasi mekanis, dan jumlah atrofin total yang diperlukan selama 24 jam pertama. Tingkat skala ini menggunakan 5 variabel klinis, masing-masing pada skala 0 sampai 2 yaitu miosis, fasciculasi otot, respirasi, bradikardia, dan tingkat kesadaran.

- b) Dalam kasus tertentu, mungkin ada tachycardia atau bradycardia; hipotensi atau hipertensi.
- c) Miosis saat menjadi ciri khas, mungkin tidak terlihat pada tahap awal. Sebenarnya mydriasis sangat sering terjadi, dan karenanya pengobatan tidak boleh ditunda jika tidak ada konstruksi pupil. Penglihatan kabur bisa bertahan selama beberapa bulan.
- d) Paparan okular dapat menyebabkan toksisitas sistemik. Hal ini dapat menyebabkan miosis persisten meskipun terapi sistemik yang tepat, dan mungkin memerlukan atropin topikal (atau skopolamin).
- e) Paparan uap organofosfat dengan cepat menghasilkan gejala membran mukosa dan iritasi saluran napas bagian atas dan bronkospasme, diikuti oleh gejala sistemik jika pasien terpapar konsentrasi signifikan.
- f) Sementara kegagalan pernafasan adalah penyebab kematian yang paling umum, penyebab lain dapat menyebabkan hipoksia akibat kejang, hipertermia, gagal ginjal, dan gagal hati.
- g) Pasien dengan keracunan OP dan pemanjangan QTc lebih cenderung mengalami gagal napas dan memiliki prognosis yang lebih buruk dibandingkan pasien dengan interval QTc normal. Pasien dengan keracunan OP yang mengembangkan PVC (kontraksi ventrikel prematur) lebih cenderung mengalami gagal napas dan memiliki tingkat kematian lebih tinggi daripada pasien tanpa PVC.
- h) Aspirasi dari preparat yang mengandung pelarut hidrokarbon dapat menyebabkan pneumotoritis lipid fatal.
- i) Sindrom Intermediate kadang terjadi satu sampai empat hari setelah keracunan akibat penghambatan kolinesterase dan nekrosis otot yang berlangsung lama. Hal ini lebih sering terjadi pada chlorpyrifos, dimethoate, monocrotophos, parathion, sumithion, fenthion, fenitrothion, parathion etil, metil parathion, diazinon, malathion, dan trichlorfon. Gejala utama meliputi kelemahan otot dan kelumpuhan yang ditandai dengan palsei saraf kranial motorik, kelemahan flektor leher dan otot ekstremitas proksimal, dan paresis pernafasan akut.
- j) Tanda-tanda kelumpuhan termasuk ketidakmampuan mengangkat leher atau duduk tegak, ophthalmoparesis, gerakan mata yang lambat, kelemahan wajah, sulit menelan, kelemahan anggota badan (terutama proksimal), adalah flexia, paralisis pernafasan, dan kematian. Ini mungkin karena perawatan episode akut yang tidak memadai terutama yang melibatkan administrasi oksidasi di daerah atau operasi ventilasi yang tidak memadai. Beberapa peneliti telah mengusulkan bahwa sindrom intermediate dapat berkembang sebagai akibat dari beberapa faktor: terapi oksigen yang tidak adekuat, dosis dan rute paparan, struktur kimia

organofosfat, waktu untuk memulai terapi, dan mungkin upaya untuk mengurangi penyerapan atau meningkatkan eliminasi dari organofosfat. Jika sudah mulai, sindrom intermediate harus dikelola dengan tindakan suportif, karena tidak merespons oksim atau atropin.

- k) Suatu Sindrom Tertunda kadang-kadang terjadi 1 sampai 4 minggu setelah keracunan karena demielinasi saraf, dan ditandai dengan kelemahan lembek dan atrofi otot ekstremitas distal, atau spastisitas dan ataksia. Neuropati sensorik campuran biasanya dimulai di kaki, menyebabkan rasa terbakar atau kesemutan, lalu kelemahan. Sindrom ini juga tidak merespons oksim atau atropin. Kasus parah berkembang mengakibatkan kelumpuhan, gangguan respirasi dan kematian. Kerusakan saraf neuropati tertunda organofosfat sering terjadi permanen. Mekanisme ini tampaknya melibatkan fosforilasi esterase di jaringan saraf perifer dan menghasilkan pola "kematian kembali" akibat degenerasi aksonal. Organofosfat yang dikaitkan dengan neuropati tertunda pada manusia meliputi chlorophos, chlorpyrifos, dichlorvos, dipterex, ethyl parathion, fenthion, isofenphos, leptophos, malathion, mecarbam, merphos, methamidophos, mipafox, trichlorofon, trichloronate, dan TOCP (tri-ortho - kresil fosfat).
- l) Penumpukan parathion kadang dikaitkan dengan pankreatitis haemorrhagic yang dapat berakhir secara fatal. Diazinon juga telah terlibat. Haemoperfusi dikatakan bermanfaat jika hal ini terjadi.
- m) Pasien yang keracunan dengan OP yang sangat larut lipid seperti fenthion jarang mengembangkan efek ekstrakurikuler termasuk distonia, tremor istirahat, kekakuan gigi, dan koreoathetosis. Efek ini dimulai 4 sampai 40 hari setelah keracunan OP akut dan secara spontan diselesaikan selama 1 sampai 4 minggu pada orang yang selamat.
- n) Penting untuk dicatat bahwa anak-anak mungkin memiliki tanda-tanda dominan yang berbeda dari keracunan organofosfat daripada orang dewasa. Dalam satu studi tentang anak-anak yang diracuni oleh senyawa organofosfat atau karbamat, tanda dan gejala utama adalah depresi SSP, *stupor*, *flaccidity*, *dyspnoea*, dan koma. Tanda-tanda klasik lain dari keracunan organofosfat seperti miosis, *fasciculations*, bradikardia, saliva berlebihan dan lakrimasi, dan gejala gastrointestinal jarang terjadi.
- o) *Bradypnoea* kadang terjadi. Tingkat pernafasan kurang dari 8 menit tidak biasa. Mendengkur sebelum overdosis fatal telah dilaporkan dan kemungkinan karena kegagalan mempertahankan patensi saluran napas atas. *Gurgling* dapat terjadi karena akumulasi cairan edema paru. Edema paru non kardiogenik adalah komplikasi overdosis yang jarang terjadi, namun parah, dan biasanya tiba-tiba

pada onset (segera-2 jam). Manifestasi meliputi sputum berbusa merah muda, hipoksia signifikan, dan *infiltrat fluffy* bilateral pada rontgen dada. Beberapa pasien membutuhkan ventilasi mekanis. Resolusi gejala biasanya terjadi dengan cepat dengan perawatan suportif saja, dalam beberapa jam sampai 1 sampai 2 hari.

b. Keracunan kronis:

Biasanya terjadi sebagai bahaya kerja pada ahli agrikultur, terutama mereka yang terlibat dalam penyemprotan pestisida tanaman. Rute paparan biasanya menghirup atau mencemari kulit. Berikut adalah gambaran utama keracunan kronis senyawa organofosfat:

- 1) Polineuropati: parestesia, kram otot, lemah, gangguan gaya berjalan.
- 2) Efek terhadap SSP: kantuk, bingung, mudah tersinggung, cemas.
- 3) Keracunan organofosfat telah dikaitkan dengan berbagai sindrom neurologis, neurobehavioural, atau psikiatrik yang subacute atau tertunda (Pillay, 2013).

G. PENGELOLAAN KERACUNAN OP

1. Dekontaminasi

Bersihkan pasien yang dicurigai terkena paparan organofosfat dengan sabun dan air karena organofosfat dihidrolisis dengan mudah dalam larutan berair dengan pH tinggi. Pertimbangkan pakaian sebagai limbah berbahaya dan buanglah sesuai kebutuhan.

Petugas kesehatan harus menghindari kontaminasi diri saat menangani pasien. Gunakan alat pelindung diri, seperti sarung tangan dan sarung tangan neoprene, saat dekontaminasi pasien karena hidrokarbon bisa menembus zat nonpolar seperti lateks dan vinil. Gunakan masker katun arang untuk perlindungan pernafasan saat dekontaminasi pasien yang terkontaminasi secara signifikan.

Aliri air mata pasien yang terkena paparan dengan larutan isotonik natrium klorida atau larutan Ringer laktat.

2. Perawatan medis

- a. Kontrol saluran napas dan oksigenasi yang memadai sangat penting dalam keracunan organofosfat (OP). Intubasi mungkin diperlukan pada kasus distres pernapasan akibat laringospasme, bronkospasme, bronkorea, atau kejang.
- b. Penggunaan atropin agresif dengan segera dapat menghilangkan kebutuhan akan intubasi. Succinylcholine harus dihindari karena terdegradasi oleh kolinesterase plasma dan dapat menyebabkan kelumpuhan yang berkepanjangan. Selain atropin, pralidoxime (2-PAM) dan benzodiazepin (misalnya diazepam) merupakan terapi medis utama (lihat Pengobatan).

- c. Akses vena sentral dan jalur arteri mungkin diperlukan untuk mengobati pasien dengan toksisitas organofosfat yang memerlukan beberapa obat dan pengukuran gas darah.
- d. Pemantauan jantung terus menerus dan harus dilakukan oksimetri nadi dan elektrokardiogram (EKG). Penggunaan magnesium sulfat intravena telah dilaporkan bermanfaat untuk toksisitas organofosfat. Mekanisme tindakan mungkin melibatkan antagonisme asetilkolin atau stabilisasi membran ventrikel.

3. Pengobatan

Pokok-pokok terapi medis dalam keracunan organofosfat (OP) meliputi atropin, pralidoxime (2-PAM), dan benzodiazepin (misalnya diazepam). Manajemen awal harus berfokus pada penggunaan atropin yang adekuat. Mengoptimalkan oksigenasi sebelum penggunaan atropin dianjurkan untuk meminimalkan potensi disritmia.

Dosis atropin yang lebih besar sering dibutuhkan untuk keracunan pestisida OP daripada bila atropin digunakan untuk indikasi lainnya. Untuk mencapai atropinisasi yang memadai dengan cepat, pendekatan penggandaan biasanya digunakan, dengan eskalasi dosis dari 1 mg sampai 2 mg, 4 mg, 8 mg, 16 mg, dan seterusnya.

de Silva dkk mempelajari pengobatan keracunan OP dengan atropin dan 2-PAM dan, dengan atropin saja. Mereka menemukan bahwa atropin tampaknya sama efektifnya dengan atropin plus 2-PAM dalam pengobatan keracunan OP akut (Katz, 2017).

H. DIAGNOSIS KERACUNAN OP

Pemantauan tanda-tanda keracunan dan penentuan kolinesterase dalam darah adalah metode dasar untuk diagnosis dan diagnosis banding dari infeksi dengan keracunan OP. Namun, perlu memeriksa keseluruhan gambaran keracunan, yaitu tidak hanya pemeriksaan biokimia namun tanda klinis memungkinkan penilaian yang lebih tepat terhadap prognosis dari keaktifan. Sedangkan untuk biokimia klinis, perlu dilakukan sampel biologis, kebanyakan darah dan urin (lihat Gambar 9.3). Senyawa OP tau racun saraf dalam urin dapat dideteksi, namun degradasi mereka cepat dan oleh karena itu waktu dimana deteksi dalam urine mungkin singkat. Deteksi metabolit juga mungkin terjadi namun terbatas untuk OP seperti itu terhadap produk spesifik misalnya para-nitrofenol dalam keracunan parathion dan paraoxon. Oleh karena itu, darah tetap menjadi sumber utama bahan biologis untuk pemeriksaan biokimia. Peningkatan signifikan dalam kadar kreatinin, laktat dehidrogenase, transaminase (AST, ALT) dan ion potasium yang terkait dengan kerusakan pada otot lurik dan asidosis metabolik terjadi pada kelompok yang diobati (atropin dan oksim) dua hari setelah paparan. Total protein, albumin, jumlah sel darah merah, konsentrasi hemoglobin dan hematokrit menurun pada kelompok perlakuan pada 7 hari (Bajgar, 2005).

1. Penurunan aktivitas kolinesterase

a. Jika kadar kolinesterase eritrosit kurang dari 50% normal, ini menunjukkan toksisitas organofosfat. Tingkat aktivitas kolinesterase eritrosit lebih dapat diandalkan dalam mendiagnosis keracunan organofosfat daripada kolinesterase serum.

- 1) Kelemahannya, tingkat aktivitas kolinesterase normal didasarkan pada perkiraan populasi dan ada distribusi yang luas dalam definisi normal. Seseorang dengan tingkat "normal tinggi" mungkin menjadi gejala dengan aktivitas "rendah normal". Beberapa individu tampaknya tidak memiliki *base line* yang diketahui.
- 2) Tingkat kolinesterase yang sangat rendah tidak selalu berkorelasi dengan penyakit klinis.
- 3) Depresi palsu tingkat kolinesterase RBC terlihat pada anemia pernisiiosa, hemoglobinopati, pengobatan anti malaria, dan darah yang dikumpulkan dalam tabung oksalat. Tingkat yang meningkat dapat dilihat dengan retikulositosis karena anaemias, perdarahan, atau pengobatan anaemia megaloblastik atau merusak.

2. Penurunan kadar kolinesterase plasma (kurang dari 50%) adalah indikator toksisitas organofosfat yang kurang andal, namun lebih mudah untuk diuji dan lebih umum dilakukan. Depresi lebih dari 90% dapat terjadi pada keracunan parah, dan biasanya terkait dengan kematian.

- 1) Karena itu adalah protein hati, aktivitas kolinesterase plasma tertekan pada sirosis, neoplasia, malnutrisi, dan infeksi, beberapa anaemia, infark miokard, dan kondisi pelemahan kronis.
- 2) Obat-obatan tertentu seperti sucinil kolin, lignokain, kodein, dan morfin, tiamin, eter, dan kloroquin juga dapat menekan aktivitas kolinesterase.
- 3) Studi menunjukkan bahwa tingkat kolinesterase eritrosit dapat secara signifikan lebih tinggi pada wanita hamil daripada pada kontrol yang tidak hamil, sementara kadar kolinesterase serum pada umumnya lebih rendah selama kehamilan. Tingkat ini kembali normal pada enam minggu pascapersalinan.
- 4) Organofosfat fosdrin dan klorpirifos dapat secara selektif menghambat pseudocholinesterase plasma, sedangkan phosmet dan dimethoate dapat secara efektif menghambat kolinesterase sel darah merah.

Untuk tujuan memperkirakan tingkat kolinesterase, darah harus dikumpulkan hanya dalam tabung heparinisasi. Sebagai alternatif, sampel bisa dibekukan. Plasma kolinesterase biasanya pulih dalam beberapa hari atau minggu; Kolinesterase sel darah merah pulih dalam beberapa hari sampai 4 bulan tergantung pada tingkat keparahan depresi (Pillay, 2013).

I. PENENTUAN AKTIVITAS KOLINESTERASE (REINER, ET AL., 2000).

Penentuan aktivitas kolinesterase didasarkan pada banyak prinsip. Secara umum, enzim diinkubasi dalam campuran buffer dan reaksi enzimatik dimulai dengan menambahkan substrat. Bagian yang berbeda dari campuran reaksi ditentukan (terus menerus atau tidak kontinu), yaitu substrat yang tidak dihidrolisis atau produk reaksi, baik secara langsung maupun tidak langsung. Kondisi harus dipilih dengan sangat hati-hati karena faktor yang berbeda yang mempengaruhi aktivitas.

Menurut prosedur dan instrumentasi laboratorium, metode penentuan kolinesterase yang paling umum antara lain: Elektrofotometri, titrasi, manometrik, deteksi kolorimetri substrat yang tidak terhidrolisis, pengukuran dengan perubahan pH menggunakan indikator, spektrofotometri, fluorimetri, radiometrik, kalorimetri, polarografi, enzimatik dan lainnya misalnya spektroskopi inframerah dekat (near infra red). Metode ini juga cocok untuk deteksi inhibitor kolinesterase menggunakan biosensor atau uji imunokimia.

Metode yang sangat sensitif dan umum digunakan untuk penentuan kolinesterase dijelaskan oleh Ellman dkk., berdasarkan hidrolisis substrat thiocholine asetil dan butyrylthiocholine atau yang lainnya. Setelah hidrolisis enzimatik, asam yang relevan dan thiocholine dilepaskan dan thiocholine oleh kelompok SH-nya terdeteksi menggunakan 5,5'dithiobis-2 asam nitrobenzoat membentuk 5-mercapto-2- Anion nitrobenzoat ditentukan secara spektrofotometri pada 412 nm.

Dalam biokimia klinis, penentuan BuChE dalam plasma atau serum lebih sering digunakan dibandingkan dengan AChE pada sel darah merah. Kecuali keracunan dengan OP atau karbamat, penurunan BuChE mengindikasikan adanya berkurangnya sintesis enzim atau penurunan jumlah sel produksi di hati. Kasus khusus aktivitas BuChE yang rendah adalah penyakit bawaan dari varian BuChE yang disebutkan sebelumnya.

Ada banyak faktor lain yang mempengaruhi aktivitas BuChE dan pentingnya diagnostik aktivitas BuChE yang menurun penting untuk keadaan berikut, kecuali penurunan herediter aktivitas dan keracunan OP atau racun saraf dan karbamat, defisiensi bawaan, kerusakan hati, infeksi akut, gizi buruk kronis, metastasis (terutama hati), infark miokard, dermatomiositis, intoksikasi dengan karbon disulfida atau merkuri dan ikterus obstruktif (Reiner et al., 2000).

1. Pengukuran Aktivitas Enzim Asetilkolinesterase (AChE) metode spektrofotometri Ellman et al. (1999)
 - a. Alat
 - 1) Kuvet
 - 2) Fotometer
 - b. Bahan

- 1) Acetylthiocholine iodide (ASCh),
- 2) S-butyrylthiocholine iodide (BSCh),
- 3) 5,5- dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB, Ellman's reagent),
- 4) disodium ethylene- diaminetetraacetic acid (Na_2 -EDTA),
- 5) Triton X-100,
- 6) paraoxon-ethyl (PX- ethyl),
- 7) paraoxon-methyl (PX-methyl),
- 8) obidoxime dichloride (obidoxime),
- 9) ethopropazine hydrochloride,
- 10) glutathione from Boehringer
- 11) heparin (25 000 I.E./ml)
- 12) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , NaHCO_3 , $\text{K}_3\text{Fe}[\text{CN}]_6$, KCN

c. Pereaksi

- 1) Penyangga fosfat (PP, 0,1 mol / l, pH 7,4)

Larutan 1: larutkan NaHPO_4 17,8 g $\text{Na}_2(\text{PO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dalam 1000 ml air suling. Larutan 2: larutkan 2,72 g KH_2PO_4 dalam 200 ml air suling. Tambahkan larutan 2 ke larutan 1 sampai pH mencapai 7,4 (suhu kamar). Kemudian saring filter PP (HA, Millipore, Molsheim, Prancis) dan simpan di 4-8°C sampai 2 minggu.

- 2) Reagen warna (DTNB, 10 mmol / l)

Larutkan 396,3 mg DTNB dalam 100 ml PP dengan pengadukan magnet. Simpan dalam 5 ml aliquot pada 20°C.

- 3) Substrat (ASCh, 28,3 mmol / l; BSCh, 63,2 mmol / l)

Larutkan 82,24 mg asetilionokolin atau 200,47 mg butiri rthiocholine dalam 10 ml air suling. Simpan dalam 1 ml aliquot pada 20°C. Gunakan aliquot dicairkan sekali saja.

- 4) Etopropazin (6 mmol / l)

Larutkan 20,94 mg etopropazin dalam 10 ml HCl 12 mmol / l (larut perlahan) dan simpan 500 ml aliquot pada 20°C.

- 5) Pereaksi pengencer untuk sampel darah utuh

Tambahkan 300 ml Triton X-100 sampai 1000 ml PP. Simpan dalam botol kuning pada 4-8°C.

- 6) Larutan transformasi (reagen modifikasi Zijlstra reagent)

Larutkan 200 mg kalium ferricyanide, 50 mg potassium sianida, dan 1000 mg sodium bicarbonate dalam 1000 ml air suling. Tambahkan 500 ml Triton X-100 dan simpan larutan transformasi dalam botol amber pada suhu kamar. Penambahan sodium bicarbonate sangat mengurangi kehilangan sianida.

d. Persiapan sampel

- 1) Pengenceran darah utuh disiapkan dari vena, heparinasi atau EDTA yang baru diambil, dengan menambahkan 200 ml darah (pipet atau alat suntik) ke dalam 20 ml pereaksi perendaman dingin
- 2) Setelah pencampuran sampel dengan hati-hati segera dibekukan (20°C) dan terus dilakukan sampai analisis.
- 3) Sampel plasma diperoleh dari heparinisasi atau EDTA darah setelah sentrifugasi (10 menit, 500 g) dan disimpan dalam 1 ml aliquot pada 20°C.
- 4) Sebelum menganalisis pengenceran darah secara keseluruhan dicairkan dengan kocokan ringan botol dalam air dingin (lebih mudah dengan shaker waterbath). Sampel yang dicairkan disimpan di atas es sampai dianalisis.
- 5) Eritrosit yang diperoleh dicuci dengan dua volume PP. Aliquot (1 ml) disimpan pada 20°C untuk memudahkan hemolisis lengkap.

Persiapan AChE dan BuChE inhibitor dibuat dengan menginkubasi sampel darah utuh atau plasma yang tidak diencerkan dengan PX-ethyl, PX-methyl, dan obidoxime (lihat Tabel 3 untuk konsentrasi) selama 15 menit pada 37°C, diikuti dengan pengenceran langsung sampel darah (1 : 100 dalam pereaksi pengenceran) dan pembekuan.

- a. Untuk menguji sel eritrosit linier hemolitik dan sampel plasma diinkubasi dengan 1,2,2-trimethylpropylmethylphosphonofluoridate (50 dan 100 nmol / l, masing-masing) pada suhu 37°C selama 30 menit untuk mencapai penghambatan dan penuaan spesimen yang lengkap. Penghambat surplus dikeluarkan dengan dialisis terhadap 100 volume PP pada 4-8°C semalam.

b. Prosedur

1) Penentuan aktivitas enzim

Aktivitas AChE dan BuChE diukur pada 436 nm suhu 37°C menggunakan polystyrol cuvetts. Untuk mencapai ekuilibrasi suhu dan reaksi lengkap kelompok matriks sulfhidril sampel matriks dengan DTNB, campuran diinkubasi selama 10 menit sebelum penambahan substrat. Prosedur yang tepat diberikan pada Tabel 1. Aktivitas enzim dikoreksi untuk hidrolisis spontan dari degradasi substrat dan DTNB.

Tabel 9.1 Prosedur penetapan aktivitas enzim

Campur ke dalam kuvet	AChE	BuChE	Konsentrasi akhir
Buffer fosfat pH 7,4	2,000	3,000	100 mM
DNTB 10 mmol/L	0,100	0,100	0.30 mM
Ethopropazine	0,010	-	0.02 mM
Hemolisat (darah 1 : 100)	1,000	-	
Plasma (tanpa pengenceran)		0,010	

Diamkan pada suhu 37°C			
ASCh	0,050	-	0,45 mM
BSCh		0,050	1,00 mM
Ukur warna yang terbentuk dalam 3 menit pada 37°C λ 436 nm			

2) Penentuan hemoglobin

Untuk penentuan total hemoglobin, 1,4 ml pengenceran darah dicampur dengan 1,4 ml larutan transformasi (volume tergantung pada jenis fotometer) pada polimirrol cuvets (Sarstedt) dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada 546 nm terhadap blanko akuades ('5 10.8 3 103 M21 cm21).

3) Studi spektroskopi

Semua spektrum dicatat dengan spektrofotometer PC Shimadzu UV-2401 termostatted. Larutan stok DTNB (10 mmol / l) dibuat di PP. Untuk penentuan perubahan spektral tergantung suhu dari TNB2 pada 10, 25, 37, dan 50°C, DTNB (50 mmol / l dalam PP) direduksi menjadi TNB2 dengan glutathione 200 mmol / l.

Spektrum oxyhemoglobin dicatat dalam pengenceran darah utuh yang baru disiapkan (pengenceran akhir 1: 300, *light path* 2 mm). Kemudian DTNB ditambahkan (konsentrasi akhir 300 mmol / l) mengikuti reaksi dengan matriks gugus sulfhidril. Akhirnya, DTNB benar-benar direduksi menjadi TNB2 glutathione dengan 1 mmol / l

e. Validasi uji

1) Uji linearitas

Sampel asli dan penghambat diencerkan secara terpisah dalam PP (hemolyzed eritrosit 1:10, plasma 1: 5) dan dicampur pada berbagai rasio untuk mendapatkan aktivitas AChE atau BuChE yang berbeda, tanpa menipiskan matriks sampel. Kemudian aktivitas enzim diukur dalam rangkap dua (duplo). Korelasi antara proporsi enzim aktif dan aktivitasnya diuji dengan analisis regresi linier. Untuk menguji korelasi linier konsentrasi hemoglobin dan aktivitas AChE pada faktor pengenceran yang berbeda, sampel darah utuh diencerkan 50 sampai 200 kali dengan reagen pengencer.

2) Presisi *within run*

Pengenceran darah utuh dan inhibitor darah yang ketat dan sampel plasma diuji menurut prosedur standar (Tabel 9.1) 1 hari setelah penarikan darah (masing-masing n 5 dan 10)

3) Presisi *between run*

Pengenceran darah utuh dan sampel plasma diuji menurut prosedur standar (Tabel 9.1) pada lima hari berturut-turut dengan menggunakan sampel yang baru dicairkan. Selain itu, pembekuan berulang dan siklus pencairan (tiga kali) dilakukan dengan pengenceran darah utuh.

f. Stabilitas AChE dan BuChE

Untuk menyelidiki stabilitas spesimen yang menghambat organofosfat beku, sampel darah utuh dan plasma dihambat dengan PX-etil dan PX-metil dan aktivitas enzim diuji masing-masing dalam 34 dan 22 hari.

g. Perhitungan

- 1) Konsentrasi hemoglobin (mmol / l Hb) dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Hemoglobin } \mu\text{mol Hb/L} = A \times 1000/10.8$$

- 2) Aktivitas AChE dan BuChE dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas AChE } \mu\text{mol.L}^{-1} / \text{min} = \frac{\text{Sampel (mE/min)} - \text{Blanko (mE/min)}}{10,6}$$

- 3) Aktivitas spesifik AChE eritrosit dihitung dari hasil bagi aktivitas AChE dan kandungan hemoglobin:

$$\text{AChE } \left(\frac{\text{mU}}{\mu\text{mol}} \text{Hb} \right) = \frac{\text{Actv AChE } \left(\frac{\frac{\mu\text{mol}}{\text{L}}}{\text{min}} \right) \times 1,58 \times 1000}{\text{Hb}}$$

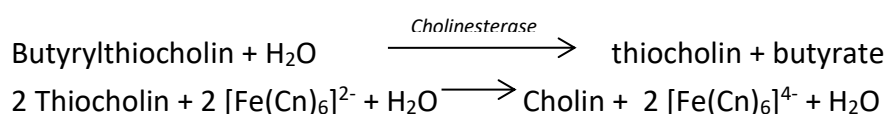
Faktor 1.58 mengoreksi pengenceran sampel darah yang berbeda pada penentuan konsentrasi hemoglobin dan aktivitas AChE.

2. Penetapan Aktivitas AChE secara Enzimatik

Tes kinetik fotometri, metode yang sesuai dengan rekomendasi dari German Society of Clinical Chemistry (DGKC)

a. Prinsip

Kolinesterase dihidrolisis oleh Butyrylthiocholin menghasilkan thiocholin dan asam butyric. Thiokolin mereduksi Potasium hexacyanoferrate (III) yang berwarna kuning menjadi Potasium hexacyanoferrate (II) yang tidak berwarna. Ukur absorbansi pada panjang gelombang 450nm.



b. Reagen**Komponen dan konsentrasi**

R1 : Pyrophosphate	pH 7,6	95mmol/L
Potassium hexacyanoferrate (III)		2,5mmol/L
R2 : Butyrylthiocholin		75mmol/L

Instruksi Penyimpanan dan Kestabilan Reagen

Reagen tetap stabil hingga akhir masa kadaluwarsa jika disimpan pada 2-8°C dan hindari kontaminasi. Jangan membekukan reagen dan melindungi dari sinar secara langsung.

Peringatan dan Tindakan Pencegahan

Silakan lihat lembar data keselamatan dan tindakan pencegahan yang diperlukan untuk penggunaan reagen laboratorium.

Bahan yang dibutuhkan tetapi tidak disediakan

Larutan NaCl 9 g/L

Peralatan umum laboratorium

c. Spesimen

Serum, heparin, dan plasma EDTA

Kestabilan [1,3]	2 minggu pada 2-8° C
	1 minggu pada 15-25° C
	6 bulan pada -20° C

Buang spesimen yang terkontaminasi.

d. Cara Pemeriksaan

Panjang gelombang 405nm

Optical path 1 cm

Suhu 37°C

Pengukuran Bandingkan dengan reagen blangko

	Blanko reagen	Sampel
Sampel/ Kalibrator	-	20
Akuades	20	-
Reagen 1	1000	1000
Campur, inkubasi kira-kira 3 menit, kemudian tambahkan		
Reagen 2	250	250
Campur, baca absorbansi setelah 2 menit. Baca lagi absorbansi setelah 1, 2 dan 3 menit		

e. Perhitungan**1) Dengan faktor**

$$\Delta A / \text{min} \times 68500 = \text{Aktivitas CHE [IU/L]}$$

2) Dengan kalibrator

$$\text{CHE [U/L]} = \frac{\Delta A / \text{min sampel}}{\Delta A / \text{min kalibrator}} \times \text{kons.kalibrator [U/L]}$$

Kalibrator dan Kontrol

Untuk kalibrasi pada sistem fotometri otomatis, disarankan menggunakan kalibrator. Untuk kualitas kontrol internal serum kontrol harus diuji dengan setiap sampel.

J. UJI P-NITROPHENOL:

P-nitrophenol adalah metabolit beberapa organofosfat (misalnya parathion, ethion), dan diekskresikan dalam urin. Destilasi uap 10 ml air kencing dan mengumpulkan sulingan. Tambahkan sodium hidroksida (2 pelet) dan panaskan pada pemandian air selama 10 menit. Produksi warna kuning menunjukkan adanya p-nitrophenol. Tes juga bisa dilakukan pada muntahan atau isi perut (Pillay, 2013).

K. KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (TLC)

Adanya organofosfat dalam sampel lavage (cuci lambung), aspirasi lambung, atau muntahan, juga dapat ditentukan dengan KLT.

Prosedur :

1. Sampel diekstraksi dua kali dengan 5 ml petroleum eter, dan ekstraknya dicuci dengan air suling.
2. Kemudian dikeringkan dalam udara bertekanan uap, dilarutkan dalam metanol,
3. Kerjakan KLT dengan fase gerak campuran petroleum eter dan metanol (25: 1).
4. Setelah eluasi, uapi pelat dengan uap yodium
5. Amati kromatogram, RF dibandingkan dengan standar (Pillay, 2013).

L. Investigasi Tambahan:

1. Mungkin ada bukti leukositosis (dengan jumlah diferensial yang relatif normal), hematokrit tinggi, asidosis anion gap, hiperglikemia.
2. Dalam setiap kasus, monitor elektrolit, EKG dan kadar pankreas isoamilase serum pada pasien dengan keracunan yang signifikan. Pasien yang mengalami peningkatan kadar amilase serum dan mereka yang mengembangkan interval QTC berkepanjangan atau PVC cenderung mengalami kekurangan pernafasan dan memiliki prognosis yang buruk. Jika pankreatitis dicurigai, CT scan abdomen dapat dilakukan untuk mengevaluasi pembengkakan pankreas yang menyebar.
3. Jika terjadi iritasi saluran pernapasan, monitor rontgen dada. Banyak senyawa organofosfat ditemukan dalam larutan dengan berbagai pelarut berbasis hidrokarbon. Pneumonitis aspirasi bisa terjadi jika produk ini disedot ke paru-paru.

Bronchopneumonia dapat berkembang sebagai komplikasi edema paru yang diinduksi oleh organofosfat.

4. Teknik kromatografi lapis tipis kinerja tinggi (HPLC) dapat digunakan untuk mengidentifikasi beberapa senyawa organofosfat dalam serum manusia (Pillay, 2013).

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Sebutkan 3 contoh pestisida organofosfat yang sering Anda temui atau gunakan dalam lingkungan rumah!
2. Jelaskan mekanisme toksisitas pestisida organofosfat!
3. Sebutkan gejala khas keracunan pestisida organofosfat !
4. Sebutkan parameter penting untuk diagnosis keracunan pestisida organofosfat, jelaskan prinsip kerja salah satu metodenya!

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

1. Klasifikasi pestisida
2. Toksisitas
3. Patofisiologi
4. Diagnosis keracunan

Ringkasan

Organofosfat adalah salah satu senyawa pestisida yang banyak digunakan terutama di bidang pertanian. Pestisida organofosfat termasuk senyawa toksik dengan rentang toksisitas dengan LD50 dari <1 mg/kg sampai 5000 mg/kg.

Toksisitas dasar senyawa organofosfat adalah inhibisi aktivitas enzim acetilkolin-esterase (AChE) yang secara fisiologis menghidrolisis acetilkolin, suatu neurotransmitter saraf kolinergik. Keracunan senyawa organofosfat ditandai dengan gejala khas yang disingkat dengan SLUDGE atau DUMBLES.

Diagnosis keracunan senyawa organofosfat, selain dengan gejala klinik juga ditegakkan dengan mengukur aktivitas enzim acetilkolin-esterase, yang dapat dilakukan dengan beberapa metode. Sekarang sudah terdapat metode enzimatik yang lazim dilakukan di laboratorium sebagai parameter rutin. Sedangkan identifikasi senyawa organofosfat dapat dilakukan dengan metode KLT atau HPLC.

Tes 1

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Pestisida organofosfat termasuk senyawa toksik, salah satunya adalah diazinon dengan LD50 300 mg/kg. Termasuk kategori apakah toksisitas diazinon?
 - A. Super toksik
 - B. Sangat toksik
 - C. Toksik
 - D. Kurang toksik
 - E. Relatuf tidak toksik
2. Pestisida organofosfat termasuk senyawa toksik, apakah toksisitas utama senyawa tersebut?
 - A. Meningkatkan kadar ACh
 - B. Meningkatkan hidrolisis Ach
 - C. Meningkatkan kadar enzim AChE
 - D. Menghambat sintesis enzim AChE
 - E. Menghambat aktivitas enzim AChE
3. Apakah fungsi enzim Acetylcholinesterase (AChE)?
 - A. Meningkatkan kadar ACh
 - B. Menghambat sintesis ACh
 - C. Mengkatalisis sintesis ACh
 - D. Mengkatalisis hidrolisis ACh
 - E. Menghambat hidrolisis Ach
4. Pengukuran aktivitas enzim AChE adalah parameter penting pada keracunan senyawa organofosfat. Sampel apakah yang tepat diambil?
 - A. Urin
 - B. Darah
 - C. muntahan
 - D. Udara ekspirasi
 - E. Cairan lambung
5. Jika hasil metabolit p-nitrofenol yang akan dibuktikan, sampel apakah yang paling tepat?
 - A. Urin
 - B. Darah
 - C. muntahan

- D. Udara ekspirasi
- E. Cairan lambung

Topik 2

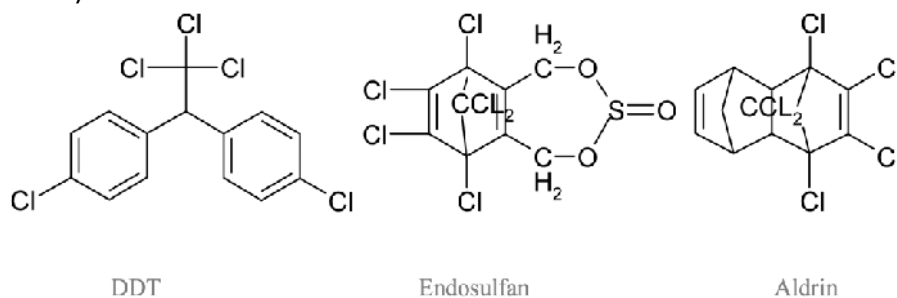
Pestisida Organoklorin

A. PENGANTAR

Pestisida organoklorin merupakan salah satu jenis hidrokarbon terklorinasi. Menurut Pillay (2013) dikelompokkan menjadi 4 kategori berbeda yaitu:

1. DDT dan analog-misalnya, DDT (diklorodiphenyltrichloroethane), dan methoxychlor.
2. Kelompok heksaklorida Benzena-misalnya hexachloride benzena (BHC), dan gamma-hexachlorocyclohexane (lindane).
3. Cycloienes dan senyawa terkait-misalnya aldrin, dieldrin, endosulfan (thiodan), endrin, isobenzan, chlordane, chlordecone (kepone), heptachlor, mirex (dechlorane).
4. Tokshaphena dan senyawa terkait-misalnya toxaphene (Pillay, 2013).

Struktur kimia beberapa pestisida organoklorin seperti dalam gambar berikut ini: (Gambar 9.4)



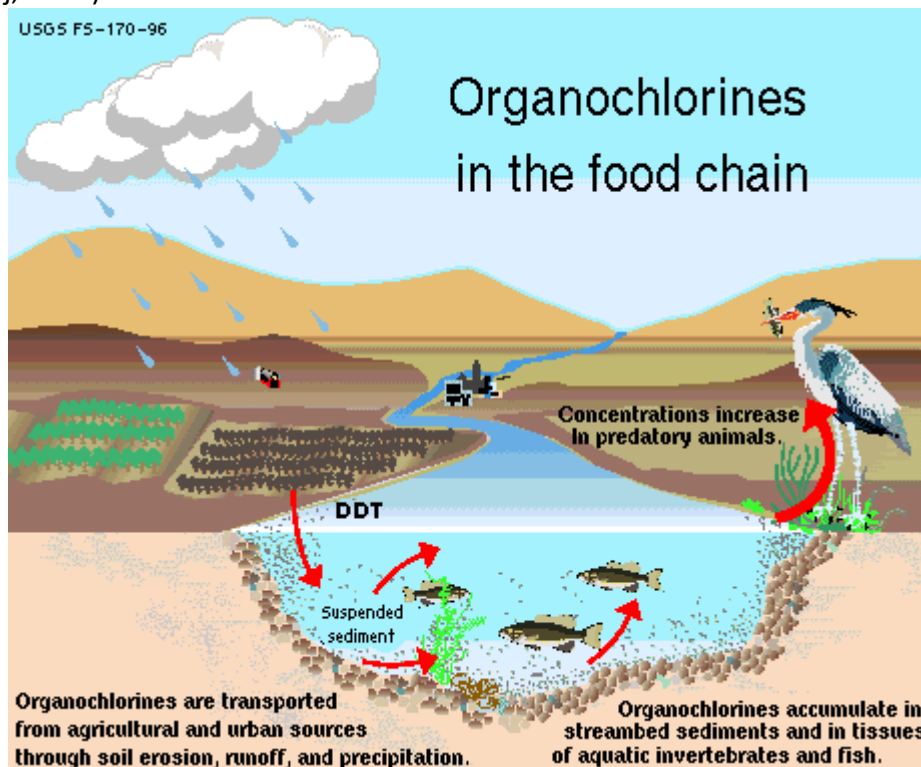
Gambar 9.4 Struktur kimia pestisida organoklorin

Sumber: https://www.researchgate.net/figure/The-chemical-structure-of-some-organochlorine-pesticides_fig1_233760346

Insektisida organoklorin banyak digunakan pada pertengahan tahun 1940an sampai pertengahan tahun 1960an sebagai insektisida untuk pengendalian nyamuk pembawa malaria dan pemusnahan rayap. Karena organoklorin ditemukan bertahan di lingkungan dan terakumulasi dalam berbagai organisme, termasuk manusia, penggunaannya telah dikurangi secara dramatis. Banyak senyawa organoklorin telah dilarang penggunaannya di Amerika Serikat, dan *Environmental Protection Agency* telah membatasi penerapan aplikasi orang lain. Salah satu pengecualian adalah lindane (gamma-hexachlorocyclohexane), yang merupakan insektisida dan sediaan farmasi yang digunakan secara topikal sebagai skabisida dan pediculicida (Ford, 2007).

Karakteristik dasar pestisida organoklorin adalah persistensi yang tinggi, polaritas rendah, kelarutan berair rendah dan kelarutan lemak tinggi. Pestisida organoklorin dapat

memasuki lingkungan setelah aplikasi pestisida, limbah yang tercemar dibuang ke tempat pembuangan sampah, dan pembuangan dari unit industri yang mensintesis bahan kimia ini. Senyawa ini mudah menguap dan stabil; beberapa dapat mematuhi tanah dan udara, sehingga meningkatkan kemungkinan persistensi yang tinggi di lingkungan, dan diidentifikasi sebagai agen paparan kronis terhadap hewan dan manusia. (Gambar 9.5). (Jayaraj, 2016).



Gambar 9.5 Organoklorin dalam rantai makanan

Sumber: <http://pakagrifarming.blogspot.co.id/2013/08/88-organochlorines-history-use-and-toxicity.html>

Organoklorin memiliki struktur kimia yang terkait, menunjukkan cincin alifatik tersubstitusi atau aromatik. Karena kemiripan strukturnya, senyawa ini memiliki karakteristik fisikokimia tertentu seperti persisten, bioakumulasi dan toksisitas. Satu ciri khas senyawa ini adalah persistensi yang didefinisikan sebagai waktu paruh lebih dari dua bulan dalam air atau enam bulan pada sedimen tanah. Persistensi senyawa organoklorin bervariasi dari persistensi moderat dengan waktu paruh sekitar 60 hari sampai persistensi tinggi dengan waktu paruh hingga 10-15 tahun. Pestisida yang paling umum digunakan dalam praktik pertanian adalah dikloro-diphenyl-trichloroethane (DDT), yang cukup berbahaya, dengan persistensi yang tinggi dengan waktu paruh 2-15 tahun. Penggunaan DDT sekarang dilarang di banyak negara namun secara ilegal digunakan di sebagian besar negara berkembang. Hal ini berlaku juga untuk endosmio, insektisida yang sangat

berbahaya dan memiliki persistensi moderat dengan waktu paruh lima puluh hari dan digunakan dalam produksi mete (Quijano, 2002).

Karena tingginya persistensi dan potensi bioakumulasi, Konvensi Stockholm telah mengklasifikasikan sebagian besar senyawa organoklorin sebagai bahaya lingkungan dan melarang penggunaan beberapa senyawa golongan ini. Namun di banyak negara berkembang mereka masih menggunakan, sehingga larangan tersebut tidak efektif (Jayaraj, 2016).

B. TOKSISITAS

Toksistas berdasarkan LD50, tingkat toksistas Dieldrin adalah kategori “extremely toxic” (LD50: 1 to 50 mg/kg), sedangkan DDT, endosulfan, dan lindane termasuk “highly toxic” (LD50: 51 to 500 mg/kg). Selain itu, berikut ini sangat beracun: endrin, aldrin, chlordane, dan toxaphene, sementara ini sangat beracun: kepone, heptachlor, mirex. Berikut ini adalah yang paling tidak beracun methoxychlor, perthane, kelthane, chlorobenzilate, dan hexa-chlorobenzene. Potensi bahaya akut dapat diurutkan (paling tinggi sampai yang terendah) kira-kira sebagai berikut: endrin, aldrin, dieldrin, chlordane, toxaphene, kepone, heptachlor, DDT dan methoxychlor (Pillay, 2013).

Berbeda dengan piretrin dan piretroid, kebanyakan insektisida organoklorin terserap dengan baik dari kulit serta saluran pencernaan dan paru-paru. Mereka didistribusikan ke dalam lemak, di mana mereka dapat menumpuk dan bertahan dalam jangka waktu yang lama. Variabilitas di antara organoklorin mengenai akumulasi dalam lemak sebagian besar disebabkan oleh tingkat metabolisme dan ekskresi yang berbeda. Senyawa seperti DDT dan dieldrin disimpan dalam jumlah besar, sedangkan methoxychlor dan endrin memiliki akumulasi lebih sedikit. Konsentrasi tinggi beberapa hidrokarbon terklorinasi menginduksi enzim mikrosomik hati, namun signifikansi klinis dari hal ini tidak diketahui. Waktu paruh untuk sebagian besar senyawa cukup bervariasi dan berkepanjangan. Dieldrin memiliki waktu paruh dalam darah lebih dari 250 hari, dan lindane memiliki waktu paruh eliminasi yang dilaporkan antara 20 jam dan 10 sampai 20 hari. Organoklorin dapat mengalami resirkulasi enterohepatik (Pillay, 2013).

C. TOKSOKINETIKA

Sediaan komersial organoklorin biasanya dilarutkan dalam sulingan minyak bumi yang membentuk emulsi bila ditambahkan ke air. Semua organoklorin dapat diserap secara transdermal, oral, dan dengan inhalasi. Penyerapan gastrointestinal dari zat ini umumnya efisien, terutama dengan adanya lemak lipida (hewan atau sayuran) yang mudah diserap. DDT paling tidak diserap dengan baik transdermal, sedangkan dieldrin sangat terserap dengan baik. Banyak dari senyawa ini dimetabolisme secara perlahan dan

bertahan dalam jaringan (terutama lemak) untuk waktu yang lama. Tingkat residu yang tinggi dari keracunan insektisida organoklorin ditemukan pada jaringan adiposa. Namun, tidak seperti pestisida organoklorin lainnya, methoxychlor tidak banyak menumpuk di jaringan lemak manusia (Pillay, 2013).

Organoklorin diserap dengan baik secara oral dan dengan inhalasi. Penyerapan transdermal bervariasi. Sebagai contoh, DDT kurang diserap transdermal, sedangkan siklodien memiliki tingkat penyerapan transdermal yang signifikan. Cycloclodien memiliki tingkat penyerapan yang tinggi bila dikonsumsi secara oral seperti pada kasus pencemaran makanan dengan pestisida ini. Lindane diketahui diserap setelah aplikasi topikal, tapi ingestions oral tidak jarang terjadi. Umur muda, kekurangan gizi, dan sering terpapar meningkatkan risiko toksisitas (Wong, 2015).

Organoklorin sangat mudah larut dalam lemak dan diabsorpsi dalam jaringan tubuh dengan kandungan lipid tinggi, seperti otak dan hati. Akibatnya, kadarnya dalam darah cenderung jauh lebih rendah dibanding kadar pada jaringan lemak. Kecenderungan lipofilik organoklorin menyebabkan efek sistemik yang berlebihan pada overdosis. Waktu paruh DDT telah diukur dalam hitungan bulan atau tahun, sedangkan organoklorin lainnya dimetabolisme lebih cepat; misalnya, lindane memiliki waktu paruh 21 jam (Wong, 2015).

Ekskresi senyawa organoklorin tidak mengikuti kinetika orde pertama. Sebagai timbunan dalam tubuh semakin rendah, waktu paruh untuk timbunan yang tersisa meningkat secara dramatis. Hal ini mungkin disebabkan oleh ikatan lipoprotein yang kompleks, dimana bentuk ikatan yang berbeda menunjukkan karakteristik disosiasi yang berbeda. Organoklorin diklasifikasikan secara kasar dalam hal kecepatan ekskresi dan tingkat penyimpanan yang merupakan ancaman toksisitas akut sebagai berikut:

- b. Diekskresi atau dimetabolisme dalam beberapa jam sampai beberapa hari: chlordane (kecuali komponen heptachlor), chlorobenzilate, endosulfan, endrin, kelthane, methoxychlor, perthane, toxaphene
- c. Ekskresi dalam beberapa minggu sampai beberapa bulan: aldrin, dieldrin, heptachlor, hexachlorobenzene.
- d. Ekskresi selama beberapa bulan atau tahun: beta isomer benzena heksaklorida, DDT, kepone, mirex (Pillay, 2013).

Setelah terpapar, senyawa organoklorin diklorinasi dan dikonjugasikan di hati di mana ekskresi empedu merupakan mekanisme utama untuk eliminasi. Namun, senyawa organoklorin diserap kembali pada tingkat tertentu dalam sirkulasi enterohepatik dan fenomena daur ulang ini menyebabkan persistensi dalam tubuh manusia. Sebagai akibat dari persistensi dan sifat lipofilik organoklorin, zat kimia ini cenderung tersimpan dan terjadi bioakumulasi pada jaringan adiposa (Genuis, 2016).

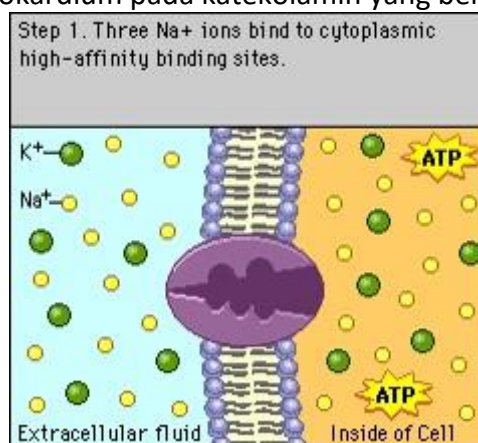
D. PATOFISIOLOGI

Organoklorin tidak menekan enzim kolinesterase, senyawa ini bertindak dengan berbagai mekanisme antara lain:

1. DDT dan analognya mempengaruhi saluran natrium dan sodium konduktansi melintasi membran neuronal terutama akson, dan juga mengubah metabolisme serotonin, noradrenalin dan asetilkolin.
2. Siklodien dan lindane menghambat GABA yang memediasi saluran klorida di SSP.
3. Mekanisme neurotoksik endosulfan melibatkan penghambatan aktivitas Ca^{2+} -ATPase yang bergantung pada calmodulin, perubahan sistem serotoninergik, dan penghambatan reseptor GABA.
4. Senyawa penting dari hidrokarbon terklorinasi, terutama toxaphene, chlordane, DDT, dan lindane adalah kemampuan mereka untuk menginduksi enzim pemetabolisme obat hati. Sebagian besar senyawa ini menyebabkan nekrosis hati dan mereka adalah inducer enzim yang kuat (Pillay, 2013).

Toksitas pada manusia sebagian besar disebabkan oleh stimulasi SSP. Cyclodiena (misalnya endosulfan), hexachlorocyclohexanes (seperti lindane), dan toxaphene yang didominasi oleh antagonis gamma aminobenzoic acid (GABA) dan menghambat masuknya ion kalsium, tetapi juga dapat menghambat kalsium dan magnesium adenosine triphosphatase (ATPase). Akumulasi ion kalsium yang dihasilkan pada ujung neuronal menyebabkan pelepasan neurotransmitter stimulasi yang berkelanjutan. Studi epidemiologis telah menunjukkan hubungan etiologi antara penyakit Parkinson dan polutan organoklorin (Jayaraj, 2016).

DDT mempengaruhi saluran sodium dan potassium *dependent* voltase (Gambar 9.6). Perubahan ini bisa berakibat pada agitasi, kebingungan, dan kejang. Efek jantung telah dikaitkan dengan sensitisasi miokardium pada katekolamin yang beredar.



Gambar 9.6 Mekanisme aksi organoklorin

Sumber: <http://pakagrifarming.blogspot.co.id/2013/08/88-organochlorines-history-use-and-toxicity.html>

Beberapa organoklorin yang lebih mudah menguap dapat dihirup sementara dalam bentuk uap atau tertelan saat dalam bentuk cair. Menghirup uap beracun atau aspirasi cairan setelah tertelan dapat menyebabkan atelektasis, bronkospasme, hipoksia, dan pneumonitis kimia. Pada kasus yang parah, ini dapat menyebabkan cedera paru akut, perdarahan, dan nekrosis jaringan paru-paru. Dalam bentuk cair, mereka mudah diserap melalui kulit dan saluran pencernaan (Wong, 2015).

Meskipun semua insektisida organoklorin adalah stimulan SSP, mekanisme aksi yang tepat dapat bervariasi. Mekanisme aksi DDT dan senyawa terkait mirip dengan piretroid, sedangkan siklodien, heksaklorokloheksana, dan toksfenena dan senyawa terkait diperkirakan efek toksiknya melalui penghambatan asam γ -aminobutirat (Ford, 2007).

1. Toksisitas akut

Paparan akut terhadap insektisida organoklorin dapat menghasilkan rangsangan SSP. Dalam beberapa kasus, kejang dapat berkembang dengan cepat dan menjadi tanda awal pemaparan. Dalam kasus lain, pasien mengalami gejala prodromal seperti sakit kepala, pusing, ataksia, dan tremor sebelum onset kejang. Kejang telah dilaporkan setelah konsumsi dan juga penggunaan lindane yang tidak tepat. Mayoritas terjadi dalam waktu 1 sampai 2 jam dan membatasi diri. Anak-anak dan orang tua beresiko tinggi untuk toksisitas SSP, bahkan mungkin pada dosis terapeutik. Kematian akibat toksisitas lindane telah diakibatkan konsumsi 6 mg/kg pada anak-anak dan konsumsi 48 g pada orang dewasa. Meskipun tidak umum, kejang berkepanjangan telah dilaporkan setelah paparan oral dan intravena terhadap endosulfan. Koagulasi intravaskular diseminata dan mioglobinuria berikutnya telah berkembang setelah ingesti yang disengaja dari lindane dan endosulfan. Karena banyak insektisida terklorinasi diformulasikan dengan basis hidrokarbon, penyerapan dapat menyebabkan pneumonia aspirasi hidrokarbon (Ford, 2007).

2. Toksisitas Kronis

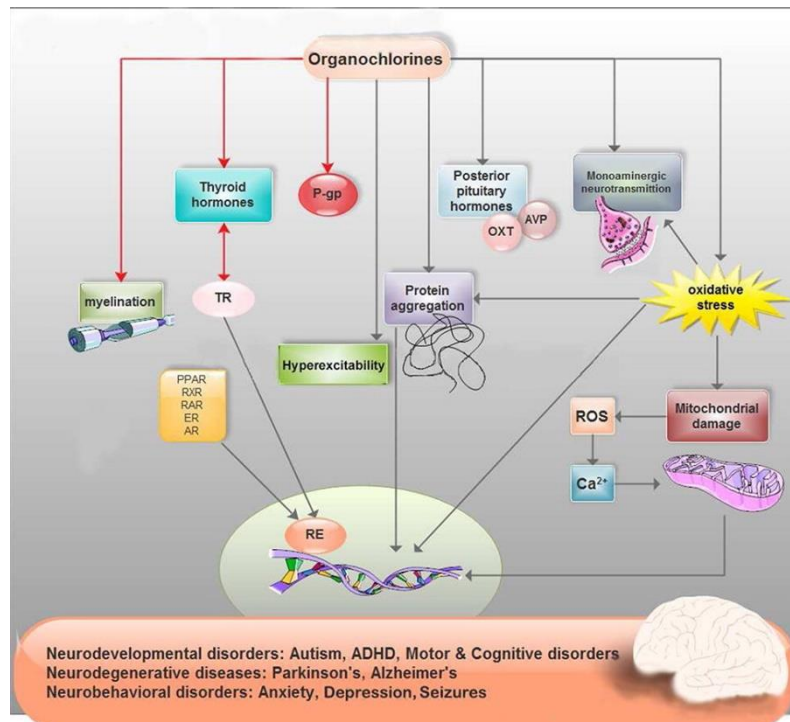
Paparan kronis pada berbagai organoklorin dapat menyebabkan akumulasi jaringan adiposa, dengan toksisitas yang bermanifestasi setelah konsentrasi jaringan kritis tercapai. Sekelompok pekerja yang secara kronis terkena chlordecone mengembangkan tremor, gerakan mata yang cepat dan tidak teratur, hepatomegali, dan hypospermia. Gejala-gejala ini mereda saat timbunan chlordecone dalam darah dan jaringan adiposa menurun. Paparan kronis pada organoklorin juga telah dikaitkan dengan penyakit motor neuron kronis. Paparan berulang dengan cara terhirup dan paparan melalui kulit terhadap lindane telah dikaitkan dengan berbagai diskrasia darah, termasuk leukopenia, leukositosis, trombositopenia, pansitopenia, dan anemia aplastik. Pekerja yang terpapar hexachlorocyclohexane selama 10 tahun menunjukkan peningkatan aktivitas enzim hati. Terkait karsinogenisitas, sebagian besar insektisida organoklorin ada data hewan yang

terbatas dan data manusia yang tidak mencukupi untuk mengklasifikasikan potensi mereka sebagai karsinogen manusia (Ford, 2007).

Pemeriksaan efek berbagai kelas pestisida mengarah pada kesimpulan bahwa banyak dari mereka bertanggung jawab atas hipertensi, gangguan kardiovaskular dan masalah kesehatan lainnya yang terkait pada manusia. Organoklorin bertindak sebagai bahan kimia perusak endokrin dengan mengganggu sirkuit molekuler dan fungsi sistem endokrin (Sohail et al., 2004). Pekerja pertanian, keluarga mereka dan mereka yang melewati suatu wilayah yang terpapar dengan pestisida dapat menyerap sejumlah pestisida yang terukur. Adanya residu pestisida telah terdeteksi di plasma darah pekerja di peternakan dan pertanian. Paparan langsung atau tidak langsung terhadap pestisida menyebabkan gangguan neuromuskular dan stimulasi metabolisme obat dan steroid (Subramaniam dan Solomon, 2006).

Cara lain untuk paparan pestisida ini adalah melalui diet. Di antara makanan, makanan berlemak seperti daging, ikan, unggas, dan produk susu merupakan penyebab utama (Rusiecki et al., 2008). Banyak molekul organoklorin adalah karsinogen dan neurotoksik (Kaiser, 2000). Endosulfan tetap berada di lingkungan untuk waktu yang lebih lama dan terjadi bioakumulasi pada tumbuhan dan hewan yang menyebabkan kontaminasi makanan yang dikonsumsi manusia (Briz et al., 2011). Senyawa ini terutama mempengaruhi sistem saraf pusat dan ditemukan memiliki toksisitas inhalasi akut yang lebih tinggi daripada toksisitas kulit. Penyerapan endosulfan gastrointestinal sangat tinggi (USEPA, 2010).

Pasien mungkin mengalami keluhan paru atau mungkin mengalami gangguan pernapasan berat. Disritmia jantung dapat mempersulit presentasi klinis awal. Gejala lainnya meliputi pulmonary (batuk, sesak nafas), dermatologis (ruam), gastrointestinal (mual, muntah, diare, dan sakit perut), sistem saraf (sakit kepala, pusing, atau parestesia pada wajah, lidah, dan ekstremitas) (Wong, 2015).



Gambar 9. 7 Toksisitas Perstisida Organoklorin

Sumber: Saravi, 2015

Pestisida organoklorin (OCPs) adalah kontaminan lingkungan yang persisten dan bioakumulatif dengan efek neurotoxic potensial. Semakin banyak bukti telah menunjukkan bahwa paparan pranatal terhadap organoklorin (OC) dikaitkan dengan penurunan perkembangan neuropsikologis. Hipotesisnya konsisten dengan penelitian terbaru yang menekankan korelasi faktor lingkungan dan genetik terhadap patofisiologi kerusakan neurodegeneratif dan neurobehavioral (Gambar 9.7). Telah diusulkan bahwa paparan maternal terhadap OCPs menyebabkan gangguan perkembangan motor dan kognitif pada bayi baru lahir dan janin. Selain itu, paparan *in utero* terhadap senyawa ini berkontribusi pada etiologi autism (Saravi, 2015).

E. PENANGANAN KERACUNAN ORGANOKLORIN

Perawatan dan observasi suportif untuk tanda-tanda kerusakan organ penting (misalnya, sistem saraf pusat [SSP], jantung, paru-paru, hati) adalah terapi utama. Tidak ada antidot khusus yang tersedia untuk keracunan organoklorin.

Dekontaminasi dapat diindikasikan untuk mencegah penyerapan terus menerus, serta pemaparan petugas kesehatan. Untuk dekontaminasi kulit, lepaskan pakaian dan cuci kulit dengan sabun dan air. Hal ini paling baik dilakukan di lapangan. Amati pasien dengan paparan yang tidak significant dengan gejala yang tidak signifikan di bagian gawat darurat selama 6-8 jam. Jika ada tanda atau gejala toksisitas berkembang selama waktu itu, rujuklah pasien ke rumah sakit.

Pertimbangkan awal intubasi cepat untuk memfasilitasi penggunaan benzodiazepin agresif. Kejang mungkin dimulai tanpa tanda atau gejala prodromal apapun. Jika pasien lumpuh setelah intubasi, pemantauan electroencephalographic diperlukan. Penghentian aktivitas kejang harus dilakukan dengan menggunakan algoritma pengobatan, dimulai dengan benzodiazepin dan berlanjut jika perlu fenitoin, propofol, dan barbiturat. Rhabdomyolysis harus dipertimbangkan pada pasien dengan kejang berkepanjangan atau mereka yang mengalami gagal ginjal akut dengan atau tanpa hiperkalemia.

Pemantauan jantung terus menerus ditunjukkan. Gunakan epinephrine dan amin sympathomimetic dengan hati-hati karena disritmia dapat diinduksi, sebagai hasil peningkatan sensitivitas miokard pada katekolamin. Penggunaan beta-blocker dilaporkan mengendalikan disritmia ventrikel karena miokardium yang peka. Jika pasien hipotensi dan tidak responsif terhadap cairan, pemberian agen agonis alfa-adrenergik murni (misalnya phenylephrine) adalah terapi pilihan (Wong, 2015).

F. ANALISIS LABORATORIUM

1. Pendekatan Diagnosis

Sejarah pemaparan adalah bagian informasi yang paling penting. Studi laboratorium meliputi:

- a. Uji finger-stick glukosa di samping tempat tidur yang cepat (lihat POCT, bab 4)
- b. Elektrolit
- c. Test panel ginjal
- d. Tes fungsi hati
- e. Creatine phosphokinase (CPK)
- f. Laktat
- g. Gas darah arterial atau vena
- h. Urinalisis
- i. Tes kehamilan urin pada wanita usia subur
- j. Elektrokardiografi
- k. Skrining panel toksikologi serum dan urin, terutama kadar asetaminofen dan salisilat jika ada dugaan keracunan disengaja
- l. Kadar hidrokarbon yang terklorinasi (dapat diukur, namun tidak bermanfaat secara klinis atau secara rutin tersedia)

Temuan abnormal yang mungkin dilakukan oleh sistem organ adalah sebagai berikut: pulmonary (hipoksemia), kardiovaskular (Sinus takikardia atau bradikardia, perpanjangan QTc, perubahan segmen ST yang tidak spesifik), gastrointestinal

(transaminitis dan hiperbilirubinemia), hematologis (leukositosis dan waktu tromboplastin parsial aktif yang lama (aPTT), ginjal (Asidemia, azotemia, peningkatan kreatinin, hiperkalemia)

Radiografi dada dapat ditunjukkan pada kasus aspirasi atau cedera paru akut. Radiografi abdomen mungkin menunjukkan bukti pestisida kloroplasik. [21] Bila riwayat pemaparan tidak jelas, kepala CT scan atau puncti lumbal harus dipertimbangkan untuk menyingkirkan proses sistem saraf pusat atau infeksi sebagai penyebab kejang dan perubahan status mental.

Jika perlu, studi analitik kromatografi gas serum, jaringan adiposa, urin, dan ASI dapat dipertimbangkan untuk dokumentasi pemaparan. Untuk tujuan pekerjaan, melakukan pengujian biopsi jaringan adiposa untuk memperkirakan beban tubuh total populasi terpapar adalah mungkin. Ini tidak memiliki aplikasi dalam perawatan akut terhadap pasien terpajan individual.

Bagi klinisi gawat darurat, penelitian di atas tidak mungkin memiliki nilai klinis akut karena kemungkinan hasil tes cepat kecil. Namun, mendapatkan sampel untuk pemeriksaan ini mungkin bermanfaat untuk evaluasi jangka panjang dan perawatan pasien (Wong, 2015).

Konsentrasi insektisida terklorinasi dalam serum tidak bermanfaat secara klinis setelah terpapar akut, dan juga tidak diperlukan untuk pengawasan rutin terhadap individu yang terpajan di tempat kerja. Namun, jika perlu untuk tujuan medicolegal, hidrokarbon terklorinasi dapat dideteksi dalam serum dengan menggunakan kromatografi gas. Organoklorin juga dapat diukur secara kuantitatif dalam urin dan jaringan adiposa, namun kadar ini juga tidak bermanfaat secara klinis setelah pemaparan akut. Bergantung pada situasi klinis, hal berikut harus dipesan sesuai kebutuhan untuk mengevaluasi penyakit dan racun lainnya: jumlah sel darah lengkap, studi elektrolit, kadar urea nitrogen dan kreatinin darah, kadar kalsium dan magnesium serum, *Computed tomography* (CT) kranial atau *magnetic resonance imaging* (MRI), dan studi cairan cerebrospinal (Ford, 2007).

2. Analisis Laboratorium (Genuis, 2016)

Metode untuk menentukan pestisida organoklorin adalah sebagai berikut.

- b. Sampel serum ditimbang ke dalam tabung kaca (8 g) dan 8 mL metanol ditambahkan ke sampel serum.
- c. Sampel keringat dan urin ditimbang ke dalam tabung kaca (5 g) dan 5 mL metanol ditambahkan ke masing-masing sampel.

- d. Ekstraksi senyawa bioaktif dilakukan pada sampel serum, keringat, dan urin 3 kali dengan menambahkan 12 mL larutan etil eter: heksana (1: 1, v/v) dan menghilangkan supernatan melalui sentrifugasi.
- e. Ekstrak tersebut kemudian dimasukkan melalui kolom natrium sulfat sampai kering.
- f. Ekstrak yang dihasilkan digabungkan dan dipekatkan ke 1 mL dan dimasukkan melalui kolom florisil 12 g, 2% yang dinonaktifkan. Florisil digunakan untuk menghilangkan *coeluting chlorophenols*.
- g. Kalibrasi standar eksternal digunakan untuk kuantifikasi.
- h. Blanko digunakan untuk memastikan kontrol kualitas, gunakan sampel serum sapi, dan air.
- i. Batas deteksi instrumen ditentukan 0,10 µg/kg. Pentachloroni-trobenzene (PCNB) ditambahkan ke dalam ekstrak sebagai standar internal dan sampel dianalisis dengan kromatografi gas kolom ganda dengan detektor penangkapan elektron (DB-5 dan DB-1701).

3. Analisis Residu Pestisida

1. Ruang Lingkup

Pengujian residu pestisida dalam makanan dan cairan biologis

2. Pereaksi

- 1) n-Heksan
- 2) Aceton
- 3) Larutan perak nitrat: 100 mg AgNO₃ dilarutkan dalam 20ml Fenoksietanol ditambah Aseton sampai 200 ml, kemudian ditambah 1-2 tetes H₂O₂ (larutan ini stabil selama 4 hari)
- 4) Larutan 0,025% Rhodamin B dalam etanol dan larutan Na₂CO₃ 10%

3. Cara Kerja

- 1) Bahan makanan, sayur, dan buah
20 gram bahan ditambah 100 ml heksan, blender selama 10-15 menit. Tuang beningan dan uapkan pelarut hingga tinggal 5ml. Lakukan KLT dengan kondisi:
 - a) Fase diam : Silica Gel G
 - b) Fase gerak : n-heksan : aseton (9:1)
 - c) Penjenuhan : kertas saring
 - d) Jarak rambat : 12-15 cm
 - e) Penampak bercak : (1) Larutan perak nitrat
(2) Larutan Rhodamin B
(3) UV 254/366 nm

- 2) Bahan: Cairan Lambung
10 – 20 ml cairan lambung diekstraksi dengan 20 ml (2 X 10 ml) kloroform.
Ekstrak kloroform diuapkan sampai 2 ml. lakukan KLT dengan kondisi sebagai berikut:
- a) Fase diam : Silica Gel GF 254
 - b) Fase Gerak : n-heksan : acetone (4:1)
 - c) Penjenuhan : kertas saring
 - d) Jarak rambat : 12-15 cm
 - e) Penampak bercak : UV 254 nm

Latihan

Untuk dapat memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah Latihan berikut!

1. Sebutkan contoh pestisida organoklorin yang Anda jumpai digunakan disekitar Anda!
2. Jelaskan salah satu mekanisme toksisitas senyawa organoklorin!
3. Jelaskan akibat dari persistensi senyawa organoklorin!
4. Sebutkan gejala keracunan senyawa organoklorin!

Petunjuk jawaban latihan

Pelajari kembali materi berikut ini agar saudara dapat mengerjakan soal latihan dengan baik.

- a. Toksisitas pestisida organoklorin
- b. Toksokinetika
- c. Patofisiologi
- d. Gambaran klinis

Ringkasan

Pestisida senyawa organoklorin banyak digunakan sebagai insektisida. Karakteristik dasar pestisida organoklorin adalah persistensi yang tinggi, polaritas rendah, kelarutan berair rendah dan kelarutan lemak tinggi. Kebanyakan insektisida organoklorin terserap dengan baik dari kulit serta saluran pencernaan dan paru-paru. Mereka didistribusikan ke dalam lemak, di mana mereka dapat menumpuk dan bertahan dalam jangka waktu yang lama.

Toksisitasnya berbeda-beda berkaitan dengan struktur kimia dan sifatnya salah satunya terhadap SSP atau bersifat neurotoksik dengan mekanisme antara lain penghambatan aktivitas Ca^{2+} -ATPase yang bergantung pada calmodulin, perubahan sistem serotoninergik, dan penghambatan reseptor GABA. Selain itu bersifat toksik terhadap hati yaitu menyebabkan nekrosis hati dan mereka adalah inducer enzim yang kuat.

Tes 2

Pilihlah salah satu jawaban yang paling benar!

1. Pestisida organoklorin termasuk senyawa toksik, salah satunya adalah DDT dengan LD51 mg/kg. Termasuk kategori apakah toksisitas diazinon?
 - A. Super toksik
 - B. Sangat toksik
 - C. Toksik
 - D. Kurang toksik
 - E. Relatif tidak toksik
2. Pestisida organoklorin termasuk senyawa toksik, salah satu toksisitasnya adalah menghambat neurotransmitter GABA. Kategori apakah toksisitas tersebut?
 - A. Nefrotoksik
 - B. Neurotoksik
 - C. Hepatotoksik
 - D. Karsinogen
 - E. Teratogen
3. Salah satu factor toksisitas senyawa organoklorin adalah persistensinya. Disebut apakah persistensi senyawa ini di dalam tubuh?
 - A. Biomagnifikasi
 - B. Bioekivalensi
 - C. Bioakumulasi
 - D. Bioefisiensi
 - E. Bioaktivasi
4. Kelarutan senyawa organoklorin juga berpengaruh pada masa toksisitasnya. Pada jaringan apakah terjadi penumpukan?
 - A. Tulang
 - B. Rambut
 - C. Jaringan ikat
 - D. Jaringan lemak
 - E. Jaringan keratin
5. Berkaitan dengan kelarutan senyawa organoklorin, maka ekskresi utama senyawa ini adalah melalui....

- A. Pernafasan
- B. Keringat
- C. Empedu
- D. Urin
- E. ASI

Kunci Jawaban Tes

Test Formatif 1

- 1) C
- 2) E
- 3) D
- 4) B
- 5) A

Test Formatif 2

- 1) B
- 2) B
- 3) C
- 4) D
- 5) C

Glosarium

stupor	: keadaan seseorang seperti tertidur lelap, tetapi ada respon terhadap rangsang nyeri
flaccidity	: kondisi badan yang sangat lemah, layuh
dyspnea	: sering disebut <i>sebagai shortness of breath (SOB)</i> nafas pendek, merupakan sensasi yang dirasakan ketika bernafas tetapi rasanya tidak cukup
miosis	: penyempitan pupil mata
fasciculations	: kontraksi otot yang tidak teratur, kasar menyentak sebagai akibat rangsangan dari motor neuron yang tidak normal
takikardia	: istilah yang merujuk pada laju detak jantung di atas normal. Detak jantung yang normal ialah 60-100 kali per menit
bradikardia	: apabila jantung berdenyut kurang dari 60 kali per menit

Daftar Pustaka

- Bajgar J. (2005). *Laboratory Diagnosis of Organophosphates/Nerve Agent Poisoning Klin. Biochem. Metab.*, 13 (34), , No. 1, p. 40–47.
- Briz V, Molina-Molina JM, Sánchez-Redondo S, Fernández MF, Grimalt JO, Olea N, Rodríguez-Farré E, Suñol C. (2011). *Differential estrogenic effects of the persistent organochlorine pesticides dieldrin, endosulfan and lindane in primary neuronal cultures*. *Toxicological Sciences*. 2011;120(2):413–27
- Čolović, M. B., Krstić, D. Z., Lazarević-Pašti, T. D., Bondžić, A. M., & Vasić, V. M. (2013). *Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology*. *Current Neuropharmacology*, 11(3), 315–335. <http://doi.org/10.2174/1570159X11311030006>
- Dawson A.H, Eddleston M, Senarathna L, Mohamed F, Gawarammana I, et al. (2010) *Acute Human Lethal Toxicity of Agricultural Pesticides: A Prospective Cohort Study*. *PLoS Med* 7(10): e1000357. doi:10.1371/journal.pmed.1000357
- De Silva H.J, Samarawickrema N.A, Wickremasinghe A.R. (2006). *Toxicity due to organophosphorus compounds: what about chronic exposure?* Trans R Soc Trop Med Hyg. 2006 Sep;100(9):803-6. Epub 2006 Jun 27.
- Direktorat Jenderal Pelayanan Medik, (2004). *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium Toksikologi Obat*, Departemen Kesehatan.
- Ford, M.D., Delaney, K.A., Ling, L.J., Erickson,T., (2007). *Ford: Clinical Toxicology, 1st ed., 2007 W. B. Saunders Company.*
- Goel, A., Aggarwal, P. (2007). *Pesticide poisoning*. Natl Med J India. 2007 Jul-Aug;20(4):182-91.
- Kaiser J. (2000). *Endocrine disrupters: Panel cautiously confirms low-dose effects*. *Science*. 2000;290:695–697.
- Katz, K.D. (2017). *Organophosphate Toxicity Medication*, <https://emedicine.medscape.com/article/167726-medication>

- Pillay, V.V., (2013). *Modern Medical Toxicology 4th ed.*, Jaypee Brothers Medical Publisher (Ltd), New Delhi.
- Reiner, E., Inko, G., Poljar, M.K., And Rudolf, V.S., (2005). *Comparison Of Protocols For Measuring Activities Of Human Blood Cholinesterases By The Ellman Method* Arh Hig Rada Toksikol 2000;51:13–18
- Rusiecki, J. A., Baccarelli, A., Bollati, V., Tarantini, L., Moore, L. E., & Bonfeld-Jorgensen, E. C. (2008). *Global DNA Hypomethylation Is Associated with High Serum-Persistent Organic Pollutants in Greenlandic Inuit*. *Environmental Health Perspectives*, 116(11), 1547–1552. <http://doi.org/10.1289/ehp.11338>
- Saravi, S.S.S., Dehpour, A.R. (2016). *Potential Role Of Organochlorine Pesticides In The Pathogenesis Of Neurodevelopmental, Neurodegenerative, And Neurobehavioral Disorders: A review*. *Life Sciences*, Volume 145, 15 January 2016, p 255-264
- Sohail E, Waseem A, Chae WL, Jong JL, Imitiaz H.(2004). *Endocrine Disrupting Pesticides: A Leading Cause of Cancer among Rural People in Pakistan*. *Experimental Oncology*. 2004;26(2):98–105
- Subramaniam, K., & Solomon, J. (2006). *Organochlorine pesticides BHC and DDE in human blood in and around Madurai, India*. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 21(2), 169–172. <http://doi.org/10.1007/BF02912936>
- USEPA.(2010). *Endosulfan. The Health Effects Division's Human Health Risk Assessment*. EPA DP Barcode: D372569. June 2010. Docket No.: EPA-HQ-OPP-2002-0262-0178
- Wong, M.L., (2015) *Organochlorine Pesticide Toxicity Clinical Presentation*, <https://emedicine.medscape.com/article/815051-clinical#showall>



TOKSIKOLOGI KLINIK

PUSAT PENDIDIKAN SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN

Badan Pengembangan dan Pemberdayaan
Sumber Daya Manusia Kesehatan

Jl. Hang Jebat III Blok F3,
Kebayoran Baru Jakarta Selatan - 12120

Telp. (021) 725 5429

Fax. (021) 739 8950