

MODUL PRAKTIKUM TOKSIKOLOGI

*Bagi Mahasiswa Prodi Teknologi
Laboratorium Medik*

Disusun Oleh :

Dra. Anny Thuraidah, Apt, MS

Nur Qadri Rasyid, S.Si., M.Si

Safridha Kemala Putri, S.Si., M.Si

Dra. Warsinah, M.Si

Catu Umirestu Nurdiani, SKM, MKM

Ayu Puspita Sari, ST., M.Si

Siti Fatimah, S.Si, M.Sc, Apt

Dr. Ummy Mardiana, M.Si



**ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)
2024**

MODUL PRAKTIKUM TOKSIKOLOGI

BAGI MAHASISWA PRODI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIK

Dra. Anny Thuraidah, Apt, MS
Nur Qadri Rasyid, S.Si., M.Si
Safridha Kemala Putri, S.Si., M.Si
Dra. Warsinah, M.Si
Catu Umirestu Nurdiani, SKM, MKM
Ayu Puspita Sari, ST., M.Si
Siti Fatimah, S.Si, M.Sc, Apt
Dr. Ummy Mardiana, M.Si
Muji Rahayu, S.Si, Apt, M.Sc (Reviewer)



ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI LABORATORIUM
MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)

Judul Buku:

MODUL PRAKTIKUM TOKSIKOLOGI

Penulis:

Dra. Anny Thuraidah, Apt, MS

Nur Qadri Rasyid, S.Si., M.Si

Safridha Kemala Putri, S.Si., M.Si

Dra. Warsinah, M.Si

Catu Umirestu Nurdiani, SKM, MKM

Ayu Puspita Sari, ST., M.Si

Siti Fatimah, S.Si, M.Sc, Apt

Dr. Ummy Mardiana, M.Si

Muji Rahayu, S.Si, Apt, M.Sc (Reviewer)

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur kita panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga Modul Praktikum ini dapat diselesaikan.

Saya selaku ketua AIPTLMI mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada para dosen TLM seluruh Indonesia yang berkontribusi dalam memberikan masukan, tim kelompok kerja, dan pihak-pihak yang tidak bisa saya sebut satu persatu yang telah berjuang dengan segala daya dan upaya, berkorban waktu, tenaga dan pikiran hingga tersusunnya modul praktikum ini.

Semoga Modul praktikum ini bermanfaat untuk membantu dalam proses penyelenggaraan Pendidikan Teknologi Laboratorium Medis yang bermutu. Masukan dan saran tentu sangat diperlukan sebagai evaluasi dan perbaikan untuk penyesuaian sesuai kebutuhan di masa yang akan datang.

Wassalamualaikum Wr.Wb

Jakarta, Agustus 2024
Ketua Umum AIPTLMI

Prof. Dr. Budi Santosa, M.Si.Med

TATA TERTIB DI LABORATORIUM

Tata Tertib yang Wajib Dilakukan :

1. Mahasiswa harus hadir di laboratorium paling lambat 10 menit sebelum praktikum dimulai.
2. Pengguna laboratorium wajib menggunakan jas laboratorium serta Alat Pelindung Diri (APD) lengkap.
3. Mengetahui fasilitas laboratorium, mengenal dan berkoordinasi dengan koordinator laboratorium.
4. Menyimpan barang bawaan didalam loker yang telah disediakan.
5. Apabila mengalami kondisi yang tidak aman, kecelakaan atau kerusakan alat segera melapor kepada petugas laboratorium.
6. Ikut menjaga dan merawat fasilitas laboratorium.
7. Jika terjadi kebakaran, singkirkan atau jauhkan semua bahan atau barang dari api dan gunakan alat pemadam kebakaran yang tersedia.
8. Mematuhi dan memenuhi standar kerja di laboratorium.
9. Mengetahui tindakan awal apabila terjadi keadaan darurat (emergency).
10. Jika mengalami kesulitan atau memerlukan konsultasi dapat menghubungi Koordinator Laboratorium.

Larangan yang harus diperhatikan :

1. Tidak dibenarkan membawa makanan dan minuman, menggunakan perangkat dawai untuk kepentingan di luar praktikum, merokok dan berhias di dalam laboratorium.
2. Pengguna laboratorium tidak diperbolehkan bercanda selama praktikum
3. Tidak diperkenankan berkeliaran di luar lingkungan laboratorium dengan mengenakan jas laboratorium dan membawa alat laboratorium tanpa izin.

PETUNJUK UMUM PRAKTIKUM

1. Pelajarilah petunjuk-petunjuk dan teori-teori yang berhubungan dengan percobaan yang akan dilakukan
2. Pahami teori dan petunjuk tersebut, bila ada hal yang kurang jelas carilah di dalam pustaka yang dianjurkan atau dapat ditanyakan kepada dosen atau asisten yang bertugas.
3. Berfikir secara kritis terhadap petunjuk dan teori, ketidakberhasilan atas percobaan yang dilakukan dapat dihindari dengan memperhatikan petunjuk-petunjuk di atas.
4. Bekerjalah dengan teliti dan sistematis.
5. Pilihlah cara bekerja yang paling tepat sesuai dengan teorinya.
6. Modul Praktikum yang memberikan petunjuk cara bekerja harus selalu ada didekat saudara agar memudahkan membaca cara kerja di laboratorium.
7. Periksa alat-alat dan bahan yang akan dipakai dalam percobaan, jika ditemukan ketidaklengkapan maka bicarakanlah dengan dosen atau asisten.
8. Isilah dan lengkapi lembar catatan harian, “Jurnal Praktikum” untuk mencatat segala sesuatu yang akan dikerjakan dan diamati selama praktikum. Lembar ini diisi langsung pada waktu praktikum.

MODUL 1

KONSEP DASAR TOKSIKOLOGI KLINIK

TOKSIKOLOGI

Toksin/Toksikan/Agen toksik adalah Suatu senyawa yang secara potensial menunjukkan adanya kemampuan untuk:

1. Menginduksi terjadinya kanker , tumor, neoplasma pada manusia atau binatang percobaan (karsinogen).
2. Menginduksi terjadinya perubahan-perubahan yang bersifat menetap yang diturunkan dari induk kepada keturunannya baik pada manusia atau pada binatang percobaan (mutagen).
3. Menyebabkan kelainan-kelainan atau cacat fisik pada perkembangan embrio (teratogen) co.Talidomid.
4. Menyebabkan kematian pada manusia / binatang
5. Menyebabkan terjadinya perangsangan (iritasi) atau sensitisasi.
6. Menurunkan kewaspadaan /kesadaran.
7. Menurunkan motivasi.
8. Menyebabkan terjadinya perubahan perilaku.
9. Menyebabkan segala bentuk gangguan kesehatan reversible or irreversible, bila pemaparannya melalui saluran pernapasan, kulit, mata atau GIT dalam sembarang konsentrasi atau waktu

PERISTILAHAN DALAM TOKSIKOLOGI

1. LD50 yaitu jumlah (dosis) mematikan 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 toksisitasnya dinyatakan dalam satuan g atau mg per kg berat badan.
2. 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 (atau *part per million* = ppm) per BB.**
3. ED50 (dosis efektif) adalah dosis efektif yang menyebabkan efek spesifik pada 50% populasi hewan coba dalam jangka waktu tertentu.
4. Batas Ambang atau Threshold Limit Value (TLV) atau Minimum Concentration

Allowed (MAC) adalah dosis/konsentrasi terendah dimana tidak ada efek yang dapat diamati atau tidak ada gejala/ manifestasi klinis yang terlihat . karena pada MAC tersebut tubuh masih bisa mendetoksikasi sendiri.

5. Karsinogen, zat yang dapat memicu terjadinya kanker, dikaitkan dengan penyebab atau peningkatan kanker pada manusia dan hewan. Contoh: benzena, vinil klorida, formaldehid, dioksan, dan akrilamida.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Toksisitas sub akut, jika gejala keracunan timbul dalam jangka waktu setelah sedang(minggu sampai bulan) setelah terpapar bahan toksik dalam dosis tunggal.
10. 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.
11. Bioakumulasi , adalah peningkatan konsentrasi zat toksik karena paparan dalam waktu yang lama dan waktu paruh yang panjang.
12. Biomagnifikasi, adalah peningkatan konsentrasi zat toksik karena rantai makanan.
13. Indeks Terapi (IT), adalah rasio dari dosis yang menghasilkan toksisitas(TD) dengan dosis yang menghasilkan suatu respon yang efektif(ED) yang diinginkan secara klinik dalam suatu populasi individu (Katzung, 1989).

$$\text{Indeks terapeutik} = \frac{TD50}{ED50} \text{ atau } \frac{LD50}{ED50} \dots\dots\dots (\text{Ganiswara et. al., 2007}).$$

IT ini adalah batas keamanan atau Margin of Safety dari obat, makin besar nilai IT

makin besar keamanannya. Tetapi bila kurang dari 1 maka IT nya sempit dan mudah terjadi toksisitas.

Tabel 1.1 Toksisitas berdasarkan LD50

Peringkat Toksisitas	Istilah	LD50 Wt/Kg dosis oral tunggal pada tikus	Inhalasi 4 jam LD50 pada tikus (PPM)
1.	Sangat Beracun	≤ 1 mg	< 10
2.	Sangat beracun	1 – 50 mg	10 - 100
3.	Cukup beracun	50 – 500 mg	100 – 1000
4.	Sedikit beracun	0,5 – 5 gr	$10^3 - 10^4$
5.	Praktis tidak beracun	5 – 15 gr	$10^4 - 10^5$
6.	Relatif tidak berbahaya	≥ 15 gr	$> 10^5$

Sumber : Erhirhie EO, *et al.* 2018

Dalam ilmu toksikologi terfokus pada dua subdisiplin, yaitu toksikodinamik dan toksikokinetik. Toksikokinetik atau kinetika zat toksik adalah nasib zat toksik dalam tubuh. Toksikokinetik mencakup 4 proses, yakni proses absorpsi (A), distribusi (D), metabolisme atau biotransformasi (B), dan ekskresi (E). Toksikodinamik menyangkut pengaruh obat terhadap sel hidup, organ atau makhluk, secara keseluruhan erat berhubungan dengan fisiologi, biokimia, dan patologi. Obat farmakodinamik bekerja meningkatkan atau menghambat fungsi suatu organ (Ganiswara *et. al.*, 2007). Faktor yang mempengaruhi Toksikokinetik dan toksikodinamik tersebut adalah

1. Cara masuk/pemberian : per oral, per inhalasi, per parenteral, per vaginal
2. Bentuk sediaan : pil, tablet, kapsul, sirup, injeksi

Cara masuk zat toksik ke dalam tubuh akan mempengaruhi kecepatan absorpsi dari zat toksik ke dalam tubuh. Untuk paparan yang per oral makin sulit bentuk sediaan pecah dalam lambung akan makin lama zat aktifnya diabsorpsi. Sehingga mempengaruhi waktu mula kerja dari zat toksik. Sedang paparan zat toksik melalui inhalasi dan intravena sangat cepat menyebabkan terjadinya keracunan.

3. Individu : Jenis kelamin, genetika (ras), umur
Seringnya terjadi keracunan pada pediatri (anak-anak) dan geriatri (lansia) disebabkan karena pada pediatri fungsi organ belum bekerja sempurna sedangkan pada geriatri sudah mulai terjadinya penurunan volume cairan tubuh dan fungsi-fungsi organ.
4. Riwayat kesehatan : adanya penyakit seperti DM, HT, gagal ginjal
Kondisi individu seperti adanya penyakit atau gangguan organ hati dan ginjal sangat mempengaruhi kecepatan keracunan karena hati tempat terjadinya metabolisme untuk mendetoksifikasi racun yang masuk, sehingga bila fungsi hati terganggu akan memperbesar waktu paruh ($t_{1/2}$) dari zat toksik dan menyebabkan racun beredar lebih lama dalam tubuh. Sedangkan ginjal yang mengalami disfungsi akan menyebabkan hasil metabolisme yang harus segera diekskresikan terhambat. Terhambatnya ekskresi akan membuat terjadinya reabsorpsi dari metabolit sehingga efek racun masih tetap ada.
5. Habituaasi/toleransi, hipersensitivitas
6. Sifat zat toksik, selain dipengaruhi oleh bentuk zat toksik, dan individu juga dipengaruhi oleh sifat zat toksiknya yaitu :
 - a. dosis/konsentrasi, dimana bila makin LD_{50}/LC_{50} maka akan makin aman bagi tubuh.
 - b. ikatan dengan protein (*protein binding*), ikatan ini sering menyebabkan terjadinya keracunan bila diberikan bersama dengan zat lain yang dapat mendorong ikatan protein zat yang lain bila diberikan bersama-sama
 - c. sifat fisik :
 - **kelarutan** dalam lemak, makin tinggi kelarutan dalam lemak akan makin meningkat toksisitas karena zat yang larut dalam lemak akan mudah menembus *blood brain barrier* dan *placenta barrier* sehingga akan menyebabkan gangguan pada sistem saraf pusat dan pada janin dalam kandungan.
 - **kepolaran**, makin polar zat akan makin mudah larut dalam air dan makin sukar larut dalam lemak sehingga akan menurunkan toksisitas.
 - **pH**, sifat keasaman ditentukan oleh pH, bila meningkat toksisitas akan meningkat karena banyak zat yang lebih mudah terhidrolisis pada pH tinggi.

- d. sifat farmakologis (Side effect, Advers reaction, lokal/sistemik), makin banyak reseptor yang dapat berikatan dengan zat toksik akan makin banyak memberikan efek baik efek samping, advers reaction, efek lokal ataupun sistemik.
- e. sifat kimia (toksisitas rumus molekul dengan rantai alifatis < siklis < aromatis).

LATIHAN

Jelaskan perbedaan racun, toksin dan xenobiotik!

1. Bidang ilmu apakah yang diperlukan untuk mendukung toksikologi?
2. Apa yang dimaksud dengan LD50?
3. Apa yang dimaksud dengan: Teratogen ?
4. Apa yang dimaksud dengan:
 - a. Adiksi
 - b. Toleransi ?

Referensi

- Gan S, Setiabudy R, Syamsudin U, Bustami ZS, 1987, Farmakologi dan Terapi, Bagian FKUI, Jakarta.
- Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. 2012, Basic And Clinical Pharmacology, 12th edition, Mc Graw Hill Co.
- Lu FC, 1995, Toksikologi dasar Asas, OrganSasaran dan Penilaian Resiko, edisi kedua, Penerbit UI, Jakarta.
- Erhirhie EO, Ihekwereme CP, Ilodigwe EE, Advances in acute toxicity testing: strengths, weaknesses and regulatory acceptance, 2018, Interdisciplinary Toxicology Vol. 11(1): 5–12. doi: 10.2478/intox-2018-0001

MODUL 2

PEMERIKSAAN LOGAM BERAT

KEGIATAN BELAJAR 1

LOGAM BERAT ARSEN (As)

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. Arsen terjadi dalam bentuk organik maupun anorganik, memiliki perbedaan valensi meliputi +5 (arsenate), +3 (arsenite) dan -3 (arsine) (Orloff et al. 2009). Senyawa-Senyawa Arsen antara lain As_2O_3 , As_2O_5 , AsH_3 , AsO_4^{3-} , AsO_3^{3-} (Basset et al, 1994)

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 urine dalam bentuk methylated arsenic dan sebagian lainnya ditimbun dalam kulit, kuku dan rambut. (Rahyu & Solihat, 2018)

Arsen mempengaruhi respirasi sel dengan cara mengikat gugus sulfhidril (SH) pada dihidrolipoat sehingga menghambat kerja enzim yang terikat dengan transfer energi, terutama pada piruvate dan succinate oxidative pathway, sehingga menimbulkan efek patologis yang reversibel. Efek toksik ini dikatakan reversible karena dapat

dinetralsir dengan pemberian dithiol, 2,3, dimerkaptopropanol (dimercaprol, British Anti-Lewisite atau BAL) yang akan berkompetisi dengan arsen dalam mengikat gugus sulfhidril (2,3).

Gas arsen 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 (Rahayu & Solihat, 2018).

IDENTIFIKASI ARSEN

1. Alat dan Bahan

Labu erlenmeyer kecil, Tabung reaksi, waterbath, kapas Pb Asetat, biji Zn, H₂SO₄ 2N, AgNO₃ 20%, kertas saring. Kapas, biji Al, KOH 2M, lempeng Cu (tembaga), HCl 2 - 4 N., KCN 10%. HNO₃ encer. Sampel yg dapat digunakan : Sampel biologi : urine, darah, rambut, kuku dan Bahan makanan : buah dan sayuran, daging hewan

2. Preparasi sampel

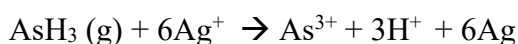
sampel bahan makanan dan sampel biologis di hancurkan dengan diblender atau dicincang kecil ditambah kalau terlalu padat ditambah dengan aquades sama banyak.

3. Identifikasi Senyawa Arsen dengan Cara Gutzeit (Clarke & Berle, 1978)

a. Prinsip Kerja

Pembebasan logam perak oleh senyawa gas Arsin (AsH₃) yg terjadi dari reduksi senyawa arsen oleh seng dan asam sulfat.

Reaksi :



b. Prosedur Kerja

1. Sebanyak 1-2 g serbuk Zn dimasukkan ke dalam tabung reaksi
2. Tambahkan 1-2 mL H₂SO₄ encer
3. Sumbat tabung dengan kapas Pb asetat
4. Tutup permukaan tabung dengan kertas saring yang telah dibasahi dengan larutan AgNO₃ 20%
5. Panaskan tabung pada WB selama kurang lebih 2-3 menit
6. Lepaskan kertas saring dan amati permukaan bawah kertas saring
7. Bila terdapat bercak warna coklat menunjukkan adanya cemaran pada pereaksi
8. Keluarkan kapas lalu tambahkan sejumlah contoh yang telah dihomogenkan
9. Masukkan kembali kapas Pb asetat ke dalam tabung lalu tutup dengan kertas saring yang telah dibasahi dengan lar AgNO₃ 20%
10. Tabung dipanaskan kembali pada WB selama 2-3 menit
11. Amati permukaan bawah kertas saring

c. Interpretasi Hasil

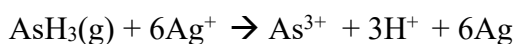
Kontrol Positif : terbentuk warna coklat kehitaman pada permukaan bawah kertas saring.

4. Identifikasi senyawa arsen dg cara Fleitman (Clarke & Berle, 1978)

a. Prinsip Kerja

Pembebasan logam perak oleh gas Arsin (AsH₃) yg terjadi dari reduksi senyawa arsen oleh seng dan kalium hidroksida

Reaksi :



b. Prosedur Kerja

1. Sebanyak 1-2 g serbuk Zn dimasukkan ke dalam tabung reaksi
2. Tambahkan 1-2 mL KOH
3. Sumbat tabung dengan kapas
4. Tutup permukaan tabung dengan kertas saring yang telah dibasahi dengan larutan AgNO₃ 20%
5. Panaskan tabung pada WB selama kurang lebih 2-3 menit

6. Lepaskan kertas saring dan amati permukaan bawah kertas saring

c. Interpretasi Hasil

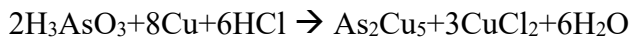
Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna coklat kehitaman pada permukaan bawah kertas saring.

5. Identifikasi senyawa arsen dengan cara Sidney Kaye (Clarke & Berle, 1978)

a. Prinsip Kerja

Senyawa arsen dengan logam tembaga dalam suasana asam akan membentuk senyawa As_2Cu_5 yg berwarna hitam.

Reaksi :



b. Prosedur Kerja

1. Sebanyak 1-2 g sampel yang telah dihomogenkan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 50 mL
2. Tambahkan 20 mL air dan 4 mL HCl encer
3. Bersihkan kawat Cu (tembaga) dengan asam nitrat 2,5 N lalu keringkan dengan etanol 96%
4. Masukkan kawat tembaga tsb ke dalam erlenmeyer yang telah berisi sampel
5. Panaskan pada WB selama 30 menit
6. Keluarkan kawat Cu dan amati perubahan warnanya, bila lapisan hitamnya larut dalam KCN 10% menunjukkan adanya senyawa arsen.

c. Interpretasi Hasil

Hasil Positif ditandai terbentuk lapisan hitam pada tembaga yang larut dalam KCN 10%

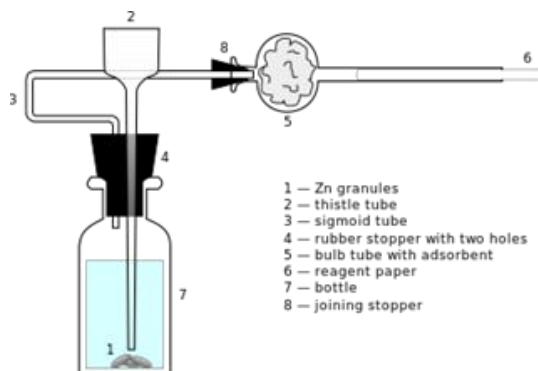
6. Identifikasi Arsen Metode Sanger-Black

a. Prinsip Kerja

Arsen direduksi dengan Hz (Hz terjadi $\text{Zn granulated} + \text{H}_2\text{SO}_4$) menjadi AsH_3 selanjutnya dialirkan melalui kertas sublimat.

b. Cara Kerja

1. Masukkan ke dalam labu Erlenmeyer tambah butir Zn dan H_2SO_4
2. Kemudian labu tersebut ditutup dengan prop. karet yang sudah dipasang tabung kaca :



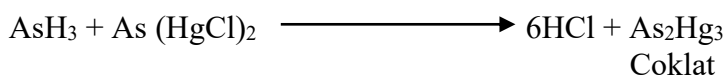
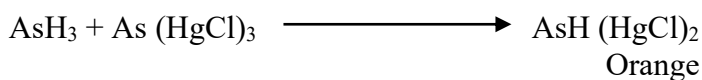
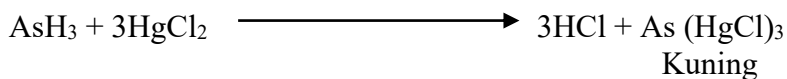
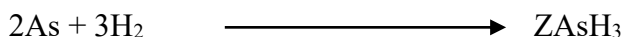
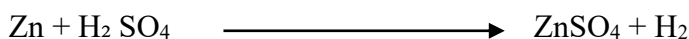
Gambar 1. Peralatan Sanger Black

3. A (berisi kertas dan kapas Pb acetat), tabung kaca B (yang berisi kertas sublimat).
4. Tunggu kurang lebih 1 jam

c. Interpretasi Hasil

Positif Arsen: bila kertas sublimat (pada tabung C) berubah menjadi kuning, orange, coklat.

Reaksi



LATIHAN SOAL

1. Jelaskan fungsi setiap pereaksi yang digunakan pada identifikasi logam As dengan metode Gutzeit !
2. Jelaskan mengapa arsen ditemukan pada darah hanya pada kasus keracunan akut !
3. Jelaskan gejala keracunan arsen pada kasus keracunan akut dan keracunan kronis !

4. Sebutkan senyawa arsen organik dan anorganik !
5. Jelaskan metode yang dapat digunakan untuk menentukan kadar As dalam suatu sampel !

Referensi

- Clarke EGC, Berle J. 1978. Isolation and Identification of Drugs .London. The Pharmaceutical Press
- 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.
- Rahayu M & Solihat MF, 2018. Toksikologi Klinik, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta
- Orloff K, Mistry K, Metcalf S. (2009). Biomonitoring for environmental exposures to arsenic. J Toxicol Environ Health B. 12: 509–524.

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI ARSEN (As)

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

Preparasi Sampel :

.....
.....
.....

Identifikasi Senyawa Arsen dengan Cara Gutzeit :

.....
.....
.....

Identifikasi senyawa arsen dg cara Fleitman :

.....
.....
.....

Identifikasi senyawa arsen dengan cara Sidney Kaye:

.....
.....
.....

Identifikasi Arsen Metode Sanger-Black :

.....
.....
.....

Kesimpulan :

.....
.....
.....

KEGIATAN BELAJAR 2

LOGAM BERAT RAKSA (Hg)

RAKSA/ MERKURI

Merkuri atau raksa adalah unsur logam yang sangat penting di abad modern sekarang ini. Merkuri adalah unsur yg memiliki NA = 80 dan Mr (massa molekul relatif) = 200,59. Hg merupakan singkatan dari Hydrargyricum yg berarti cairan perak dari bahasa Yunani. Bentuk fisik dan kimianya sangat menguntungkan karena merupakan satu-satunya logam yang berbentuk cairan dalam suhu kamar (25°C) dgn titik beku - 39°C, mempunyai kecenderungan menguap lebih besar, mudah bercampur dengan logam2 lain menjadi logam lain (amalgama, alloy) dan sebagai konduktor yg baik. (Rahayu & Solihat, 2018)

Bentuk organik persenyawaan merkuri seperti metil merkuri sekitar 90% diabsorpsi di usus dibanding bentuk anorganik (HgCl_2) yang hanya sekitar 10%, akan tetapi bentuk merkuri anorganik ini kurang bersifat korosif dibanding yang bentuk organik. Bentuk organik juga dapat menembus barier darah dan plasenta sehingga dapat menimbulkan teratogenik dan gangguan saraf. Diagnosis toksisitas merkuri tidak dapat dilakukan dengan tes biokimia. Indikator toksisitas Hg hanya dapat didiagnosis dalam darah, urine dan rambut. Waktu paruh dari metil merkuri dalam tubuh manusia berkisar antara 70-90 hari tetapi eliminasi dari jaringan sangat lambat dan tidak teratur sedangkan akumulasinya dapat dengan mudah menimbulkan gejala toksisitas (Rahayu & Solihat, 2018).

Merkuri dapat menyebabkan presipitasi protein, menghambat aktivitas enzim dan bertindak sebagai bahan yang bersifat korosif. Merkuri juga dapat berikatan dengan gugus sulfhidril, fosforil, karboksil, amida dan amina dimana dalam gugus tsb merkuri dapat menghambat fungsi enzim. Komponen merkuri merupakan inhibitor enzim non spesifik, oleh karena itu sulit ditentukan enzim mana yang dihambat. Membran sel adalah titik utama yang diserang selama terdapat gugus sulfhidril dalam struktur membran sel (Rahayu & Solihat, 2018).

Toksisitas merkuri sangat bergantung pada bentuk komposisi merkuri serta cara masuknya ke dalam tubuh. Merkuri dalam bentuk HgCl_2 daripada bentuk HgCl . Hal ini disebabkan karena bentuk divalen lebih mudah larut, di samping itu bentuk HgCl_2 juga

cepat dan mudah diabsorpsi sehingga daya toksisitasnya lebih tinggi. Toksisitas Hg pada manusia dibedakan menurut bentuk senyawa Hg, yaitu organik dan anorganik. Merkuri organik (metil merkuri) mempunyai daya racun 50 kali lebih kuat daripada merkuri anorganik karena lambat dikeluarkan dari dalam tubuh (Rahayu & Solihat, 2018).

Identifikasi Raksa (Hg)

1. Alat dan Bahan

Lempeng Cu, HCl 2-4 N, $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Dithizon, Kloroform, Difenilkarbazon, KI, HNO_3 pekat, H_2SO_4 pekat, KMnO_4 .

2. Preparasi sampel

- Untuk prosedur a : sampel bahan makanan (air, sayuran, ikan) dan sampel biologis di hancurkan dengan diblender atau dicincang kecil ditambah kalau terlalu padat ditambah dengan aquades sama banyak
- Untuk prosedur b,c,d : didestruksi lebih dulu dengan 25 mL asam nitrat pekat - 2 mL asam sulfat pekat, dan larutan KMnO_4 qs, menggunakan pendingin balik sampai semua zat organik terdestruksi sempurna. Bila perlu di HNO_3 pekat dan KMnO_4 , kelebihan KMnO_4 dihilangkan dengan penambahan larutan hidroksilamin 50% tetes demi tetes sampai warna ungu hilang. Kemudian diencerkan sampai 300mL (tergantung kadar Raksa) larutan yang terbentuk sebagai larutan uji

3. Prinsip :

- a. senyawa raksa dengan lempeng Cu (tembaga) dalam suasana asam akan membentuk amalgam.
- b. senyawa raksa dengan Cupro Iodid dalam suasana asam akan terjadi warna merah sampai jingga dari HgI_2
- c. senyawa raksa dengan Dithizon (1,5 difeniltiokarbazon) dalam kloroform terjadi warna jingga dari garam Hg (positif juga untuk Pb, Th)
- d. senyawa raksa ditambah Difenilkarbazon terjadi garam kompleks yang berwarna

4. Pereaksi khusus :

- a. Larutan Ganasini : 5 g KI + 20 g $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 100 mL air dicampur dengan larutan dari 5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 100 mL HCl 1N suspensi CuI_2 .
- b. Larutan 1,5 difeniltiokarbazon (ditizon) 0,0025g dalam CHCl_3 atau CCl_4 .

5. Prosedur :

- a. Pembentukan amalgam : SejumLah 50 g contoh dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 250 mL, ditambah 50 mL air dan 20 mL HCl pekat, kemudian dicampur homogen. Kedalam campuran, dicelupkan lempengan / kawat tembaga yang bersih dan telah diampelas. Dipanaskan diatas nyala api sekitar 30 menit

Interpretasi (+) : bila terbentuk lapisan perak mengkilat pada lempeng Cu

- b. Reaksi CuI_2 : Ditetaskan satu tetes larutan Cupro Iodid ke dalam lempeng tetes atau kertas saring , kemudian ditambah larutan uji yg telah diasamkan dengan asam nitrat atau HCl 1 N.

Interpretasi (+) : terjadi warna merah sampai jingga tergantung dari kadar raksa.

- c. Reaksi Dithizon : SejumLah 10 mL larutan uji ditambah larutan ditizon 0,002% dalam kloroform atau CCl_4

Interpretasi (+) : terbentuk warna jingga dari garam raksa.

- d. Reaksi Difenilkarbazon : Kertas saring ditetesi dg larutan difenilkarbazon 1% dalam etanol 95%. Kemudian ditetesi larutan uji

Interpretasi (+) : terjadi warna violet sampai biru tergantung kadar raksa(II).

Kepekaan tergantung keasaman larutan uji, kepekaan turun bila keasaman meningkat, sebaiknya larutan uji mengandung 0,2 N asam nitrat.

LATIHAN SOAL

1. Apa bahaya logam Hg yang terdapat pada krem pemutih wajah jika digunakan dalam jangka waktu yang lama. ?
2. Organ apakah yang paling rentan mengalami kerusakan akibat terpapar logam merkuri ?
3. Pada keracunan merkuri (Hg) secara oral sampel apakah yang dapat digunakan untuk pemeriksaannya?

4. Sebutkan uji warna apakah yang dapat digunakan untuk identifikasi merkuri dalam sampel selain kedua metode uji warna di atas.!

Referensi

- M. Choirul Hadi, 2013. Bahaya Merkuri (Hg) di Lingkungan Kita, Jurnal Skala Husada, Poltekkes Denpasar, Volume 10 : 175-183
- Zul Alfian, 2006. Merkuri Antara manfaat dan Efek Penggunaannya bagi Kesehatan Manusia dan Lingkungan. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap Universitas Sumatra Utara
- Darmono, 2001. Lingkungan Hidup dan Pencemaran, Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam. UI Press, Jakarta.
- Rahayu M & Solihat MF, 2018. Toksikologi Klinik, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN IDENTIFIKASI RAKSA (Hg)

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

Preparasi Sampel :

.....

.....

.....

Pembentukan amalgam :

.....

.....

.....

Reaksi CuI_2 :

.....

.....

.....

Reaksi Dithizon :

.....

.....

.....

Reaksi Difenilkarbazon :

.....

.....

.....

Kesimpulan :

.....

.....

.....

KEGIATAN BELAJAR 3

LOGAM BERAT TIMBAL (Pb)

TIMBAL (Pb)

Timbal adalah logam beracun yang penggunaannya secara luas telah menyebabkan pencemaran lingkungan dan masalah kesehatan di banyak belahan dunia. Ini adalah racun kumulatif yang mempengaruhi banyak sistem tubuh, termasuk sistem neurologis, hematologi, gastrointestinal, kardiovaskular dan ginjal. Anak-anak sangat rentan terhadap efek neurotoksik timbal, dan bahkan tingkat paparan yang relatif rendah dapat menyebabkan kerusakan saraf yang serius dan, dalam beberapa kasus, kerusakan saraf yang tidak dapat diperbaiki lagi

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 (Muji dan Firman, 2018).

Spektrofotometer Serapan Atom (AAS) merupakan teknik yang dapat digunakan untuk kuantifikasi logam berat secara tepat dalam matriks biologis. Sampel biologis, termasuk darah, urin, jaringan, dan rambut, berfungsi sebagai indikator paparan logam berat. Aktivitas industri, pencemaran lingkungan, dan asupan makanan merupakan jalur umum terjadinya akumulasi logam berat dalam tubuh manusia. Paparan logam-logam ini secara kronis dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan, termasuk gangguan neurologis, kerusakan organ, dan efek karsinogenik.

AAS bergantung pada prinsip penyerapan cahaya dengan panjang gelombang tertentu oleh atom keadaan dasar dalam suatu sampel. Teknik ini melibatkan atomisasi sampel dalam tungku api atau grafit, dan kemudian mengukur penyerapan karakteristik panjang gelombang cahaya oleh atom logam berat target. Jumlah cahaya yang diserap berbanding lurus dengan konsentrasi logam yang ada, sehingga memungkinkan dilakukannya analisis kuantitatif. Persiapan sampel untuk AAS melibatkan langkah-langkah yang cermat untuk memastikan hasil yang akurat. Sampel biologis dicerna menggunakan asam yang sesuai atau metode oksidatif untuk memecah matriks

kompleks dan melepaskan logam dalam bentuk yang sesuai untuk analisis. Standar kalibrasi konsentrasi logam yang diketahui digunakan untuk membuat kurva kalibrasi untuk kuantifikasi. Instrumen AAS, dilengkapi dengan sumber cahaya, monokromator, sistem pengenalan sampel, dan detektor, secara tepat mengukur serapan logam yang diinginkan (James, C. 2023)

SUMBER DAN RUTE PAPARAN LOGAM Pb

Logam timbal dapat bersumber dari pekerjaan dan lingkungan. Hal ini terutama disebabkan oleh karena pekerja terhirup partikel timbal yang dihasilkan dari pembakaran bahan yang mengandung timbal, misalnya pada saat peleburan, daur ulang, pengupasan cat bertimbal dan kabel plastik yang mengandung timbal serta penggunaan bahan bakar penerbangan bertimbal, dan konsumsi debu, air (dari pipa bertimbal) dan makanan yang terkontaminasi timbal (dari wadah berlapis timbal atau disolder timbal) dan dari perilaku tangan ke mulut. Begitu timbal masuk ke dalam tubuh, timbal didistribusikan ke organ-organ seperti otak, ginjal, hati, dan tulang. Tubuh menyimpan timbal di gigi dan tulang, yang kemudian terakumulasi seiring waktu. Timbal yang disimpan dalam tulang mungkin dilepaskan ke dalam darah selama kehamilan, sehingga membahayakan janin yang sedang tumbuh. Anak-anak yang kekurangan gizi lebih rentan terhadap timbal karena tubuh mereka menyerap lebih banyak timbal jika nutrisi lain, seperti kalsium atau zat besi, kurang. Kelompok usia yang sangat muda mempunyai risiko paling tinggi, begitu pula dengan masa perkembangan sistem saraf yang merupakan periode yang sangat rentan. (WHO, 2020).

MEKANISME TOKSISITAS

Toksisitas diketahui terjadi melalui stres oksidatif yang disebabkan oleh timbal. Mekanisme stres oksidatif yang diinduksi oleh timbal telah digambarkan sebagai penipisan cadangan antioksidan dan peningkatan pembentukan spesies oksigen reaktif, seperti hidropersoksida. Sembilan puluh persen glutathione dalam sel berada dalam bentuk tereduksi dan 10% dalam bentuk oksidatif, dan biasanya bertindak sebagai mekanisme pertahanan antioksidan. Bereaksi terhadap oksigen reaktif, glutathione menstabilkan oksigen reaktif, dan setelah diubah (dioksidasi) menjadi glutathione disulfide, selanjutnya direduksi kembali menjadi glutathione oleh glutathione reduktase. Timbal menonaktifkan glutathione dengan berikatan dengan gugus sulfhidril, yang

menyebabkan pengisian ulang glutathione menjadi tidak efisien, sehingga meningkatkan stres oksidatif. Selain itu, timbal lebih lanjut mengurangi kadar glutathione dengan menghalangi aktivitas enzim seperti δ -aminolevulinic acid dehydratase, glutathionereductase (GR), glutathione peroxidase, dan glutathione-S-transferase. Timbal mengganggu kestabilan membran sel melalui peroksidasi lipid, yang dapat menyebabkan hemolitikemia. Aksi kolektif dari berbagai mekanisme tersebut membuat sel rentan terhadap stres oksidatif, yang menyebabkan kematian sel.

Toksisitas juga timbul dari timbal yang menggantikan kation divalen, yang diperlukan untuk aktivitas seluler. Mekanisme utama yang menyebabkan kelainan neurologis adalah mekanisme ionik yang menggantikan ion kalsium dengan timbal, sehingga memungkinkannya melewati sawar darah-otak. Dengan menembus penghalang darah-otak, timbal terakumulasi dalam sel-sel astroglial, mengganggu pembentukan selubung mielin. Bahkan dalam konsentrasi yang sangat kecil, timbal mempengaruhi eksitasi saraf dan aktivitas neurotransmitter yang berhubungan dengan memori (Kim H.C, et al. 2015).

IDENTIFIKASI TIMBAL

1. **Metode** : *Atomic Absorbtion Spectrophotometer* (AAS)/Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)
2. **Prinsip** : Absorpsi cahaya oleh atom pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Sampel Pb diatomisasi dengan nyala maupun dengan tungku. Pada atomisasi temperatur harus benar-benar terkontrol dengan sangat hati-hati agar proses atomisasinya sempurna. Biasanya temperatur dinaikkan secara bertahap, untuk menguapkan dan sekaligus mendisosiasikan senyawa yang dianalisis.
3. **Alat dan Bahan** :
Tabung reaksi, pipet tetes, bunsen, labu ukur, kertas saring, KI 2% dan 10%, K_2CrO_4 10%, NaOH, NH_4OH 10%, Asam Asetat 10%, Asam Asetat Glasial, Aquades, $Pb(NO_3)_2$ AAS, COD reactor/Soxhlet, HNO_3 , H_2SO_4 atau $HClO_4$, ultrapure water, Standar Pb, Sampel darah dan urin.
4. **Prosedur Kerja**
 - a. **Uji Kualitatif Pb**
Preparasi Sampel

Ditimbang sebanyak 5,0 g sampel, ditambahkan akuades sebanyak 25 mL, Tambahkan 10 mL HNO₃ (P), panaskan di lemari asam hingga uap putih dan cairan jernih. Kemudian dinginkan dan encerkan dengan aquadest lalu saring. Tampung filtratnya di labu ukur 50 mL tambahkan aquades hingga tanda batas homogenkan lalu netralkan dengan NaOH.

Uji Reaksi Warna dengan Kalium Kromat 10%

Masukkan sampel uji yang telah didestruksi sebanyak 5 tetes, kemudian tambahkan K₂CrO₄ 10% tetes demi tetes. Jika terbentuk endapan kuning maka positif mengandung timbal. Lanjutkan percobaan dengan penambahan NH₄OH 10% atau Asam Asetat 10% maka endapan yang terbentuk tidak akan larut sedangkan dengan penambahan HNO₃ atau NaOH 10% dapat melarutkan endapan.

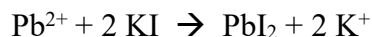


Dengan penambahan HNO₃ dan NaOH maka endapan PbCrO₄ akan larut

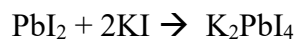


Uji Reaksi Warna dengan KI 2%

Masukkan sampel uji sebanyak 1 mL dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan KI 2% tetes demi tetes. jika terbentuk endapan kuning maka positif mengandung timbal. Endapan kuning yang terbentuk jika ditambahkan dengan KI 10% tetes demi tetes endapan dapat larut. Dan jika ditambahkan air suling sebanyak 5 mL lalu dipanaskan di atas api bunsen sampai endapan larut.

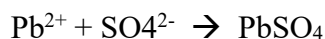


Dengan penambahan pereaksi KI 10% maka endapan PbI₂ akan larut



Uji Reaksi Warna dengan Asam Sulfat encer

Masukkan sampel uji sebanyak 1 mL dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan H₂SO₄ tetes demi tetes. jika terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam asam klorida atau asam nitrat tetapi larut dalam NaOH dan ammonium asetat maka positif mengandung timbal.



Kontrol Positif dan Negatif

Kontrol Positif : Masukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 mL larutan timbal, kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi (point 1-3) melalui dinding tabung reaksi selanjutnya bandingkan dengan sampel.

Kontrol Negatif : Masukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 mL larutan aquades, kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi (point 1-3) melalui dinding tabung reaksi selanjutnya bandingkan dengan sampel.

b. Uji Kuantitatif Pb

Melakukan preparasi sampel

1. Pada Spektrofotometer Serapan Atom, sampel dibutuhkan dalam bentuk 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 .
2. 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).
3. 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.

Prosedur Pemeriksaan Pb dengan AAS

Pembuatan Larutan baku Standar 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.

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.

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, dimasukkan ke 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.

Pembuatan kurva kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan sebagai berikut :

1. Alat AAS diatur dan dioptimalkan sesuai dengan petunjuk penggunaan alat untuk pengujian logam.
2. Diukur masing-masing larutan kerja yang telah dibuat pada panjang gelombang 283,3 nm. Kemudian dicatat masing-masing serapannya (absorbans).
3. Dibuat kurva kalibrasi dari data-data yang telah diperoleh dan ditentukan persamaan garis lurus nya yaitu $Y = bX + a$

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 SOAL

1. Jelaskan mengapa timbal merupakan salah satu logam yang sangat berbahaya terhadap manusia !
2. Jelaskan beberapa parameter pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk uji skrining pada kasus keracunan logam berat Pb untuk penegakan diagnosa !
3. Jelaskan mengapa analisa logam Pb umumnya menggunakan metode AAS !

REFERENSI

- James, C. (2023). Quantitative Analysis of Heavy Metals In Biological Sampel by Atomic Absorption Spectroscopy. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* . 15(11).
- Kim, H.C. et al. (2015). Evaluation and Management of Lead Exposure. *Annals of Accupational and Environmental Medicine*. 27(30).
- Muji R dan Moch Firman Solihat, 2018. *Toksikologi Klinik*, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta
- Settle, F., 1997, *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Prentice-Hall Inc., New Jersey
- WHO. (2023). *Brief Guide to Analytical Methods for Measuring Lead in Blood*. Second Edition.

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN LOGAM TIMBAL Pb

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

Uji Kualitatif Pb :

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Uji Kuantitatif Pb :

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Kesimpulan :

.....
.....
.....
.....
.....

MODUL 3
PESTISIDA
KEGIATAN BELAJAR 1
KERACUNAN PESTISIDA

PESTISIDA

Pestisida adalah zat kimia yang biasa digunakan dalam pertanian modern untuk melindungi tanaman dari berbagai hama dan penyakit. Penggunaan pestisida di bidang pertanian berhubungan langsung dengan peningkatan produktivitas pertanian. Sejumlah produk pertanian, terutama sayuran, merupakan komponen penting dalam makanan manusia karena merupakan sumber vitamin dan mineral. Secara umum, sayuran memasok 16% magnesium, 19% zat besi, dan 9% kalori berdasarkan total nilai asupan yang direkomendasikan (Latif et al., 2011). Pestisida setelah diaplikasikan mampu bertahan pada bidang sasaran atau pada lingkungan dalam jangka waktu yang relatif lama maka dikatakan persisten. Berdasarkan persistennya, pestisida dapat dikelompokkan ke dalam dua golongan, yaitu yang persisten dan yang kurang persisten. Pestisida yang sangat persisten dapat meninggalkan residu sangat lama dan dapat terakumulasi dalam jaringan melalui rantai makanan sebagai contoh adalah organoklorin, seperti dichloro diphenyl trichloretane (DDT), siklodien, heksaklorosikloheksan (HCH) dan endrin. Pestisida yang tergolong kurang persisten efektif terhadap berbagai jenis Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) sasaran tetapi di dalam tanah cepat terdegradasi antara lain adalah kelompok organofosfat, misalnya disulfoton, parathion, diazinon, azodrin, dan 2-gophacide (Amilia et al., 2016).

TOKSISITAS PESTISIDA

Pemakaian ini berujung pada efek samping yang juga meningkat. Sayuran dan buah-buahan merupakan bahan pangan yang proses penanamannya membutuhkan pestisida. Selain petani yang mengaplikasikan pestisida, keracunan pestisida dapat pula dialami oleh masyarakat yang mengonsumsi hasil pertanian termasuk sayuran dan buah-buahan melalui residu pestisida yang terkandung didalamnya. Residu pestisida awalnya masuk ke dalam tubuh dengan jumlah yang sedikit dan lama kelamaan akan terkumpul dalam suatu proses bioakumulasi yang akhirnya akan mengakibatkan

keracunan kronik (Lin et al., 2009). Penyemprotan pestisida organofosfat dalam jumlah yang besar menyebabkan residu pestisida yang serius pada sayuran, dan apabila mengonsumsi sayuran beracun tersebut dapat menyebabkan sakit kepala, pusing, muntah, sesak nafas, koma, bahkan kematian. Pestisida golongan organofosfat dan karbamat saat ini banyak digunakan sebagai agen pengusir dan pembasmi hama, namun penggunaan yang berlebihan dari kelas ini menyisakan konsentrasi besar pada sayuran (Yu et al., 2021). Dari hasil penelitian sebelumnya tentang analisis kualitatif residu pestisida pada bahan pangan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) diperoleh hasil bahwa terdapat sampel bahan pangan yang terdeteksi adanya residu pestida didalamnya (Muawanah & Qadri Rasyid, 2021).

Molekul organofosfat dapat diserap melalui kulit, inhalasi, atau di saluran pencernaan. Setelah diserap, molekul tersebut berikatan dengan molekul asetilkolinesterase dalam sel darah merah, sehingga membuat enzim menjadi tidak aktif. Hal ini menyebabkan kelebihan asetilkolin dalam sinapsis dan sambungan neuromuskular. Stimulasi berlebihan pada reseptor nikotinik yang terdapat pada sambungan neuromuskular dapat menyebabkan fasikulasi dan sentakan mioklonik.

DIAGNOSIS KERACUNAN PESTISIDA

Insiden paparan pestisida harus dianggap sebagai potensi gangguan kesehatan yang mungkin memerlukan upaya tindak lanjut untuk menemukan sumbernya dan kasus tambahan lainnya. Dengan mengidentifikasi sumber paparan dapat mencegah paparan lebih lanjut pada pasien awal dan individu lain yang terpapar. Konfirmasi keracunan organofosfat didasarkan pada pengukuran aktivitas kolinesterase; biasanya, hasil ini tidak tersedia dalam jangka waktu yang relevan secara klinis. Meskipun kadar sel darah merah dan plasma (pseudo) kolinesterase (PChE) keduanya dapat digunakan, kolinesterase sel darah merah berkorelasi lebih baik dengan asetilkolinesterase (AChE) sistem saraf pusat (SSP) dan, oleh karena itu, merupakan penanda keracunan organofosfat yang lebih berguna (EPA, 2024).

PEMERIKSAAN ASETILKOLINESTERASE DARAH

Pemeriksaan toksikologik pestisida dapat dilakukan dengan menggunakan sampel darah, jaringan hati, limpa, paru-paru dan lemak badan. Penentuan kadar AchE dalam

darah dan plasma dapat dilakukan dengan metode *reactive paper*, tintometer (Edson) dan *paper-strip* (Acholest).

Pemeriksaan Asetil Kolinestearase Metode Reaktif Paper Kit (Dermawan, B. 2013).

1. Alat dan Bahan

Tabung sentrifugasi, tabung hematokrit, spuit, pipet tetes, reactive paper, object glass, sampel darah

2. Prosedur Kerja

- Sampel darah tepi 10 cc dengan spuit kemudian dimasukkan ke dalam tabung hematokrit
- Tutup kedua ujung tabung dengan lilin. Tabung disentrifugasi untuk memisahkan plasma dengan sel darah
- Satu atau 2 tetes plasma ditetaskan pada *reactive paper* dan ditutup dengan object glass
- Sampel dibiarkan selama 7 menit dalam suhu ruangan
- Warna yang tampak pada *reactive paper* dibandingkan dengan tabel penilaian warna

3. Interpretasi Hasil

Tabel 3. Tabel Penilaian *Reactive Paper*

Warna	Interpretasi	% Aktifitas AChE Darah
Kuning	Normal	>75%-100%
Kuning Kehijauan	Keracunan Ringan	50%-75%
Hijau	Keracunan Sedang	25%-50%
Biru	Keracunan Berat	0%-25%

Pemeriksaan Asetil Kolinestearase Tintometer KIT Metode Edson (Ditjen PPM & PLP, 1994)

1. Alat dan Bahan

Cawan porselin, pipet tetes, stopwatach, Indikator brom-timol-biru, sampel darah

2. Prinsip Kerja

Perubahan pH darah ditunjukkan dengan indikator BTB (Brom Thymol Blue)

3. Prosedur Kerja

Cara Edson: berdasarkan perubahan pH darah

- a. Masukkan beberapa sampel darah korban ke dalam cawan porselin.
- b. Tambahkan indikator brom-timol-biru, diamkan beberapa saat maka akan terjadi perubahan warna.
- c. Bandingkan warna yang timbul dengan warna standar pada comparator disc (cakram pembanding), maka dapat ditentukan kadar AchE dalam darah.

4. Interpretasi Hasil

Tabel 3. Tabel Penilaian

% Aktifitas AChE Darah	Interpretasi
75%-100% dari normal	Tidak ada keracunan
50%-75% dari normal	Keracunan ringan
25%-50% dari normal	Keracunan
0%-25% dari normal	Keracunan berat

Pemeriksaan Asetil Kolinestearase Metode Acholest

1. Alat dan Bahan

Pipet tetes, kertas Acholest, Stopwatch, sampel serum

2. Prinsip Kerja

Kertas Acholest (yang mengandung asetil cholin dan indikator). Kertas Kontrol yang mempunyai warna yang sama dengan kertas Acholest (kuning telur)

3. Prosedur Kerja

Ambil serum darah korban dan teteskan pada kertas Acholest bersamaan dengan kontrol serum darah normal. Pada kertas Acholest sudah terdapat Ach dan indikator. Waktu perubahan warna pada kertas tersebut dicatat. Perubahan warna harus sama dengan perubahan warna pembanding (serum normal) yaitu warna kuning telur.

4. Interpretasi:

Kurang dari 18 menit, tidak ada keracunan. 20-30 menit, keracunan ringan, 35-150 menit, keracunan berat.

LATIHAN SOAL

1. Apakah jenis tabung yang digunakan untuk penyimpanan darah !
2. Mengapa terjadi perubahan warna reactive paper !
3. Apakah fungsi penyimpanan sampel selama 7 menit dalam suhu ruang !

REFERENSI

- Environmental Protection Agency Office of Pesticide Program. (2013). Recognition and Management of Pesticide Poisonings. United State Edited EPA. by J. Routt Reigart, M.D. and. James R. Roberts, M.D., M.P.H.
- Amilia, E. Joy, B. Sunardi. (2016). Residu Pestisida pada Tanaman Hortukultura (Studi Kasus di Desa Cihanjuang Rahayu Kecamatan Parongpong Kabupaten Bandung Barat. Jurnal Agrikultura. 27(1). 23-29.
- Ditjen PPM & PLP. (1994). Pemeriksaan Cholinesterase Darah dengan Tintometer Kit. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Dermawan, B. (2013). Hubungan Antara Aktivitas Asetil Kolinesterase Darah dengan Tekanan Darah Petani yang Terpapar Organofosfat. SKRIPSI. Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang
- Latif, Y., Sherazi, S. T. H., & Bhanger, M. I. (2011). *Assessment of pesticide residues in commonly used vegetables in Hyderabad, Pakistan. Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(8), 2299–2303.
- Muawanah, Rasyid, N.Q. 2021. Analisis Kualitatif Residu Pestisida pada Bahan Pangan dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Journal of Health Science and Technology. 2(2). 113-120.
- Libin, L., Hashi, Y., Yaping, Q., Haizia, Z., Jinming, L. (2006). Rapid Analysis of Multiresidual Pesticide in Agriculture Product by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Chinese Journal of Analitical Chemistry. 34(6).783-786.
- Yu, M. et al. 2021. Organophosphate Esters in Children and Adolescents in Liuzhou City, China: Concentrations, Exposure Assessment and Predictors. Research Squa

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN ASETILKOLISTERASE DARAH

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

Metode Reaktif Paper Kit :

.....
.....
.....
.....

Metode Edson :

.....
.....
.....
.....

Metode Acholest :

.....
.....
.....
.....

Kesimpulan :

.....
.....
.....
.....
.....

MODUL 4 SIANIDA DAN KARBONMONOKSIDA

KEGIATAN BELAJAR 1 SIANIDA

ANALISA SIANIDA

Sianida atau *cyanide* dalam bahasa inggris, adalah suatu senyawa anion poliatomik dengan rumus kimia CN^- , dan sangat beracun bagi mahluk hidup. Dalam bentuk ion, sianida sangat reaktif karena memiliki kemampuan untuk berikatan dengan ion logam seperti besi, kobalt, dan tembaga untuk membentuk senyawa kompleks yang stabil. Ion sianida juga akan membentuk ikatan kovalen dengan atom karbon dalam molekul organik, yang seringkali mengganggu proses respirasi selular (Rahayu & Solihat, 2018)

Senyawa sianida alami di alam umumnya berbentuk glukosida sianogenik. Bila dihidrolisis oleh enzim atau diberikan perlakuan tertentu, maka glukosida sianogenik akan menjadi asam sianida (HCN). Beberapa sumber sianida alami adalah singkong dan umbi-umbian lainnya, biji-bijian, kacang-kacangan, rebung, kluwek, serta beberapa jenis daun-daunan (Ridawati & Ridawati, 2013). Sumber sianida lainnya di alam adalah dari proses pembakaran material yang mengandung nitrogen dan karbon, seperti karet dan plastik. Beberapa industri juga menggunakan sianida, khususnya industri pertambangan dan pengolahan logam.

Keracunan sianida pada manusia adalah kondisi yang serius karena dapat menyebabkan kematian dengan cepat. Bentuk sianida paling toksik adalah sianida bebas (CN^-), sedangkan kompleks sianida bersifat kurang toksik. Makin stabil suatu senyawa sianida, maka makin rendah tingkat toksisitasnya karena tingkat toksisitas senyawa sianida bergantung pada kemampuannya dalam menghasilkan sianida bebas (Luque-Almaro, et al., 2011). Sianida dalam tubuh akan menghambat kemampuan sel untuk menggunakan oksigen selama proses respirasi. Enzim sitokrom oksidase di dalam mitokondria sel penting untuk rantai transpor elektron, yang merupakan bagian dari respirasi selular yaitu proses penggunaan oksigen oleh sel untuk menghasilkan energi. Sianida menginhibisi kerja enzim sitokrom oksidase ini, sehingga mengakibatkan akumulasi asam laktat dan terjadi asidosis metabolik (pH darah menjadi asam) yang berbahaya. Sianida juga dapat membentuk ikatan kuat dengan hemoglobin dalam sel

darah merah yang dapat mengganggu transportasi oksigen ke seluruh jaringan tubuh.

Paparan sianida pada tubuh manusia bisa melalui beberapa jalur termasuk inhalasi (pernafasan), oral, dan kulit. Gejala pertama yang timbul adalah pusing, mual, dan kebingungan. Diikuti dengan sesak nafas, tekanan darah rendah, kejang, koma, dan bahkan kematian. Diagnosa toksikasi sianida didasarkan pada pemantauan gejala klinis dan riwayat paparan pada pasien, dan ditegakkan dengan pemeriksaan klinis pada pasien (sampel biologis), dan pemeriksaan pada terduga bahan penyebab keracunan sianida (sampel non biologis). Waktu paruh sianida dalam tubuh manusia cukup singkat yaitu 0,34 – 1 jam, sehingga apabila tubuh sudah lama terpapar sianida, maka akan susah untuk menganalisa kadarnya pada sampel biologis (Logue & Hinkens, 2008). Meskipun residu sianida dan turunannya juga ditemukan dalam urin dan saliva, analisis langsung sianida dari urin dan saliva juga terbatas. Tingkat rhodanese (enzim yang berfungsi pada detoksifikasi sianida) bervariasi pada organ-organ tubuh.

Sehingga sampel biologis yang umum digunakan adalah sampel darah dan sampel isi lambung (apabila paparan melalui oral). Dalam situasi yang berkaitan dengan keracunan sianida, penting untuk segera mendeteksi dan mengukur sianida dalam tubuh, agar perawatan yang diperlukan pasien bisa cepat diberikan. Pilihan metode analisis tergantung pada tingkat kebutuhan ketelitian, waktu yang tersedia, tujuan analisis, dan fasilitas laboratorium. Beberapa metode analisis yang umum digunakan untuk analisa kualitatif dan kuantitatif sianida pada sampel biologis adalah sebagai berikut (Logue & Hinkens, 2008):

1. Metode *Kit Test*

Metode ini dirancang untuk uji *skrining* awal keracunan sianida, hanya membutuhkan *kit* sederhana yang mudah dibawa dan dapat langsung digunakan di tempat kejadian. Hasil cepat namun sensitivitas rendah.

2. Metode Spektrofotometri

Untuk deteksi sianida dapat digunakan beberapa metode spektrofotometri dengan senyawa yang berbeda. Seperti senyawa 2,3-dinitro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ), piridin barbiturat, dll yang akan bereaksi dengan sianida untuk membentuk senyawa berwarna.

3. Metode Kromatografi Gas

Senyawa sianida merupakan senyawa yang mudah menguap sehingga cocok untuk

dipisahkan menggunakan metode kromatografi gas. Sampel yang telah dipisahkan akan dideteksi konsentrasinya menggunakan detektor khusus seperti detektor ionisasi berkas electron (EID).

4. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Metode KCKT atau lebih dikenal dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) ini juga dapat digunakan untuk memisahkan dan mengukur konsentrasi sianida dalam sampel biologis. Setelah sampel diinjeksikan ke dalam kolom pemisah, detektor UV atau detektor konduktivitas digunakan untuk pengukuran konsentrasi sianida dalam sampel.

5. Metode Elektroda Ion Selektif

Menggunakan elektroda berbasis membran yang dapat merespon ion sianida. Ketika sampel diaplikasikan ke elektroda, potensial listrik diukur dan digunakan untuk menghitung konsentrasi sianida bebas. Sebelumnya dilakukan pemisahan sianida bebas dengan berbagai metode pemisahan.

Penggunaan Kromatografi Gas, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, dan Elektroda Ion Selektif sering digabungkan dengan alat lain seperti spektrofotometer massa.

PEMERIKSAAN SIANIDA

Preparasi Sampel Darah

Preparasi sampel darah dilakukan dengan memasukkan darah ke dalam tabung falkon dan dilakukan sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm pada suhu ruang. Setelah itu, akan terbentuk dua lapisan. Lapisan atas merupakan plasma darah. Plasma darah dipisahkan menggunakan pipet secara hati-hati dan disimpan dalam lemari es

Analisa Kuantitatif Metode Spektrofotometri (Pikrat)

1. Tujuan

Menentukan kadar senyawa sianida dalam sampel.

2. Prinsip

Sianida dalam sampel jika direaksikan dengan asam akan menghasilkan HCN yang dengan asam pikrat akan membentuk warna cokelat atau merah.

3. Alat dan Bahan

Spektrofotometer, gelas beaker, tabung reaksi, labu ukur, pipet tetes, botol semprot, akuades.

Larutan Na_2CO_3 2,5% (larutkan 2,5 gram natrium karbonat dengan akuades hingga 100 mL), larutan asam pikrat (tambahkan asam pikrat sebanyak 1,4 gram ke 100 mL larutan natrium karbonat 2,5%), kertas pikrat (potong kertas Whatman 3 MM menjadi strip 10x30 mm, celupkan pada larutan asam pikrat, keringkan di udara dan simpan pada suhu $-18\text{ }^\circ\text{C}$), larutan asam sulfat 1,9 M (larutkan 10,12 mL asam sulfat pekat hingga 100 mL dengan akuades), KCN murni.

4. Prosedur Analisa

a. Pembuatan Kurva Standar :

Campurkan 1 mL larutan KCN berbagai konsentrasi (10, 20, 30, 40, 50 mg/L) dengan 0,1 mL Asam Sulfat 1,9 M dalam tabung reaksi, dan homogenkan. Taruh kertas pikrat menggantung dalam botol yang kemudian ditutup rapat (bisa dipergunakan isolasi), dan inkubasi pada suhu $27\text{ }^\circ\text{C}$ selama 8 – 24 jam). Keluarkan kertas pikrat dan lepaskan dari plastik, lalu elusi dalam 5 mL akuades di tabung reaksi terpisah selama 30 menit, dan homogenkan. Ukur absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal yang telah ditentukan sebelumnya. Untuk blanko gunakan akuades. Dapatkan persamaan linear dari kurva standar yaitu $Y=aX + b$, Y = absorban, X = kadar

b. Pengukuran Sampel :

Sebanyak 1 mL sampel ditempatkan dalam botol dengan penambahan 0,1 mL asam sulfat 1,9 M, dan homogenkan. Taruh kertas pikrat menggantung pada mulut tabung dalam botol yang kemudian ditutup rapat (bisa dipergunakan isolasi), dan inkubasi pada suhu $27\text{ }^\circ\text{C}$ selama 8 – 24 jam). Perubahan warna dari kuning menjadi coklat menandakan sampel positif mengandung sianida. Keluarkan kertas pikrat dan lepaskan dari plastik, lalu elusi dalam 5 mL akuades di tabung reaksi terpisah selama 30 menit, dan homogenkan. Ukur absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal yang telah ditentukan. Untuk blanko gunakan akuades. Masukkan absorbansi sampel pada persamaan linear kurva standar (Avaïs, et al., 2011)

Analisa Kuantitatif Metode Spektrofotometri (Piridin Barbiturat))

1. Tujuan

Menentukan kadar senyawa sianida dalam sampel.

2. Prinsip

Senyawa sianida apabila diklorinasi akan membentuk sianogen klorida. Apabila sianogen klorida direaksikan dengan piridin barbiturat akan menghasilkan asam dimetil barbiturat yang berwarna merah ungu, dan dapat diukur intensitas warnanya.

3. Alat dan Reagen

Spektrofotometer, gelas beaker, tabung reaksi, pipet tetes, labu ukur, botol semprot, Akuades, larutan Kloramin T 1%, pereaksi Piridin Barbiturat, Larutan Natrium Hidrogen Fosfat 1N, Larutan Pengencer NaOH, Indikator Fenolftalein, Larutan HCl 1N, reagen murni KCN, Darah atau urin

4. Prosedur Analisa

- a. Membuat larutan standar minimal 5 konsentrasi (1 – 6 ppm) menggunakan reagen murni sianida.
- b. Menimbang 10 gram sampel yang telah dihomogenkan.
- c. Memasukkan sampel yang telah ditimbang kedalam labu ukur 100 mL, kemudian mengencerkan dengan aquades hingga tanda tera.
- d. Memipet 10 mL sampel, lalu memasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan menambahkan akuades hingga tanda tera.
- e. Memipet 5 mL larutan pada langkah 4 memasukkan kedalam labu ukur 50 mL, dan menambahkan 15 mL larutan pengencer.
- f. Kemudian menambahkan 4 mL bufferfosfat, 2 mL larutan kloramin T, dan pereaksi piridin barbiturat, mengocoknya hingga homogen.
- g. Mengencerkan dengan aquades sampai tanda tera.
- h. Melakukan langkah 5-7 pada larutan standar.
- i. Membaca absorbansi sampel dan larutan standar pada panjang gelombang maksimum 578 nm atau panjang gelombang maksimum yang telah diukur sebelumnya.
- j. Membuat kurva standar menggunakan absorbansi dan konsentrasi larutan standar, serta menetapkan persamaan linearnya.
- k. Menghitung konsentrasi sianida dengan memasukkan absorbansi sampel ke persamaan linear kurva standar (Rahayu & Solihat, 2018)

Nilai Normal Sianida darah :

1. Normal : $< 0,2 \text{ mg/L}$
2. Mulai timbul gejala : $0,2 - 1 \text{ mg/L}$
3. Keracunan : $> 1 \text{ mg/L}$

JURNAL PRAKTIKUM

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

[illegible]

Kesimpulan :

[illegible]

KEGIATAN BELAJAR 2

ANALISA KARBOKSIHEMOGLOBIN

KARBON MONOKSIDA

Karbon Monoksida (CO) adalah suatu gas yang tidak berwarna, tidak berbau, tidak berasa, tidak menimbulkan iritasi, namun dapat mematikan. Gas ini umumnya dihasilkan dari pembakaran tidak sempurna (kurang atau tidak ada oksigen) pada bahan bakar organik (Erawan, et al., 2021), tetapi tidak terdapat dalam gas alami di alam. Sumber umum dari gas CO di lingkungan adalah asap kendaraan bermotor, kebakaran di lingkungan kota, dan sistem ventilasi pemanas yang buruk (Moffat, et al., 2011). Dua sumber utama gas CO adalah eksternal dan endogen. Sekitar 60% CO eksternal berasal dari kegiatan manusia seperti penggunaan kendaraan bermotor dan asap rokok. Sedangkan 40% CO eksternal berasal dari sumber alami di alam seperti emisi gas, erupsi gunung berapi, degradasi hewan dan tumbuhan, ataupun kebakaran hutan alami. Sumber terbesar dari CO endogen adalah penghancuran molekul heme dari eritrosit darah manusia menjadi pigmen bilier, yang dikatalis oleh enzim heme-oksigenase (HO). Selain itu, CO endogen dapat berasal dari hemeprotein lain seperti mioglobin dan protein yang berikatan dengan zat besi lainnya (Varma, et al., 2015)

CO adalah gas yang sangat beracun. Toksisitas CO pada manusia berkaitan dengan interaksi antara CO dan hemoglobin (Hb). CO berikatan kuat dengan banyak senyawa heme besi yang berikatan dengan protein (Hall & Guyton, 2010). Di dalam tubuh manusia, CO dan hemoglobin pada darah menghasilkan senyawa karboksihemoglobin (HbCO). Afinitas CO terhadap hemoglobin (Hb) jauh lebih tinggi (200-250 kali) dibandingkan dengan afinitas hemoglobin terhadap oksigen (Kinoshita, et al., 2020). Hal ini menyebabkan pergeseran ke kiri pada kurva disosiasi oksihemoglobin (O_2Hb), yang mempengaruhi jumlah pelepasan O_2 dari darah ke jaringan, dan menghambat respirasi seluler. Sehingga, paparan CO pada manusia dapat menyebabkan hipoksia jaringan (kekurangan oksigen) (Pillay, 2022). Jaringan tubuh yang memiliki aktifitas metabolisme tinggi seperti jantung dan otak sangat rentan mengalami kekurangan oksigen akibat keracunan CO. Pengikatan CO pada mioglobin dari otot jantung dapat menyebabkan depresi miokardium dan hipotensi yang mengakibatkan iskemia. Hal ini dapat memperburuk kondisi hipoksia yang terlebih

dahulu terjadi karena keracunan CO.

Kasus keracunan CO dapat dikategorikan menjadi kasus ringan, sedang, dan berat. Gejala pada kasus keracunan CO ringan meliputi mual, pusing, gangguan penglihatan, sakit kepala, pelebaran otot kulit, dan kulit berwarna merah ceri. Pada keracunan CO sedang, muncul gejala nyeri dada, takikardia, merasa lemah, dan sesak nafas. Sedangkan pada keracunan CO berat terjadi gejala seperti tekanan darah rendah, henti jantung dan pernapasan, kejang, koma, dan dapat berakibat kematian (Wilbur, et al., 2012). Sebagian besar kasus keracunan dan kematian secara tidak sengaja di seluruh dunia disebabkan oleh CO. Namun, diagnosa keracunan CO seringkali terlewat. Sehingga, sangat penting untuk dilakukan analisa kadar karboksihemoglobin (COHb) dalam kasus keracunan dan kematian yang melibatkan gas.

Berbagai metode pengukuran CO dalam tubuh manusia telah dikembangkan. Sampel biologis yang dapat digunakan umumnya adalah darah dan nafas. Metode pengukuran kadar CO dalam tubuh manusia bervariasi dari metode konvensional seperti uji perbandingan warna sederhana, metode *Hartridge Reversion Spectroscope*, metode mikrodifusi, metode kolorimetri, metode volumetri, hingga metode dengan alat modern seperti *Differential Protein Precipitation*, Metode spektrofotometri, *Derivative Spectroscopy*, CO-Oximetri, *Fourier Transform Infra Red Spectrophotometry*, dan Kromatografi Gas (Moffat, et al., 2011).

Metode kualitatif sederhana yang digunakan untuk uji skrining awal keracunan COHb adalah uji perbandingan warna sederhana. Prinsip pada metode ini adalah pembentukan warna merah muda pada darah yang mengalami keracunan CO apabila ditambahkan basa atau amonia (Maehly, 1962). Metode kualitatif ini sangat mudah untuk dilakukan, memiliki akurasi yang rendah, serta keracunan sianida dapat memberikan hasil positif yang sama. Jika didapatkan hasil positif, maka konsentrasi karboksihemoglobin (COHb) dalam darah atau konsentrasi CO dalam napas harus segera diukur tanpa ada penundaan. Untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang akurat, umumnya digunakan metode kuantitatif dengan alat yang modern, seperti metode spektrofotometri dan kromatografi gas. Terdapat dua jenis pengukuran secara spektrofotometri, yaitu menggunakan spektrofotometer konvensional dengan dua panjang gelombang, dan menggunakan spektrofotometer khusus yang memungkinkan pengukuran lebih dari satu parameter heme-besi pada sampel. Darah mengandung

beberapa jenis senyawa konjugat-hemoglobin yaitu O₂Hb, Hb, MetHb, dan SulfurHb, yang menyerap warna dalam rentang panjang gelombang yang sama (400–450 nm dan 500–600 nm). Karena yang diinginkan hanyalah kadar COHb, dan bukan keseluruhan kadar hemoglobin, maka senyawa konjugat hemoglobin tersebut haruslah dipisahkan terlebih dahulu. Digunakan natrium dithionit (Na₂S₂O₄) untuk mengubah O₂Hb dan MetHb menjadi Hb, dengan asumsi hanya terdapat sedikit SulfurHb. COHb tidak dapat direduksi oleh natrium dithionit, sehingga pengukuran larutan terbatas pada konsentrasi COHb saja.

Metode spektrofotometri sederhana lainnya adalah Metode Cawan Conway. Cawan Conway adalah petridish yang memiliki dua area sumuran yang terpisah, yaitu luar dan dalam, dan dapat dibuat kedap udara dengan penutup kaca yang dilapisi dengan bahan penyegel viskus. Prinsipnya adalah membebaskan karbon monoksida dari sampel darah yang ditempatkan pada area sumuran luar dengan menggunakan asam sulfat. Kemudian CO yang dibebaskan akan bereaksi dengan larutan paladium klorida yang diletakkan di sumuran dalam. Metode ini tergolong sebagai uji semi kuantitatif (Moffat, et al., 2011). Pada metode ini dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk mendapatkan panjang gelombang yang memberikan absorbansi maksimal (Anggela, et al., 2012), penentuan *operating time* untuk menentukan durasi waktu yang memberikan hasil reaksi sempurna dan stabil (ditunjukkan dengan angka absorbansi tertinggi) (Amalia, et al., 2008), pembuatan kurva standar, dan pengukuran absorbansi larutan.

Analisa Kualitatif COHb (Uji Warna)

1. Tujuan

Mengidentifikasi Karboksihemoglobin (COHb)

2. Prinsip

Penambahan basa pada sampel yang mengandung COHb akan memberikan warna merah muda

3. Alat dan Reagen

Alat : Tabung reaksi, pipet

Reagen : Larutan NaOH 0,01 M

4. Sampel

Whole Blood

5. Prosedur Kerja

- a. Menyiapkan sampel darah melalui prosedur pengambilan yang sesuai.
- b. Menambahkan 0,1 mL darah pada 2 mL larutan NaOH 0,1 M di tabung reaksi. Melakukan homogenisasi dengan vortex.
- c. Warna hasil yang lebih muda dari warna darah normal menunjukkan kemungkinan adanya COHb pada sampel. Keracunan sianida juga akan memberikan warna yang sama, namun keracunan sianida lebih jarang terjadi dibandingkan keracunan CO.

(Rahayu & Solihat, 2018)

Analisa Kuantitatif COHb

Metode Hinsberg-Lang

1. Tujuan

Menentukan kadar Karboksihemoglobin (COHb)

2. Prinsip

Penambahan senyawa ditionit diperlukan untuk mereduksi atau menghilangkan senyawa oksihemoglobin dan MetHb yang bisa mengganggu pembacaan absorbansi senyawa COHb.

3. Alat dan Reagen

Alat : tabung reaksi 10 ml, Spektrofotometer, Flakon, 2 kuvet , Sduit 3 mL, Tourniket, Pipet ukur 5 mL, Mikropipet (10 μ L – 100 μ L), Yellow tip, Rak tabung reaksi, Spatula

Reagen : Ammonium hidroksida 0,1 % , Sodium dithionit

4. Sampel

Whole Blood

5. Prosedur

Pengambilan Darah Vena

- a. Menyiapkan *sduit* yang masih baru dan berfungsi dengan baik.
- b. Memasang tornikuet pada lengan atas yaitu sekitar 5 cm di atas siku.
- c. Mengoleskan alkohol pada tempat yang akan diambil darahnya.
- d. Mengambil darah sebanyak 3 mL dengan menggunakan *sduit*.

- e. Memasukkan sebanyak 0,5 mL sampel darah ke dalam flakon yang sebelumnya telah ditambahkan EDTA untuk membuat *whole blood* (WB).
- f. Memasukkan sisa sampel darah ke dalam tabung EDTA.

Pengukuran Kadar COHb

- a. Mengambil amonium hidroksida 0,1 % sebanyak 20 mL dan memasukkannya ke dalam erlenmeyer.
- b. Mengambil sampel *whole blood* sebanyak 10 µL dengan menggunakan yellow tip.
- c. Memasukkan sampel *whole blood* ke dalam erlenmeyer yang telah berisi amonium hidroksida 0,1% (langkah 1).
- d. Memisahkan campuran dari tabung erlenmeyer ke dalam 2 tabung reaksi (tabung 1 dan tabung 2), masing-masing sebanyak 5 mL, dengan ketentuan :
 Tabung 1 : tidak ditambah sodium dithionit
 Tabung 2 : ditambah sodium dithionit sebanyak 1 spatula
- e. Memasukkan campuran pada masing-masing tabung reaksi, ke 2 kuvet (setinggi kurang lebih 7/8 tabung kuvet)
- f. Mengukur absorbansi campuran pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm (atau panjang gelombang maksimum yang telah diukur).
- g. Menghitung kadar karboksihemoglobin (COHb) menggunakan Persamaan :

$$\text{Kadar COHb} = \frac{\Delta A}{\Delta ArHb} \times 6,08\% \quad \dots\dots 1)$$

Keterangan :

Δ A adalah absorbansi tabung 1

Δ ArHb adalah absorbansi tabung 2

6,08 adalah faktor konversi persen saturasi CO dalam Hb

Nilai Normal COHb darah :

1. Normal : < 2%
2. Batas Toleransi : 2 – 5%
3. Mulai Timbul Gejala / Tidak Normal / Keracunan : > 5%

(Nilai Keracunan COHb darah harus mempertimbangkan berbagai faktor)

(Rahayu & Solihat, 2018)

Analisis Kualitatif Metode Conway

1. Tujuan

Menentukan kadar Karboksihemoglobin (COHb)

2. Prinsip

Asam sulfat digunakan untuk melepaskan karbon monoksida dari molekul hemoglobin. CO kemudian berdifusi ke larutan PdCl_2 dan mereduksi ion Pd^{2+} menjadi logam Pd yang muncul sebagai cermin paladium di permukaan larutan PdCl_2

3. Alat dan Reagen

Alat : *S spuit* 3mL, tourniket, tabung vakutainer, *holder*, kapas alkohol, pipet ukur 5mL, mikropipet (10 μL – 1000 μL), *yellow tip*, cawan Conway, labu ukur, kuvet, spektrofotometer UV-Vis.

Reagen : Alkohol 70%, KI 5%, PdCl_2 0,005 N, H_2SO_4 5N

4. Sampel

Darah vena, arteri, atau kapiler yang utuh atau yang telah hemolisis. Antikoagulan yang dapat diterima adalah EDTA dan heparin. Volume minimum sampel minimum adalah 500 μL .

5. Prosedur Kerja

Pengambilan Darah Vena

- Menyiapkan *s spuit* yang masih baru dan berfungsi dengan baik.
- Memasang torniket pada lengan tangan sekitar 5 cm diatas lipatan siku.
- Membersihkan daerah pengambilan darah dengan alkohol 70% dan membiarkan hingga kering.
- Melakukan pengambilan darah menggunakan *s spuit*.
- Merenggangkan tourniket dan perlahan menarik pengisap *s spuit* hingga *s spuit* terisi darah 2 – 3 mL.
- Menaruh kapas di atas jarum, kemudian mencabut *s spuit*.
- Menekan tempat tusukan dengan kapas selama beberapa saat.
- Memasukkan darah tersebut ke dalam tabung vakutainer.
- Menghomogenkan sampel dengan cara membolak balik tabung sampel secara vertikal.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

- Memasukkan 10 mL aquades dalam labu takar 25 mL.
- Menambahkan 1 mL KI 5% dan 0,20 mL PdCl₂ 0,005 N.
- Menambahkan aquades sampai tanda.
- Membaca absorbansi pada panjang gelombang 350 – 550 nm.

Penentuan *Operating Time*

- Memasukkan 10 mL aquades dalam labu takar 25 mL.
- Menambahkan 0,25 mL darah.
- Menambahkan 1 mL KI 5% dan 0,20 mL PdCl₂ 0,005 N.
- Menambahkan aquades sampai tanda tera.
- Mengukur absorbansi larutan tersebut pada menit ke 60 dan 120 dengan λ maksimal.

Pembuatan kurva baku

- Menyiapkan 6 buah labu ukur 25 mL, dan mengisi masing-masing labu ukur dengan 10 mL aquades dan 1 mL KI 5%.
- Menambahkan larutan PdCl₂ 0,005 N ke dalam labu ukur 1 – 6 dengan volume berturut-turut 0,35 mL, 0,40 mL, 0,45 mL, 0,50 mL, 0,55 mL, 0,60 mL.
- Menambahkan aquades sampai batas, mengocoknya hingga homogen.
- Mengukur absorbansi larutan pada panjang gelombang maksimal.

Penentuan kadar COHb

- Mencuci bagian ceruk conway dengan cairan pembersih, kemudian dengan aquades.
- Mengisi ceruk cawan conway sebagai berikut :

A = 1,5 mL aquades, B = 0,2 mL H₂SO₄ 5N, C = 1,0 mL larutan PdCl₂.

- Menambahkan 0,25 mL darah pada bagian A yang berisi aquades.
- Menutup cawan conway dan menginkubasi selama *operating time*.
- Setelah *operating time* terpenuhi, memipet 0,25 mL larutan PdCl₂, ujung pipet harus menyentuh dasar agar lapisan tipis logam Pd tidak terhisap.
- Menuang isi pipet ke dalam labu ukur 25 mL yang sebelumnya telah diisi 10 mL aquades dan 1 mL KI 5 %.
- Menambahkan aquades sampai tanda tera, kemudian menghomogenkan.

- h. Mengukur absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UVVis pada λ maksimal.
 - i. Menggunakan akuades sebagai blangko.
 - j. Membuat plot absorbansi pada kurva standar untuk mendapatkan konsentrasi COHb
- (Rahayu & Solihat, 2018)

LATIHAN

1. Jelaskan tentang hal-hal yang perlu diperhatikan pada pra analitik, analitik, dan post analitik pada uji kuantitatif sianida metode spektrofotometri pikrat dan piridin barbiturat!
2. Jelaskan tentang cara uji konfirmasi keracunan sianida menggunakan metode kromatografi!
3. Jelaskan tentang kelemahan dan keunggulan analisa kuantitatif COHb metode Hinsberg Lang dan metode Cawan Conway !
4. Jelaskan tentang hal-hal yang perlu diperhatikan pada pra analitik, analitik, dan post analitik di uji kualitatif COHb (uji warna), dan uji kuantitatif COHb (metode Hinsberg Lang dan metode Cawan Conway)!

REFERENSI

- A. & R., 2013. *Bahan Toksik Dalam Makanan*. Pertama ed. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Avais, M. et al., 2011. Modified picrate method for determination of cyanide in blood. *Pakistan Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 24(2), pp. 149-153.
- Amalia, K. R., Sumantri, S. & Ulfah, M., 2008. Perbandingan Metode Spektrofotometri Ultraviolet (UV) Dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Pada Penetapan Kadar Natrium Diklofenak. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, pp. 48-57.
- Anggela, O., Muafidah, A. & Nugraha, D. P., 2012. Validasi Metode Penetapan Kadar Boraks Pada Kerupuk Puli Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(4), pp. 375-381.
- Erawan, M., Karuniasa, M. & Kusnoputranto, H., 2021. *Line Source Dispersion And Spatial Distribution Of Carbon Monoxide Concentration On Daan Mogot Street, Tangerang City, Jabodetabek Metropolitan Area*. s.l., IOP Conference Series: Earth And Environmental Science.
- Hall, J. E. & Guyton, A. C., 2010. *Guyton And Hall Textbook Of Medical Physiology*. 12 ed. Philadelphia: Elsevier.
- Kinoshita, H. et al., 2020. Carbon Monoxide Poisoning. *Toxicol*, Volume 7, pp. 169-173.
- Logue, B. A. & Hinkens, D. M., 2008. *The Analysis Of Cyanide And Its Metabolites In Biological Samples*. South Dakota: Chemistry And Biochemistry Faculty Publication.
- Luque-Almaro, V. M. et al., 2011. Bacterial Cyanide Degradation Is Under Review : *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344, a Case Of An Alkaliphilic Cyanotroph. *Biochemical Society Transactions*, 39(1), pp. 269-274.
- Maehly, A. C., 1962. Analysis Of Carbon Monoxide Poisoning. Method And Results. *Dtsch. Z. Gesamte Gerichtl. Med*, Volume 52, pp. 369-382.
- Moffat, A. C., Widdop, B., Osselton, M. D. & Watts, J., 2011. *Clarke/s Analysis Of Drugs And Poisons In Pharmaceuticals, Body Fluids And Postmortem Material*. 4 ed. s.l.:Pharmaceutical Press.
- Amalia, K. R., Sumantri, S. & Ulfah, M., 2008. Perbandingan Metode Spektrofotometri Ultraviolet (UV) Dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Pada Penetapan Kadar Natrium Diklofenak. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, pp. 48-57.

- Anggela, O., Muafidah, A. & Nugraha, D. P., 2012. Validasi Metode Penetapan Kadar Boraks Pada Kerupuk Puli Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(4), pp. 375-381.
- Erawan, M., Karuniasa, M. & Kusnoputranto, H., 2021. *Line Source Dispersion And Spatial Distribution Of Carbon Monoxide Concentration On Daan Mogot Street, Tangerang City, Jabodetabek Metropolitan Area*. s.l., IOP Conference Series: Earth And Environmental Science.
- Hall, J. E. & Guyton, A. C., 2010. *Guyton And Hall Textbook Of Medical Physiology*. 12 ed. Philadelphia: Elsevier.
- Kinoshita, H. et al., 2020. Carbon Monoxide Poisoning. *Toxicol*, Volume 7, pp. 169-173.
- Pillay, V. V., 2022. *Analytical Toxicology In Modern Medical Toxicology*. 5 ed. s.l.:Jaypee Brother Medical Publisher.
- Rahayu, M. & Solihat, M. F., 2018. *Buku Ajar Teknologi Laboratorium Medis : Toksikologi Klinik*. 1 ed. Jakarta: Badan PPSDM Kemenkes.
- Varma, D. R., Mulay, S. & Chemtob, S., 2015. *Carbon Monoxide : From Public Health Risk To Painless Killer*. s.l.:Elsevier.
- Wilbur, S. et al., 2012. *Toxicological Profile For Carbon Monoxide*. s.l.:ATSDR.

JURNAL PRAKTIKUM

Tanggal Praktikum :

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Kesimpulan :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Narkotika

Menurut Undang-Undang No. 35 tahun 2009 tentang narkotika, yang dimaksud 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. Berdasarkan peraturan terbaru Peraturan Menteri Kesehatan No. 30 tahun 2023 tentang perubahan penggolongan narkotika dibedakan ke dalam golongan-golongan berikut:

1. Narkotika Golongan I

Narkotika Golongan I dilarang digunakan untuk kepentingan pelayanan kesehatan namun dalam jumlah terbatas, Narkotika Golongan I dapat digunakan untuk kepentingan pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi dan untuk reagensia diagnostik, serta reagensia laboratorium setelah mendapatkan persetujuan Menteri atas rekomendasi Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan. Contohnya adalah Tanaman *Papaver Somniferum* L, Tanaman ganja, Kokaina, Tetrahydrocannabinol, Heroina, Amfetamina, Metamfetamina, dan sebagainya

2. Narkotika Golongan II

Narkotika golongan II adalah Narkotika berkhasiat pengobatan digunakan sebagai pilihan terakhir dan dapat digunakan dalam terapi dan/atau untuk tujuan pengembangan ilmu pengetahuan serta mempunyai potensi tinggi mengakibatkan ketergantungan. Pihak yang menyerahkan dan pengguna harus memiliki bukti yang sah dari kepemilikan dan pemberian narkotika tersebut. Contohnya adalah Petidina, Alfentanil, Dekstromoramida, Dihidromorfina, Metadona, dan sebagainya

3. Narkotika Golongan III

Sama seperti halnya golongan II, golongan III juga dapat digunakan dalam pengobatan dengan syarat-syarat yang sama. Golongan ini memiliki resiko ketergantungan lebih kecil daripada golongan di atasnya. Contohnya adalah Kodeina, Dekstropoksifena, Etilmorfina, Propiram, dan sebagainya

Salah satu narkotika yang sering disalahgunakan adalah Ganja/Kanabinoid. Kanabis mengandung campuran bervariasi zat kimia yang disebut kanabinoid. Empat kandungan mayor adalah : Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC), Cannabinol (CBN), Cannabidiol (CBD), Cannabichromene(CBCh). THC adalah kanabinoid yang paling menyebabkan efek psikologik dari produk kanabis sehingga merupakan kandungan yang paling perlu diperhatikan. Absorpsi Δ 9-THC di saluran pencernaan lambat, namun lewat inhalasi, dapat segera dideteksi dalam plasma. Δ 9-THC dioksidasi menjadi metabolitnya yaitu 11-hydroxy- Δ 9-THC dan 8- β hydroxy- Δ 9-THC oleh enzim sitokrom hepatic P450. Metabolit asam mayor, 11-nor- Δ -9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (9-carboxy-THC) diubah menjadi konjugat mono dan diglukoronida yang merupakan bentuk terbanyak yang dikeluarkan dalam urine. Sehingga identifikasi 9-carboxy-THC dalam urine 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 urine dalam 1-3 hari tergantung dari metode pemeriksaan, pada pengguna kronis, metabolit dapat terdeteksi 1 minggu atau lebih (BNN, 2008)

Pemeriksaan NAPZA pada spesimen tubuh manusia meliputi pemeriksaan skrining dan konfirmasi. Urine sering digunakan sebagai pemeriksaan skrining karena bersifat non invasif, mudah, murah dan metabolit suatu obat lebih banyak terdapat pada urine dibandingkan dengan darah. Beberapa spesimen lain yang dapat digunakan seperti darah, saliva, rambut, kuku, dan keringat. Kekurangan penggunaan spesimen urine adalah mudahnya dilakukan pemalsuan spesimen, sehingga dibutuhkan pengawasan saat dilakukan pengambilan sampel. Metode immunoassay yang digunakan pada pemeriksaan urine narkoba memiliki sensitivitas dan presisi yang baik, tetapi dapat terjadi reaksi silang yang menyebabkan hasil positif palsu, sehingga diperlukan kehati-hatian dalam menginterpretasi hasil pemeriksaan.

PEMERIKSAAN MARIJUANA DALAM SAMPEL URINE

A. TEST SKRINING

1. METODE IMUNOKROMATOGRAFI KOMPETITIF

2. PRINSIP :

Test didasarkan pada kompetisi penjenhuan 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-substrat 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 (Solihat dan Rahayu, 2018)

3. ALAT :

- a. Marijuana strip test urine dan leaflet
- b. Stop watch
- c. Pot urine

4. BAHAN :

Urine

5. CARA KERJA :

- a. Pengambilan sampel urine dilakukan sesuai SOP

Untuk mengatasi pemalsuan urine, dapat dilakukan beberapa hal terutama dengan pengawasan saat pengambilan urine dan melakukan mendeteksi penambahan zat-zat manipulatif dalam sampel urine. Berbagai produk rumah tangga digunakan untuk memalsukan spesimen urine seperti garam dapur, cuka rumah tangga, pemutih pakaian, konsentrat jus jeruk, tetes mata dan sebagainya.

Berikut beberapa prosedur yang dapat dilakukan untuk mengurangi kemungkinan pemalsuan pada skrining narkoba pada urine.

1. Melepaskan pakaian luar yang tidak begitu berguna (jaket, syal dan lain-lain)
2. Memindahkan benda/ substansi pada area pengambilan sampel yang dapat

digunakan untuk memalsukan urine (air, sabun cuci tangan)

3. Menaruh disinfektan berwarna biru pada air pembilas yang terdapat dalam area pengambilan sampel
4. Meminta untuk mengeluarkan dan menyimpan barang-barang yang terdapat di saku pasien
5. Menyimpan barang-barang pribadi dengan pakaian luar (tas, ransel)
Menginstruksikan pasien untuk mencuci tangan dan mengeringkannya (lebih baik dengan sabun cuci tangan cair) dengan pengawasan dan tidak mencuci tangan sampai pasien menyerahkan specimen

SOP PEMERIKSAAN NARKOBA DALAM URINE

No	Kegiatan	Kelengkapan
1	Klien mengisi form identitas	Meja, pulpen, form
2	Petugas menanyakan jenis/nama obat yang sedang dikonsumsi oleh klien selama 3 hari terakhir , lalu jawaban dicatat di formulir	Pulpen
3	Petugas menyerahkan pot urine yang telah diberikan Nomor dan nama ke klien	Pot urine, spidol permanen
4	Petugas menjelaskan kepada klien bahwa: -klien harus menitipkan semua barang bawaan kepada petugas dan petugas akan mengeceknya -klien diminta untuk mengisikan urine ke pot urine minimal setengah pot dan tidak boleh dicampur air/zat lainnya -Apabila didapati klien yang menstruasi, maka diinformasikan bahwa sampel urine tetap dapat diambil, dimana klien diminta untuk mengeluarkan cairan menstruasinya, selanjutnya tetap mengisikan sampel urine ke dalam pot urine yang diberikan petugas	Pot urine yang telah dituliskan nomor/ dilabel
5	Petugas mengantar kepada klien untuk menuju kamar mandi yang ditentukan	tutup kran kamar mandi, closet beri pewarna, keluarkan cairan pembersih lainnya
6	Klien masuk ke kamar mandi untuk mengisi urine	
7	Petugas mengawasi klien saat pengambilan sampel urine. Ditunggu di depan kamar mandi, setelah selesai diambil urinenya langsung kasih petugas. Petugas memberikan air untuk membasuh	
8	Peserta kembali ke meja registrasi	
9	Petugas menyiapkan test strip urine dan menuliskan nama	Cek test urine kitnya
10	Petugas mencelupkan test strip urine	

Formulir Pengambilan sampel
Sample Collection Form

Nama : Name	No Botol : Bottle No
No.Identitas : Identity No	Sampel ☐ urine darah Sample ☐ urine blood
Jenis Kelamin: Sex ☐ laki laki ☐ perempuan Male Female	Tanggal : Date
: Age	Waktu : Time
Catatan obat-obatan yang diminum pada 3 (tiga) hari terakhir : <i>Declaration of medicines consumed in the last 3 (three) days :</i>	
Catatan lain (hal-hal yang diperlukan): (Remarks if any)	
Saya menyatakan bahwa saya mengerti untuk pengambilan sampel ini dalam rangka pemeriksaan narkotika, psikotropika dan zat adiktif lainnya(NAPZA)dan harus dilakukan oleh petugas yang berjenis kelamin sama yang telah ditentukan <i>I declare that it I understand, this collection sample for drug abuse testing should be accompanied by the same gender officer</i>	
Nama dan tandatangan Name and signature	
Peserta Klien 	Pengambil (bila ada) accompanying person(if nay)
Petugas officer	

- b. Simpan strip test ke suhu kamar sebelum membukanya. Keluarkan strip test dari wadah tertutup dan digunakan dalam 1 jam.
- c. Celupkan strip test pada spesimen urine setidaknya 10-15 detik. Jangan melewati batas maksimum pada strip uji saat merendam strip. Lihat instruksi di petunjuk di strip test
- d. Tempatkan strip pada permukaan yang datar yang tidak menyerap, mulai hitung

waktu dan tunggu garis berwarna muncul.

- e. Baca hasil setelah 5 menit. Jangan menginterpretasikan hasil setelah 10 menit.

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), pada Control (C) tidak terbentuk pita pink

- f. Tulis hasil pemeriksaan seperti di bawah ini

SURAT KETERANGAN HASIL PEMERIKSAAN NARKOBA

No.XXXX/X/2023

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : X

NIP : X

Jabatan : Dokter rumah sakit X

Menerangkan bahwa pasien yang tertulis di bawah ini :

Nama :

TTL :

No.identitas :

Jenis Kelamin :

Alamat :

Pekerjaan :

No sampel :

Tgl dan jam Sampel diterima :

Tgl dan jam sampel dianalisis :

Telah dilakukan pemeriksaan narkotika, psikotropika dan zat adiktif lainnya(NAPZA pada urine yang bersangkutan dengan hasil sebagai berikut:

NO	Nama obat	Hasil	
		Negatif	Positif
		Negatif	Positif

Kota ,

Dr.X

B. UJI KONFIRMASI

METODE : Kromatografi Lapis Tipis

PRINSIP : Residu hasil hidrolisa yang dilanjutkan dengan ekstraksi yang dielusi dengan pelarut tertentu akan membentuk bercak yang berwarna khas.

ALAT :

1. Plat KLT
2. Chamber
3. Pipetkapiler
4. Botol semprot sprayer
5. Oven
6. Lampu UV

BAHAN :

1. Lapisan tipis Silica Gel G
2. Eluen, dipilih salah satu :
 - a. A : Etil asetat-metanol-amonia-akuades (12 : 5 : 1 : 0.5)
 - b. B : Kloroform-metanol-amonia (70 : 30 : 2)
3. 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.
4. Larutan standar
Larutan 9-carboxy-THC 1 mg/mL dalam metanol

CARA KERJA

1. Persiapan spesimen

- a. Pipet 10 mL urine ke dalam tabung gelas bertutup, tambahkan 2 mL kalium hidroksida 10 N, tutup tabung dan inkubasi pada 50° C selama 20 menit dengan sekali-kali diaduk. Lanjutkan dengan ekstraksi.
- b. setelah didinginkan, pindahkan ke dalam corong pisah, pH diatur sampai 2 menggunakan HCl 2N atau H₂SO₄ 2 N
- c. Tambahkan 15 mL Sikloheksan-etil asetat (7:1) (v/v)
- d. Ekstraksi dengan mengocok selama 10 menit.

- e. Pindahkan lapisan organik, saring melalui natrium sulfat kering ke dalam tapered tube, cuci saringan dengan 5 mL pelarut (sikloheksan-etil asetat)
- f. 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.

2. Pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis

- a. Totolkan 5-10 μ L larutan standart dan hasil ekstraksi pada plat KLT dengan jarak 2 cm, kemudian elusi dalam bejana kromatografi dengan salah satu larutan eluen.
- b. Keluarkan plate dari bejana kromatografi, kemudian plate dikeringkan sebelum disemprot dengan penampak bercak.
- c. Pengeringan dapat dilakukan pada suhu kamar atau dalam oven pada suhu 120°C selama 10 menit atau dengan menggunakan udara panas dari blower.
- d. Plate yang telah dikeringkan disemprot dengan larutan penampak bercak kemudian amati di bawah lampu UV.
- e. Pembacaan hasil :
Bandingkan nilai Rf ekstrak dengan Rf standart

REFERENSI:

BNN& Depkes, 2008, Pedoman Pemeriksaan Laboratorium Narkotika, Psikotropika
Dan Obat Berbahaya

Kementerian Kesehatan, 2023, Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.
30 tahun 2023 tentang perubahan penggolongan narkotika. Jakarta

Republik Indonesia, Undang-Undang No.35 Tahun 2009 Tentang Narkotika. Jakarta

Solihat dan Rahayu, 2018, Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM)
Toksikologi Klinik, Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan,
Kemenkes

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN NARKOTIKA

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

Metode : Imunokromatografi Kompetitif

.....
.....
.....
.....
.....

Metode : Kromatografi Lapis Tipis

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Kesimpulan :

.....
.....
.....
.....
.....
.....

KEGIATAN BELAJAR 2

PEMERIKSAAN PSIKOTROPIKA PADA URINE

Psikotropika

Menurut Undang-Undang No.5 tahun 1997 tentang psikotropika, yang dimaksud 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. Berdasarkan peraturan terbaru Peraturan Menteri Kesehatan No.31 tahun 2023 psikotropika dibedakan ke dalam golongan-golongan berikut:

1. Psikotropika Golongan I

Psikotropika golongan I adalah psikotropika yang hanya dapat digunakan untuk ilmu pengetahuan dan tidak digunakan dalam terapi, serta mempunyai potensi amat kuat mengakibatkan sindroma ketergantungan. Contoh: Deskloroketamin, Flualprazolam, Klonazepam, Fluoreksamin, dan sebagainya

2. Psikotropika Golongan II

Psikotropika golongan II adalah psikotropika yang berkhasiat pengobatan dan banyak digunakan dalam terapi dan/atau untuk tujuan ilmu pengetahuan serta mempunyai potensi kuat mengakibatkan sindroma ketergantungan. Contoh: Amineptina, Sekobarbital, Etilfenidat, Diklazepam, dan sebagainya

3. Psikotropika Golongan III

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, Pentobarbital, Pentazosina, dan sebagainya

4. Psikotropika Golongan IV

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: Oksazepam, Barbital, Diazepam, Fenobarbital dan sebagainya.

Salah satu psikotropika yang disalahgunakan adalah golongan benzodiazepin. Diazepam Diabsorpsi secara cepat dan menyeluruh setelah konsumsi oral dengan puncak kadar

plasma dicapai dalam waktu 30-90 menit. Reaksi Metabolik adalah N-demetilasi, 3 hidroksilasi dan konjugasi asam glukoronat. Metabolit aktif adalah desmetildiazepam serta oxazepam dan tenazepam. Ekskresi terutama dalam bentuk metabolitnya dalam urine. Ekskresinya lambat, 71 % dari dosis terdeteksi di urine, 10 % di feses. Diazepam dan N-desmetildiazepam tetap ada di dalam darah setelah pemberian dosis dalam waktu yang lama

Pemeriksaan NAPZA pada spesimen tubuh manusia meliputi pemeriksaan skrining dan konfirmasi. Urine sering digunakan sebagai pemeriksaan skrining karena bersifat non infasif, mudah, murah dan metabolit suatu obat lebih banyak terdapat pada urine dibandingkan dengan darah. Beberapa spesimen lain yang dapat digunakan seperti darah, saliva, rambut, kuku, dan keringat. Kekurangan penggunaan spesimen urine adalah mudahnya dilakukan pemalsuan spesimen, sehingga dibutuhkan pengawasan saat dilakukan pengambilan sampel. Metode immunoassay yang digunakan pada pemeriksaan urine narkoba memiliki sensitivitas dan presisi yang baik, tetapi dapat terjadi reaksi silang yang menyebabkan hasil positif palsu, sehingga diperlukan kehati-hatian dalam menginterpretasi hasil pemeriksaan

PEMERIKSAAN BENZODIAZEPIN DALAM SAMPEL URINE

A. TEST SKRINING

1. METODE IMUNOKROMATOGRAFI KOMPETITIF

2. PRINSIP :

Test didasarkan pada kompetisi penjenuhan IgG anti-narkoba yang mengandung substrat enzim (ada dalam keadaan bebas di zone S) merupakan “Antibodi Pendeteksi dalam Strip” oleh narkoba sampel/urinee “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-substrat 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 (Solihat dan Rahayu, 2018)

3. ALAT

- a. Benzodiazepin card test urine dan leaflet
- b. Stop watch

4. BAHAN

Urine

5. CARA KERJA

- a. Pengambilan sampel urine dilakukan sesuai SOP

Untuk mengatasi pemalsuan urine, dapat dilakukan beberapa hal terutama dengan pengawasan saat pengambilan urine dan melakukan mendeteksi penambahan zat-zat manipulatif dalam sampel urine. Berbagai produk rumah tangga digunakan untuk memalsukan spesimen urine seperti garam dapur, cuka rumah tangga, pemutih pakaian, konsentrat jus jeruk, tetes mata dan sebagainya.

Berikut beberapa prosedur yang dapat dilakukan untuk mengurangi kemungkinan pemalsuan pada skrining narkoba pada urine.

1. Melepaskan pakaian luar yang tidak begitu berguna (jaket, syal dan lain-lain)
2. Memindahkan benda/ substansi pada area pengambilan sampel yang dapat digunakan untuk memalsukan urine (air, sabun cuci tangan)
3. Menaruh disinfektan berwarna biru pada air pembilas yang terdapat dalam area pengambilan sampel
4. Meminta untuk mengeluarkan dan menyimpan barang-barang yang terdapat di saku pasien
5. Menyimpan barang-barang pribadi dengan pakaian luar (tas, ransel)
Menginstruksikan pasien untuk mencuci tangan dan mengeringkannya (lebih baik dengan sabun cuci tangan cair) dengan pengawasan dan tidak mencuci tangan sampai pasien menyerahkan spesimen.

SOP PEMERIKSAAN NARKOBA DALAM URINE

No	Kegiatan	Kelengkapan
1	Klien mengisi form identitas	Meja, pulpen, form
2	Petugas menanyakan jenis/nama obat yang sedang dikonsumsi oleh klien selama 3 hari terakhir , lalu jawaban dicatat di formulir	Pulpen
3	Petugas menyerahkan pot urine yang telah diberikan Nomor dan nama ke klien	Pot urine, spidol permanen
4	Petugas menjelaskan kepada klien bahwa: -klien harus menitipkan semua barang bawaan kepada petugas dan petugas akan mengeceknya -klien diminta untuk mengisikan urine ke pot urine minimal setengah pot dan tidak boleh dicampur air/zat lainnya -Apabila didapati klien yang menstruasi, maka diinformasikan bahwa sampel urine tetap dapat diambil, dimana klien diminta untuk mengeluarkan cairan menstruasinya, selanjutnya tetap mengisikan sampel urine ke dalam pot urine yang diberikan petugas	Pot urine yang telah dituliskan nomor/ dilabel
5	Petugas mengantar kepada klien untuk menuju kamar mandi yang ditentukan	tutup kran kamar mandi, closet beri pewarna, keluarkan cairan pembersih lainnya
6	Klien masuk ke kamar mandi untuk mengisi urine	
7	Petugas mengawasi klien saat pengambilan sampel urine. Ditunggu di depan kamar mandi, setelah selesai diambil urinenya langsung kasih petugas. Petugas memberikan air untuk membasuh	
8	Peserta kembali ke meja registrasi	
9	Petugas menyiapkan card test urine dan menuliskan nama	Cek test urine kitnya
10	Petugas mencelupkan test strip urine	

Formulir Pengambilan sampel
Sample Collection Form

Nama : Name	No Botol : Bottle No	
No.Identitas : Identity No	Sampel : ☐ urine darah Sample urinee blood	
Jenis Kelamin: Sex ☐ laki laki ☐ perempuan Male Female	Tanggal : Date	
Surat : Age	Waktu : Time	
Catatan obat-obatan yang diminum pada 3 (tiga) hari terakhir : <i>Declaration of medicines consumed in the last 3 (three) days :</i>		
Catatan lain (hal-hal yang diperlukan): (Remarks if any)		
Saya menyatakan bahwa saya mengerti untuk pengambilan sampel ini dalam rangka pemeriksaan narkotika, psikotropika dan zat adiktif lainnya(NAPZA)dan harus dilakukan oleh petugas yang berjenis kelamin sama yang telah ditentukan <i>I declare that it I understand, this collection sample for drug abuse testing should be accompanied by the same gender officer</i>		
Nama dan tandatangan Name and signature		
Peserta Klien	Pengambil (bila ada) accompanying person(if nay)	Petugas officer
.....		

- b. Buka kemasan card test , kemudian ambil urine menggunakan pipet tetes
- c. Teteskan urine ke dalam reagen rapid test sebanyak 3 tetes dalam zona sampel
- d. Hasilnya dibaca setelah 5 menit (maksimum 15 menit)
- e. Tulis hasil pemeriksaan seperti di bawah ini

SURAT KETERANGAN HASIL PEMERIKSAAN NARKOBA

No.XXXX/X/2023

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : X

NIP : X

Jabatan : Dokter rumah sakit X

Menerangkan bahwa pasien yang tertulis di bawah ini :

Nama :

TTL :

No.identitas :

Jenis Kelamin :

Alamat :

Pekerjaan :

No sampel :

Tgl dan jam Sampel diterima :

Tgl dan jam sampel dianalisis :

Telah dilakukan pemeriksaan narkotika, psikotropika dan zat adiktif lainnya (NAPZA pada urine yang bersangkutan dengan hasil sebagai berikut:

NO	Nama obat	Hasil	
		Negatif	Positif
		Negatif	Positif

Kota ,

Dr.X

B. UJI KONFIRMASI

1. METODE : Kromatografi Lapis Tipis

2. 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.

3. ALAT :

- a. Plat KLT GF 254
- b. Chamber
- c. Pipa kapiler
- d. Lampu UV
- e. Oven

4. BAHAN :

- a. Etanol 70%
- b. Campuran aseton : toluene : CHCl₃ = 25 : 40 : 40
- c. 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
- d. Reagen penampak bercak iodoplatinat atau Dragendorf :
 - a) Reagen iodoplatinat:
Larutkan 0,25 g reagen platinat klorida dan 5 g kalium iodide dalam 100 mL akuades, tambahkan 2 mL asam klorida, campur sampai homogen
 - b) Reagen Dragendorf :
Larutan A: Campur 2 g bismuth subnitrat dan 25 mL asam asetat glacial atau pekat dan 100 mL akuades
Larutan B: Larutkan 40 g kalium iodide dalam akuades
Campur 10 mL larutan A dan 10 mL larutan B, tambahkan 20 mL asam asetat glacial dan 100 mL akuades.

5. CARA KERJA

a. Persiapan spesimen

1. Tambahkan 5-20 mL specimen urine 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
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 kedalam 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

b. Pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis

1. Totolkan 3 bercak hasil ekstraksi benzodiazepine pada lempeng kaca KLT yang sama, totolkan 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
2. 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.
3. Bandingkan bercak yang didapat dari ekstrak specimen dengan larutan standar obat yang diketahui
 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
 5. Reaksi positif adalah bercak coklat keungu-unguan (asam iodoplatinat) atau jingga (Dragendorf)
 6. 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.
 7. 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.

REFERENSI:

BNN& Depkes, 2008, Pedoman Pemeriksaan Laboratorium Narkotika, Psikotropika Dan Obat Berbahaya

Kementerian Kesehatan, 2023, Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 31 tahun 2023 tentang perubahan penggolongan psikotropika. Jakarta

Republik Indonesia, 1997, Undang-Undang No.5 Tahun 1997 Tentang Psikotropika. Jakarta

Solihat dan Rahayu, 2018, Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Toksikologi Klinik, Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Kemenkes

JURNAL PRAKTIKUM PEMERIKSAAN PSIKOTROPIKA

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

Metode : Imunokromatografi Kompetitif

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Metode : Kromatografi Lapis Tipis

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Kesimpulan :

.....

.....

.....

.....

ALKOHOL

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% (Amelia Langi, A et al. 2018). 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)

MEKANISME TOKSISITAS ALKOHOL

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, urine, 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 (Ford, 2001).

1. Analisis Keracunan Alkohol

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 (Rahayu dan Solihat, 2018).

Metode Kromatografi gas adalah yang paling populer saat ini. Spesimen yang dipakai adalah 200 μ L 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).

Analisis dapat dilakukan dengan metode enzimatik dan kromatografi gas. Urine yang dianjurkan adalah urine yang dikeluarkan setelah kira-kira 1 jam setelah keluaran urine pertama. Masalah dengan spesimen urine adalah pengambilan spesimen dan interpretasi.

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 (flanagan, 2007).

A. Pemeriksaan Etanol dan Metanol dalam Spesimen Urine

1. Alat dan Bahan

- a. tabung reaksi
- b. Cawan Conway
- c. Pipet Ukur
- d. Pipet Tetes
- e. Penangas air
- f. Kalium bikromat ($K_2Cr_2O_7$)
- g. Asam sulfat (H_2SO_4) pekat
- h. Larutan kalium bikromat ($K_2Cr_2O_7$) 2,5 % dalam asam sulfat (H_2SO_4) 50 %
- i. Asam kromotropat
- j. Etanol

2. Prosedur Kerja

- a. Pembuatan Larutan Dikromat Asam

Kalium dikromat ditimbang sebanyak 0,852 gram dan masukkan kedalam labu ukur 25 mL, kemudian tambahkan aquadest sedikit demi sedikit hingga larut dan cukupkan volumenya hingga 25 mL kemudian masukkan kedalam labu ukur 100 mL lalu tambahkan asam sulfat pekat sedikit demi sedikit hingga tanda batas dan dinginkan.

b. Identifikasi Etanol dalam Spesimen Urine.

Metode Mikrodifusi (WHO, 1995)

Prinsip Kerja : Terbentuknya warna hijau hasil oksidasi antara etanol dalam spesimen urine dengan kalium bikromat dalam suasana asam.

Cara Kerja :

- 1) Dipipet larutan dikromat asam sebanyak 3 mL dan dimasukkan ke bagian tengah cawan conway.
- 2) Pada bagian luar lingkaran cawan conway dipipet sampel urine sebanyak 2 mL.
- 3) Cawan ditutup dengan penutupnya yang telah diberi vaseline,
- 4) Kemudian dipanaskan di waterbath pada suhu 78°C selama 20 menit.
- 5) Bandingkan perubahan warna yang terjadi dengan kontrol positif dan negatif

Interpretasi Hasil positif : Warna kalium bikromat berubah dari kuning menjadi hijau selanjutnya biru.

c. Identifikasi Metanol dalam Spesimen Urine

Cara Kerja :

- 1) Ke dalam 1 mL urine, 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

Interpretasi Hasil positif: Warna ungu pada lapisan pemisah (cincin ungu) menunjukkan adanya metanol.

Catatan : formaldehid akan memberikan reaksi positif pada uji ini

B. Pemeriksaan Etanol dalam Sampel Saliva dengan Saliva Alcohol Test Strip

1. Alat dan Bahan

Strip tes, Pot penampungan saliva, *Package Insert*, Stopwatch, Saliva

2. Prinsip Kerja

Saliva Alcohol Test Strip adalah pengujian kimia berdasarkan reaksi enzimatik yang sensitif terhadap alkohol. Alkohol, jika ada dalam spesimen air liur, bereaksi dengan bahan kimia pada panel reaksi dan menyebabkan perubahan warna. Panel reaksi menggunakan sistem kimia fase padat yang menggunakan reaksi enzim yang sangat spesifik. Jika terkena larutan alkohol, panel reaksi akan berubah warna dengan cepat tergantung pada konsentrasi alkohol yang ada. Perubahan warna ini sebanding dengan konsentrasi alkohol dalam spesimen air liur. Dengan membandingkan dengan blok warna pada bagan warna yang tercetak di kantong, perkiraan konsentrasi alkohol dalam darah (BAC) dapat ditentukan

3. Pengumpulan dan Persiapan Sampel

Spesimen saliva dapat disimpan dalam wadah tertutup pada suhu 15-27°C hingga 4 jam sebelum pengujian. Spesimen dapat didinginkan dan disimpan pada suhu 2-8°C. Jangan membekukan spesimen air liur. Spesimen yang didinginkan harus dibawa ke suhu kamar sebelum pengujian.

4. Prosedur Kerja

Biarkan strip uji, spesimen dan/atau kontrol seimbang pada suhu kamar (15-27°C) sebelum pengujian. Jangan memasukkan apapun ke dalam mulut selama 15 menit sebelum memulai tes. Ini termasuk minuman non-alkohol, produk tembakau, kopi, penyegar napas, makanan, dan lain-lain.

- a. Keluarkan strip tes dari kantong yang tertutup rapat dan gunakan sesegera mungkin setelah mengamati bantalan reaksi di ujung strip tes. Bantalan reaksi harus berwarna krem muda. Jangan gunakan strip tes jika bantalan reaksi berwarna biru sebelum spesimen air liur diaplikasikan atau berubah warna.
- b. Jenuhkan bantalan reaksi dengan air liur dari wadah penampung atau dengan mengoleskan air liur langsung ke bantalan reaksi. Menjenuhkan panel reaksi biasanya memerlukan waktu 6-8 detik. Mulai pengatur waktu segera setelah menjenuhkan panel reaksi dengan air liur.

Catatan: Untuk alasan higienis dan sanitasi, tidak disarankan menempatkan strip

tes di mulut.

- c. Baca hasilnya dalam 2 menit dengan membandingkan secara visual warna bantalan reaksi dengan blok warna terkait yang tercetak pada kantong untuk menentukan konsentrasi relatif alkohol dalam darah. Jangan menafsirkan hasilnya setelah 3 menit.

5. Interpretasi Hasil

NEGATIF

Tidak ada perubahan warna yang muncul pada panel reaksi. Warnanya harus sesuai dengan blok warna pada kantong yang sesuai dengan hasil negatif (-). Hal ini menunjukkan bahwa alkohol belum terdeteksi.

POSITIF:

Perubahan warna muncul di panel reaksi. BAC akan berkisar dari 0,02% hingga 0,30%, dengan warna pada panel reaksi bervariasi dari biru muda hingga biru tua, berada pada atau di antara blok warna yang sesuai pada kantong.

CATATAN:

Strip tes sangat sensitif terhadap keberadaan alkohol. Warna biru yang lebih terang dari pada warna 0,02% harus ditafsirkan sebagai positif alkohol dalam air liur tetapi konsentrasi alkoholnya kurang dari 0,02% dalam darah.

INVALID:

Tepi luar panel reaksi menghasilkan sedikit warna namun sebagian besar panel reaksi tetap tidak berwarna. Ulangi pengujian dengan strip tes baru, pastikan bantalan reaksi benar-benar jenuh dengan air liur. Jika masalah terus berlanjut, segera hentikan penggunaan produk tersebut dan hubungi distributor setempat Anda.

E. Latihan

Kerjakanlah soal Latihan berikut!

1. Apakah tujuan pemanasan pada pemeriksaan etanol dalam specimen urine dengan metode mikrodifusi !
2. Mengapa menggunakan cawan conway pada pemeriksaan etanol dalam specimen Urine !
3. Apakah fungsi penambahan asam kromotropat pada pemeriksaan methanol dalam specimen urine !

REFERENSI

- Atlas Medical. 2010. Saliva Alcohol Test Strip. William James House. Cambridge
- Amelia, Langi., Sambiran, S., Kimbal, M. 2018. Implementasi Kebijakan Pengawasan Perdagangan Minuman Beralkohol di Kecamatan Sario Kota Manado. Jurnal Jurusan Ilmu Pemerintahan. Jurnal Jurusan Ilmu Pemerintahan. 1(1).
- BPOM. 2016. Standar Keamanan dan Mutu Minuman Beralkohol. Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 14.
- Ford, M.D., Delaney, K.A., Ling, L.J., Erickson,T., (2001). Ford: Clinical Toxicology, 1st ed., 2001. W. B. Saunders Company.
- Flanagan, Robert J., Taylor, Andrew., Watson, Ian D., Whelpton, Robin. 2007. *Fundamental of Analytical Toxicology*. John Wiley & Sons.
- Rahayu, M., Solihat, F. 2018. *Toksikologi Klinik*. Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Kemenkes RI
- WHO. 1995. *Basic analytical toxicology*. International Programme On Chemical Safety

JURNAL PRAKTIKUM

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

a) Identifikasi Etanol dalam Urine

No.	Sampel	Mikrodifusi	Hasil
1	Kontrol Negatif		
2	Sampel A		
3	Sampel B		
4	Sampel C		
5	Sampel D		
6	Sampel E		
7	Sampel F		

b) Identifikasi Metanol dalam Urine

No.	Sampel	Asam Kromatopat	Hasil
1	Kontrol Negatif		
2	Sampel A		
3	Sampel B		
4	Sampel C		
5	Sampel D		
6	Sampel E		
7	Sampel F		

Kesimpulan

.....

.....

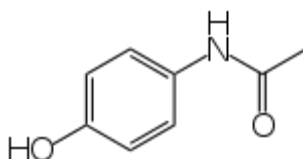
.....

MODUL 6 TOKSISITAS OBAT

KEGIATAN BELAJAR 1 PARASETAMOL

Parasetamol adalah N-asetil-p-aminofenol ($C_8H_9NO_2$) massa molekul relatif 151 (asetaminofen) telah ditemukan 100 tahun yang lalu, tetapi penggunaannya sebagai obat bebas dimulai pada tahun 1960-an dan sekarang menjadi obat bebas yang paling sering digunakan. Overdosis parasetamol adalah cara umum untuk meracuni diri sendiri di seluruh dunia karena ketersediaan dan aksesibilitasnya yang luas. Tersedia secara luas sebagai obat komponen tunggal dan juga sebagai komponen dari sejumlah besar kombinasi obat bebas dan resep. Meskipun aman bila digunakan dengan benar, keracunan parasetamol adalah salah satu overdosis yang lebih umum dilaporkan. Parasetamol, juga dikenal sebagai asetaminofen, obat yang digunakan untuk mengobati demam dan nyeri ringan hingga sedang (Ayoub, 2021).

Parasetamol dapat meredakan nyeri pada migrain ringan akut tetapi hanya sedikit pada sakit kepala tegang episodik. Namun, kombinasi aspirin/parasetamol/kafein membantu kedua kondisi di mana rasa sakitnya ringan dan direkomendasikan sebagai pengobatan lini pertama (Haag G, 2011). Struktur kimia parasetamol seperti Gambar 6.1 berikut:



Gambar 2. Struktur Kimia Parasetamol

Penyajian Materi

1. Mekanisme Toksisitas Parasetamol

Parasetamol cepat diserap dari usus kecil. Konsentrasi serum puncaknya terjadi dalam 1-2 jam untuk tablet standar atau bentuk kapsul. 20% dari dosis yang dikonsumsi mengalami metabolisme lintas pertama di dinding usus (sulfasi), sedangkan sisanya

mengalami biotransformasi hati. Mekanisme hepatotoksisitas akibat parasetamol dapat dijelaskan sebagai berikut:

- a. 5% parasetamol yang tertelan diubah oleh oksidase fungsi campuran di hepatosit menjadi metabolit reaktif, N asetil p benzoquinonimine.
- b. Dalam dosis terapeutik, metabolit reaktif ini dikonjugasikan dengan glutathione dan produk sampingnya, asam merkapturat dan sistein diekskresikan melalui urin.
- c. Dalam kasus overdosis parasetamol, kelebihan jumlah metabolit reaktif terakumulasi, sedangkan simpanan glutathione berkurang.
- d. Toksisitas hati terjadi jika simpanan glutathione turun hingga sekitar 30% dari jumlah normalnya.
- e. Akumulasi metabolit reaktif membentuk ikatan kovalen dengan gugus SH di hepatosit, mengakibatkan nekrosis hati
(Nambiar N.J. 2012).

2. Efek Klinis dan Gejala Keracunan Parasetamol

Selama beberapa jam pertama pasien mungkin relatif asimtomatik; tetapi riwayat klinis berkembang selama 24 jam dan gejala gastrointestinal seperti mual, sakit perut dan muntah mendominasi. Pada tahap kedua (12 hingga 48 jam setelah posting) ketidaknyamanan gastrointestinal dapat teratasi, tetapi hepatotoksisitas subklinis berkembang dan mulai muncul dengan sendirinya. Nyeri perut dapat muncul kembali dan pasien mungkin mengeluh nyeri tekan kuadran kanan atas. Nilai laboratorium mulai menunjukkan bukti hepatotoksisitas—tes fungsi hati seperti aspartat (AST) dan alanin transaminase (ALT) meningkat secara dramatis, ada juga peningkatan rasio normalisasi internasional (INR), yang mencerminkan tingkat keparahan patologi yang mendasarinya. Selama bagian akhir dari tahap 2, AST dan ALT mendekati nilai puncak. Pada stadium 3 (48 hingga 96 jam), saat cedera hati semakin cepat, tanda-tanda gagal hati berikut menjadi sangat jelas: perdarahan, ensefalopati, ikterus, asidosis, gagal ginjal. Jika pasien selamat dari serangan patofisiologis tahap 3, mereka akan maju ke tahap akhir, yaitu pemulihan (Gaffar dan Tadvi, 2014).

3. Analisis Keracunan Parasetamol

Parasetamol adalah analgesik yang banyak digunakan dan biasanya dikombinasi dengan obat lain seperti dekstropropoksifen. Parasetamol adalah metabolit phenacetin

dan benorilate, dan sebagian besar dimetabolisme oleh konjugasi dengan asam glukuronat dan sulfat sebelum ekskresi urin.

Hidrolisis konjugat glukuronat dan sulfat dengan asam klorida pekat menghasilkan p-aminofenol, yang dapat dikonjugasi dengan o-cresol untuk membentuk zat warna yang kuat, sehingga memberikan uji kualitatif yang sensitif. Pengendapan protein dengan asam trikloroasetat dan perlakuan selanjutnya dengan asam nitrat dan pengukuran spektrofotometri dari turunan nitration memberikan uji selektif untuk parasetamol dalam plasma.

Praktikum Identifikasi Parasetamol dalam Spesimen Urin

1. Alat dan Bahan

- b. Pipet
- c. Tabung reaksi
- d. Pereaksi o-Cressol (Jenuhkan pereaksi o-Cressol)

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

- e. Ammonium Hidroksida 2 mol/L (2M)
- f. HCl 36%
- g. Standar urin
- h. Penggunaan urin specimen pasien yang telah mengkonsumsi Parasetamol 1 gram dalam waktu 24 jam

2. Prosedur Kerja Metode O-Cressol (Levine B, 2000).

a. Prinsip

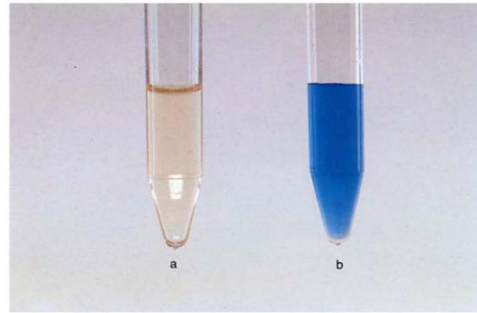
Parasetamol dan metabolitnya dihidrolisa dalam suasana asam menjadi *para*-Aminophenol, dengan asam cresol membentuk senyawa berwarna biru terang

b. Prosedur 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

c. Interpretasi Hasil

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



Gambar 3. Uji kualitatif parasetamol dan uji o-kresol (a) blanko, dan (b) hasil positif

Latihan

Kerjakanlah soal Latihan berikut!

1. Mengapa pada uji kualitatif parasetamol dengan o-kresol terjadi perubahan warna menjadi biru jika hasil positif ?
2. Apakah yang dimaksud dengan penjenuhan larutan o-cresol sebelum digunakan
3. Apakah parasetamol akan tetap ditemukan di urin setelah pemakaian lebih dari 24 jam ?

REFERENSI

- Ayoub, Samir S. (2021). Paracetamol (Acetaminophen) : A Familiar Drug with an Unexplained Mechanism of Action. *Temperatur Jurnal*. 8(4).
- Gaffar dan Tadv, (2014). Paracetamol Toxicity : A review. *Journal of Contemporary Medicine and Dentistry*. 2(3) : 12-15.
- Haag G, Diener HC, May A, Meyer C, Morck H, Straube A, et al. (2011). "Self-medication of migraine and tension-type headache: summary of the evidence-based recommendations of the Deutsche Migräne und Kopfschmerzgesellschaft (DMKG), the Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN), the Österreichische Kopfschmerzgesellschaft (ÖKSG) and the Schweizerische Kopfweggesellschaft (SKG)". *J Headache Pain*. **12** (2): 201–217.
- Levine, B. (2000). *Encyclopedia of Forensic Sciences*. Third Edition
- Nambiar, N.J. (2012). Manajemen of Paracetamol Poisoning: The Old and The New. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 6(6): 1101-1104

JURNAL PRAKTIKUM

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

No.	Sampel	Pereaksi		Hasil
		HCl	O-Cressol 1%	
1	Kontrol Negatif			
2	Sampel A			
3	Sampel B			
4	Sampel C			
5	Sampel D			
6	Sampel E			
7	Sampel F			

Kesimpulan

.....

.....

.....

.....

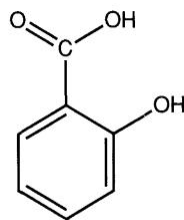
.....

.....

KEGIATAN BELAJAR 2

ASAM SALISILAT

Penggunaan salisilat sebagai agen terapi sudah ada sejak lebih dari 3500 tahun yang lalu. Asam salisilat digunakan agar sayuran dan buah-buahan tetap segar. Asam salisilat (SA), suatu pengatur pertumbuhan tanaman endogen, telah ditemukan menghasilkan berbagai respon metabolik dan fisiologis pada tanaman sehingga mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangannya. Asam salisilat sebagai senyawa fenolik yang alami dan aman mempunyai potensi yang tinggi dalam mengendalikan hama pasca panen tanaman hortikultura (Asghari dan Aghdam, 2010). Asam salisilat memiliki rumus kimia Asam 2-hidroksibenzoat; $C_7H_6O_3$ dengan massa molekul relatif, 138.



Gambar 4. Struktur Kimia Asam Salisilat

Salisilat mewakili sekelompok senyawa yang merupakan turunan dari asam salisilat di mana ester atau garam ditambahkan untuk mengubah sifat-sifatnya agar zat tersebut cocok untuk penggunaan terapeutik. Asam salisilat mengiritasi selaput lendir dan hanya digunakan secara topikal. Meskipun aspirin (asam asetil salisilat) adalah salisilat yang paling umum digunakan, karena salisilat digunakan untuk banyak penyakit sehari-hari seperti demam, peradangan, dan nyeri dan untuk profilaksis kardiovaskular. Produk dermal digunakan untuk menghilangkan nyeri dan nyeri lokal pada otot dan sendi. Asam salisilat digunakan secara topikal untuk mengobati berbagai gangguan dermatologis. Ini adalah metabolit plasma utama asam asetil salisilat dan juga dapat timbul dari metabolisme metil salisilat dan salisilamida. Asam salisilat diekskresikan dalam urin, sebagian besar sebagai konjugat dengan glisin (asam salisilat) (Chyka et al, 2007).

A. Penyajian Materi

1. Mekanisme Toksisitas Asam Salisilat

Aspirin mudah diserap dari saluran pencernaan baik sebagai aspirin maupun salisilat, dengan konsentrasi serum puncak dosis terapeutik biasanya dicapai dalam 1 jam. Tablet salut menunjukkan tingkat absorpsi yang bervariasi dengan konsentrasi serum puncak yang dicapai dalam 4-6 jam setelah dosis terapeutik, tetapi timbulnya efek sistemik dapat tertunda hingga 8-12 jam. Formulasi dermal dari beberapa salisilat, seperti krim metil salisilat 15%, dapat menunjukkan bioavailabilitas yang kurang ketika diterapkan pada permukaan kulit dibandingkan dengan konsumsi oral. Karena aspirin mudah dihidrolisis menjadi salisilat di saluran pencernaan dan aliran darah (serum aspirin waktu paruh adalah 15 menit), salisilat pada prinsipnya bertanggung jawab atas efek toksik sistemik. Laju penurunan konsentrasi salisilat akan melambat seiring dengan meningkatnya jumlah salisilat dalam tubuh. Dua jalur metabolisme utama biotransformasi menyebabkan akumulasi dan eliminasi lebih lambat karena salisilat dalam tubuh meningkat. Orang dewasa yang sehat mulai menunjukkan kinetika saturasi dengan dosis aspirin akut 1-2 g. Ekskresi yang tergantung dosis dan berkepanjangan ini meningkatkan risiko toksisitas serius pada seseorang. Waktu paruh serum salisilat biasanya 2-4 jam pada dosis rendah, kira-kira 12 jam dengan dosis antiinflamasi, dan dapat diperpanjang hingga 15-30 jam atau lebih setelah overdosis. Sekitar 2–30% salisilat diekskresikan tidak berubah dalam urin, dengan ekskresi yang lebih sedikit terjadi pada urin asam atau pada pasien dengan disfungsi ginjal (Miles, 2007).

2. Sampel Biologis Pemeriksaan Asam Salisilat

Ekskresi asam salisilat melalui ginjal sebesar 5,6% sampai 35,6%. Terdapat korelasi positif antara pH urin dengan klirens asam salisilat, dimana alkalinisasi (peningkatan pH urin) akan meningkatkan klirens asam salisilat yang selanjutnya meningkatkan ekskresi asam salisilat melalui urin. Akibatnya waktu paruh asam salisilat dapat diperpanjang oleh pH urin yang rendah (asam) dan pada fungsi ginjal yang terganggu. Selain itu pada urin asam salisilat berada dalam bentuk tidak terion sehingga direabsorpsi kembali sehingga menyebabkan konsentrasi salisilat dalam darah lebih tinggi. Oleh karena itu dinyatakan bahwa ekskresi salisilat selain dipengaruhi filtrasi glomeruler juga dipengaruhi oleh reabsorpsi dalam tubulus (Miladiyah, I. 2012).

Salisilat diekskresi ke dalam urin melalui proses filtrasi glomeruler dan sekresi aktif tubulus. Ekskresi salisilat dalam urin adalah dalam bentuk asam salisilat bebas (10%), asam salisilat (75%), fenolat salisilat (10%), asilglukoronat (5%), dan asam gentisat (1%). Dalam cairan tubuh lain, ekskresi asam salisilat bervariasi. Ekskresi asam salisilat dalam ASI dianggap tidak aman sehingga tidak disarankan bagi ibu menyusui. Ekskresi asam salisilat dan konsentrasinya dalam air mata bervariasi antara 1% sampai 8% daripada konsentrasi asam salisilat plasma sebagai antiinflamasi (Miladiyah, I. 2012)

3. Analisis Keracunan Asam Salisilat

Berlaku untuk specimen biologis untuk urin dan isi perut. Reagen Yang dapat digunakan dalam pemeriksaan ini yaitu reagen Trinder. Cara pembuatan reagen ini yaitu dengan mencampurkan 40 g merkuri klorida yang dilarutkan dalam 850 ml air murni dengan 120 ml asam klorida encer (1 mol/l) dan 40 g ferri nitrat terhidrasi, dan encerkan hingga 1 liter dengan air murni. Metode ini akan menghasilkan warna ungu yang kuat menunjukkan adanya salisilat dalam suasana asam. Pengawet azida dapat terbaca dalam tes ini, dan hasil positif palsu yang lemah dapat diberikan oleh specimen urin yang mengandung keton (badan keton) konsentrasi tinggi. Tes ini sensitif dan akan mendeteksi dosis terapeutik dengan asam salisilat, asam asetilsalisilat, asam 4-aminosalisilat, metil salisilat dan salisilamida dengan kepekaan salisilat, 10 mg/l (WHO, 1995)

B. Praktikum Identifikasi Asam Salisilat dalam Urin

1. Alat dan Bahan

- a. Pipet Tetes
- b. Tabung reaksi
- c. Larutan FeCl_3
- d. kertas saring

e. 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

- f. Asam Hidroklorida 0,1M
- g. Natrium Hidroksida 0,1M

2. Prosedur Kerja

a. Metode Ferri Chlorida

1) Prinsip

Pembentukan senyawa berwarna ungu antara FeCl_3 dengan Asam Salisilat

2) Cara Kerja

Spesimen Urin

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

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 FeCl_3 5%

Interpretasi Hasil

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

b. Metode Trinder

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

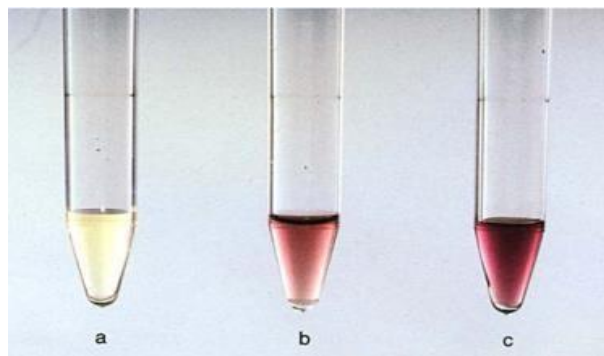
3) Spesimen cairan lambung

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

Interpretasi Hasil

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



Gambar 5. Uji Kualitatif salisilat (Trinder test)

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

E. Latihan

Kerjakanlah soal Latihan berikut!

1. Mengapa pada uji kualitatif asam salisilat dengan FeCl_3 jika positif akan terbentuk warna ungu ?
2. Mengapa pada uji kualitatif asam salisilat dengan reagen Trinder jika positif akan terbentuk warna ungu
3. Jelaskan prinsip pemeriksaan asam salisilat dengan reagen trinder ?

REFERENSI

- Asghari M, Aghdam, M.S. (2010). Impact of Salicylic Acid on Post-Harvest Physiology of Horticultural Crops. *Trends in Food Sciences & Technology*. 21(2010) : 502-509.
- Chyka, P.A. (2007)). Salicylate Poisoning : An Evidence-Based Consensus Guideline for Out-of-Hospital Management. *Journal Clinical Toxicology* . 45 : 95-131.
- Miles, Sarah (2007). *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* || *Aspirin*. 1–6. doi:10.1016/B978-008055232-3.61256-5.
- Miladiyah, I. (2012). Therapeutic Drug Monitoring (TDM) in The Use of Aspirin as Antirheumatoid Drugs. *Jurnal Unnisula*. 4(2).
- WHO. (1995). *Basic Analytical Toxicology*, Geneva.

JURNAL PRAKTIKUM

Tanggal Praktikum :

Identitas Sampel :

Hasil Pengamatan :

a. Metode Ferri Chlorida

No.	Sampel	Perlakuan	Pereaksi	Hasil
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				

b. Metode Trinder

No.	Sampel	Perlakuan	Pereaksi	Hasil
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				

c. Kesimpulan

.....
.....
.....

LAMPIRAN

LAMPIRAN MODUL 5 NAPZA KEGIATAN BELAJAR 1 NARKOTIKA

Instrumen penilaian unit kompetensi Skrining Narkotika yang dinilai :

NO	Aspek Yang dinilai	Bobot	dilakukan		
			Dengan benar	Tidak dengan benar	Tidak dilakukan
1	Sampling dan Komunikasi (Pre analitik)	40			
	a. Mengecek identitas pasien (cek KTP)	5	5	2,5	0
	b. Menanyakan jenis/nama obat yang sedang dikonsumsi oleh klien selama 3 hari terakhir, lalu jawaban dicatat di formulir	5	5	2,5	0
	c. Memberikan informasi terkait sampling urine yang tepat kepada pasien	5	5	2,5	0
	d. Memberi label pot urine	10	10	5	0
	e. Memeriksa barang bawaan dengan tepat	5	5	2,5	0
	f. Menyiapkan toilet dengan tepat (kran tertutup, mengeluarkan bahan-bahan yang berpotensi pemalsuan urine) dan memberikan pewarna di closet	5	5	2,5	0

	g. Mengantar dan mengawasi klien ke kamar mandi	5	5	2,5	0
2	Pemeriksaan (Analitik)	40			
	a. Mengecek tanggal kadaluarsa kit	5	5	2,5	0
	b. Melakukan cara kerja pemeriksaan dengan tepat	10	10	5	0
	c. Melakukan pemeriksaan dengan tepat	10	10	5	0
	d. Interpretasi hasil dengan tepat	5	5	2,5	0
	e. Penanganan limbah	10	10	5	0
3	Laporan Hasil (Post Analitik)	20	20	10	0

Instrumen penilaian unit kompetensi konfirmasi Narkotika yang dinilai :

No.	Unit Kompetensi	Bobot	dilakukan		
			Dengan benar	Tidak dengan benar	Tidak dilakukan
1	Memberi label pada sampel	10	10	5	0
2	Memipet sampel dengan tepat	10	10	5	0
3	Menyiapkan eluen dengan tepat	10	10	5	0
4	Mengekstraksi sampel dengan tepat	10	10	5	0
5	Menotolkan sampel dan standar di plat KLT serta mengelusikan dengan tepat	15	15	10	0
6	Menghitung nilai Rf dengan benar	15	15	10	0
7	Mengintepretasikan hasil dengan tepat	20	20	10	0
8	Penanganan limbah	10	10	5	0

LAMPIRAN MODUL 5 NAPZA KEGIATAN BELAJAR 2 PSIKOTROPIKA

Instrumen penilaian unit kompetensi Skrining Psikotropika yang dinilai :

NO	Aspek Yang dinilai	Bobot	dilakukan		
			Dengan benar	Tidak dengan benar	Tidak dilakukan
1	Sampling dan Komunikasi (Pre analitik)	40			
	a. Mengecek identitas pasien (cek KTP)	5	5	2,5	0
	b. Menanyakan jenis/nama obat yang sedang dikonsumsi oleh klien selama 3 hari terakhir, lalu jawaban dicatat di formulir	5	5	2,5	0
	c. Memberikan informasi terkait sampling urine yang tepat kepada pasien	5	5	2,5	0
	d. Memberi label pot urine	10	10	5	0
	e. Memeriksa barang bawaan dengan tepat	5	5	2,5	0
	f. Menyiapkan toilet dengan tepat (kran tertutup, mengeluarkan bahan-bahan yang berpotensi pemalsuan urine) dan memberikan pewarna di closet	5	5	2,5	0
	g. Mengantar dan mengawasi klien ke kamar mandi	5	5	2,5	0

2	Pemeriksaan (Analitik)	40			
	a. Mengecek tanggal kadaluarsa kit	5	5	2,5	0
	b. Melakukan cara kerja pemeriksaan dengan tepat	10	10	5	0
	c. Melakukan pemeriksaan dengan tepat	10	10	5	0
	d. Interpretasi hasil dengan tepat	5	5	2,5	0
	e. Penanganan limbah	10	10	5	0
3	Laporan Hasil (Post Analitik)	20	20	10	0

Instrumen penilaian unit kompetensi konfirmasi Psikotropika yang dinilai :

No.	Unit Kompetensi	Bobot	dilakukan		
			Dengan benar	Tidak dengan benar	Tidak dilakukan
1	Memberi label pada sampel	10	10	5	0
2	Memipet sampel dengan tepat	10	10	5	0
3	Menyiapkan eluen dengan tepat	10	10	5	0
4	Mengekstraksi sampel dengan tepat	10	10	5	0
5	Menotolkan sampel dan standar di plat KLT serta mengelusikan dengan tepat	15	15	10	0
6	Menghitung nilai Rf dengan benar	15	15	10	0
7	Mengintepretasikan hasil dengan tepat	20	20	10	0
8	Penanganan limbah	10	10	5	0

BIODATA PENULIS



Dra. Anny Thuraidah, Apt., MS. lahir di Surabaya, 10 Nopember 1962. Jenjang pendidikan penulis meliputi S1 Farmasi dan Profesi Apoteker dari Universitas Airlangga Surabaya, dan S2 PSDAL Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Banjarmasin

Email : thuraidahapt@gmail.com



Nur Qadri Rasyid, S.Si, M.Si lahir di Sungguminasa pada tanggal 28 Februari 1988. Penulis menyelesaikan pendidikan sarjana pada Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Makassar tahun 2011. Penulis menyelesaikan pendidikan magister pada Program Studi Kimia, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor tahun 2013 melalui program Beasiswa Unggulan (BU). Penulis bekerja sebagai tenaga pengajar di Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Muhammadiyah Makassar sejak 2015-sekarang.

Email : nqadrir@gmail.com



Safridha Kemala Putri, S.Si, M.Si lahir di Langsa, 25 Januari 2024. Jenjang pendidikan penulis meliputi S1 Kimia di Universitas Syiah Kuala, dan S2 Kimia di Universitas Sumatera Utara. Saat ini penulis merupakan pengajar di Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Aceh

Email : safriidhakemalaputri@gmail.com



Dra. Warsinah, M.Si. lahir di Jambi (Bajubang), 6 Mei 1966. Memperoleh gelar Sarjana Pendidikan Kimia pada tahun 1990 dari Program studi MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sriwijaya Palembang. Tahun 2015 menyelesaikan pendidikan magister melalui jalur beasiswa Dosen BPPDN pada Program Pasca Sarjana UNSRI Program Studi Ilmu Lingkungan . Mengabdikan diri sebagai Dosen di perguruan tinggi dimulai pada tahun 2006 hingga sekarang di program studi D-III Analis Kesehatan STIKESMAS Abdi Nusa Palembang. Mata kuliah yang diampu oleh penulis adalah Toksikologi Klinik, Biokimia, Kimia Makanan Minuman, Instrumentasi dan Kimia Analitik

Email: warsinahjumani@gmail.com



Catu Umirestu Nurdiani, SKM, MKM lahir di Jakarta, 15 Februari 1983. Jenjang pendidikan penulis meliputi S1 Kesehatan Masyarakat di STIKes Mohammad Husni Thamrin Jakarta, dan S2 Kesehatan Masyarakat di Universitas Indonesia. Saat ini penulis merupakan pengajar di Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mohammad Husni Thamrin Jakarta

Email : umirestucatu@gmail.com



Siti Fatimah, S.Si, M.Sc., Apt lahir di Sleman, 5 September 1977. Jenjang pendidikan penulis meliputi S1 Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Profesi Apoteker Universitas Gadjah Mada dan S2 Farmasi di Universitas Gadjah Mada

Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medik STIKES Guna Bangsa Yogyakarta

Email : siti.fatimah.gunabangsa@gmail.com



Ayu Puspitasari, ST, M.Si lahir di Madiun, pada 25 Maret 1980. Ia memperoleh gelar Sarjana Teknik dari Jurusan Teknik Kimia ITS pada 2002, dan M.Si dari Jurusan Kimia (Bidang Ilmu Biokimia) ITB pada 2012. Penulis adalah dosen di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Kemenkes Poltekkes Surabaya sejak 2005 hingga saat ini. Mata kuliah yang diampu oleh penulis adalah Toksikologi Klinik, Biokimia, Biologi Molekuler, dan Kimia Pangan.

Email : ayupuspitasari25@poltekkesdepkes-sby.ac.id



Dr. Ummy Mardiana Ramdan, M.Si lahir di Bekasi, 5 Februari 1975. Penulis menyelesaikan jenjang pendidikan sarjana S1 Kimia Universitas Padjadjaran Bandung pada tahun 1998, S2 Kimia ITB Bandung tahun 2004 dan menyelesaikan S3 Kimia Program Double Degree ITB-Universite Montpellier Prancis tahun 2016, Saat ini penulis merupakan pengajar di D3 Teknologi Laboratorium Medis Universitas Bakti Tunas Husada – Tasikmalaya sejak tahun 1999 – sekarang.

Email: ummymardiana@universitas-bth.ac.id