

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

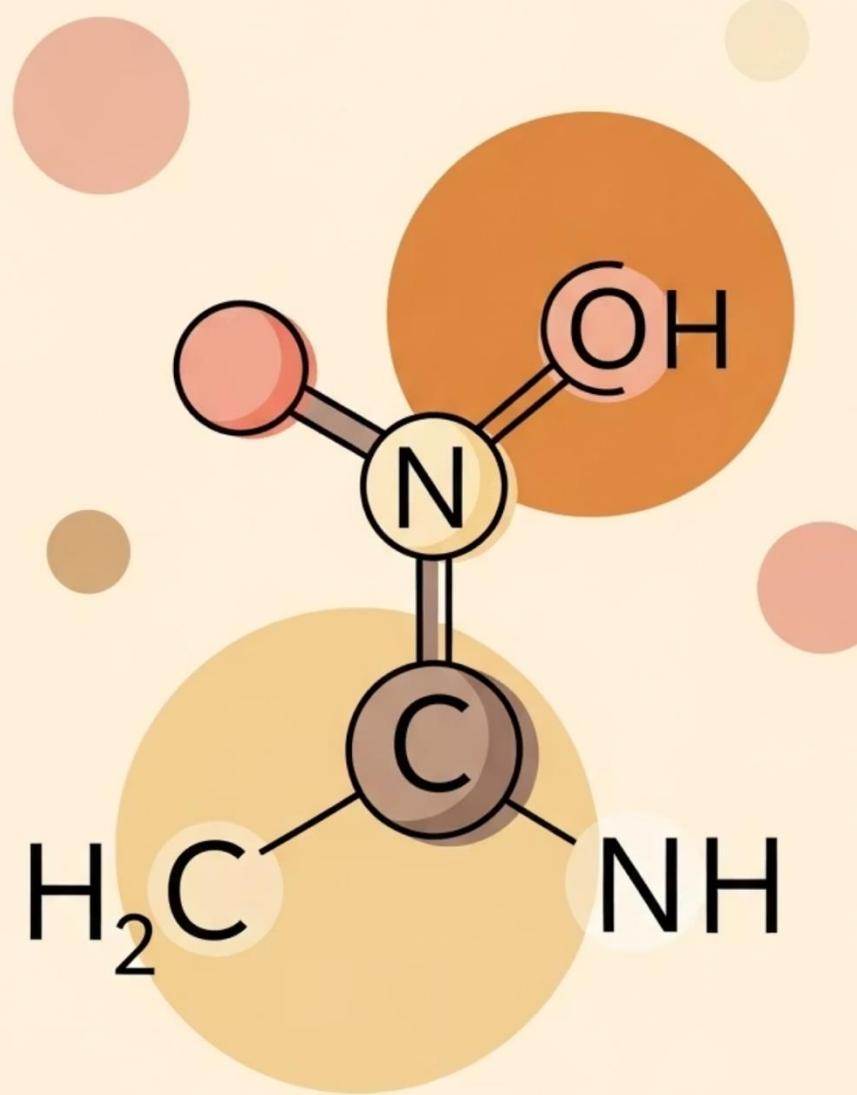
ANALISIS SIANIDA DALAM SAMPEL BIOLOGIS

AYU PUSPITASARI, ST, M.Si

Disampaikan dalam acara Bedah Modul Toksikologi Klinik oleh AIPTLMI



Cyanide ion



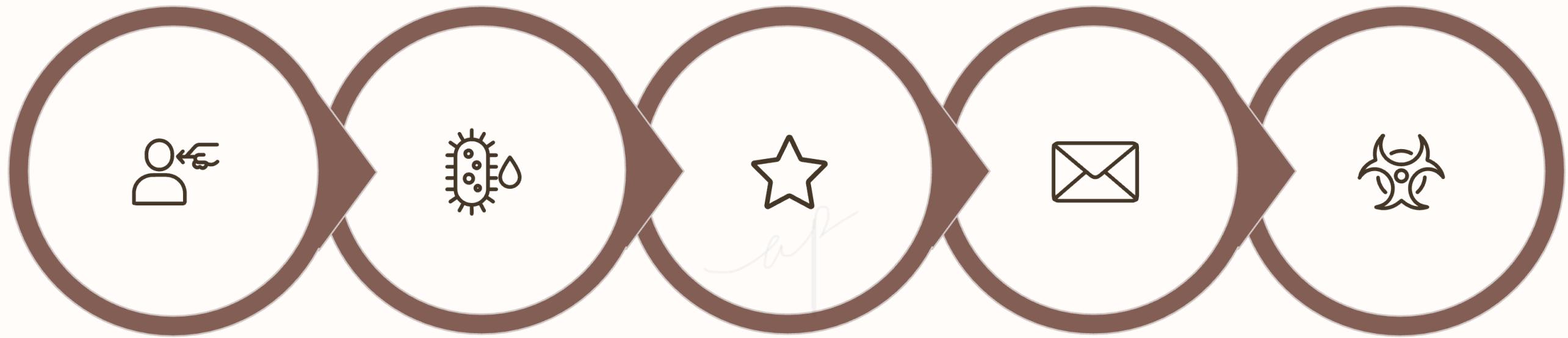
Definisi

Sianida (CN^-) adalah senyawa anion poliatomik yang sangat beracun bagi makhluk hidup. Dalam bentuk ion, sianida sangat reaktif karena kemampuannya berikatan dengan ion logam seperti besi, kobalt, dan tembaga.

Sifat Kimia

Ion sianida membentuk ikatan kovalen dengan atom karbon dalam molekul organik, yang seringkali mengganggu proses respirasi selular. Bentuk paling toksik adalah sianida bebas (CN^-), sedangkan kompleks sianida bersifat kurang toksik.

Mekanisme Toksisitas Sianida



Penyerapan

Distribusi

Inhibisi
Cytochrome
Oxidase

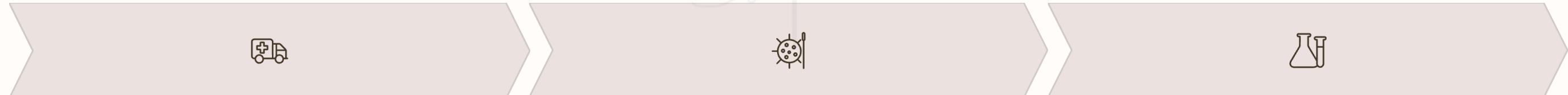
Gangguan
Rantai
Elektron

Asidosis &
Hipoksia
Jaringan

Sianida menghambat kemampuan sel untuk menggunakan oksigen selama proses respirasi. Sianida menginhibisi kerja enzim sitokrom oksidase di dalam mitokondria sel yang penting untuk rantai transpor elektron, mengakibatkan akumulasi asam laktat dan terjadi asidosis metabolik yang berbahaya.

Diagnosis Toksikasi Sianida

Diagnosis toksikasi sianida didasarkan pada pemantauan gejala klinis dan riwayat paparan pada pasien. Diagnosis ditegakkan dengan pemeriksaan klinis pada sampel biologis pasien dan pemeriksaan pada terduga bahan penyebab keracunan sianida (sampel non biologis).



Riwayat Paparan

Identifikasi sumber dan jalur paparan sianida

Gejala Klinis

Evaluasi tanda dan gejala keracunan sianida

Analisis Laboratorium

Pemeriksaan sampel biologis dan non biologis

Tantangan Analisis Sianida

Waktu Paruh Singkat

Waktu paruh sianida dalam tubuh manusia cukup singkat yaitu 0,34 – 1 jam, sehingga apabila tubuh sudah lama terpapar sianida, maka akan sulit untuk menganalisa kadarnya pada sampel biologis.

Variasi Enzim Rhodanese

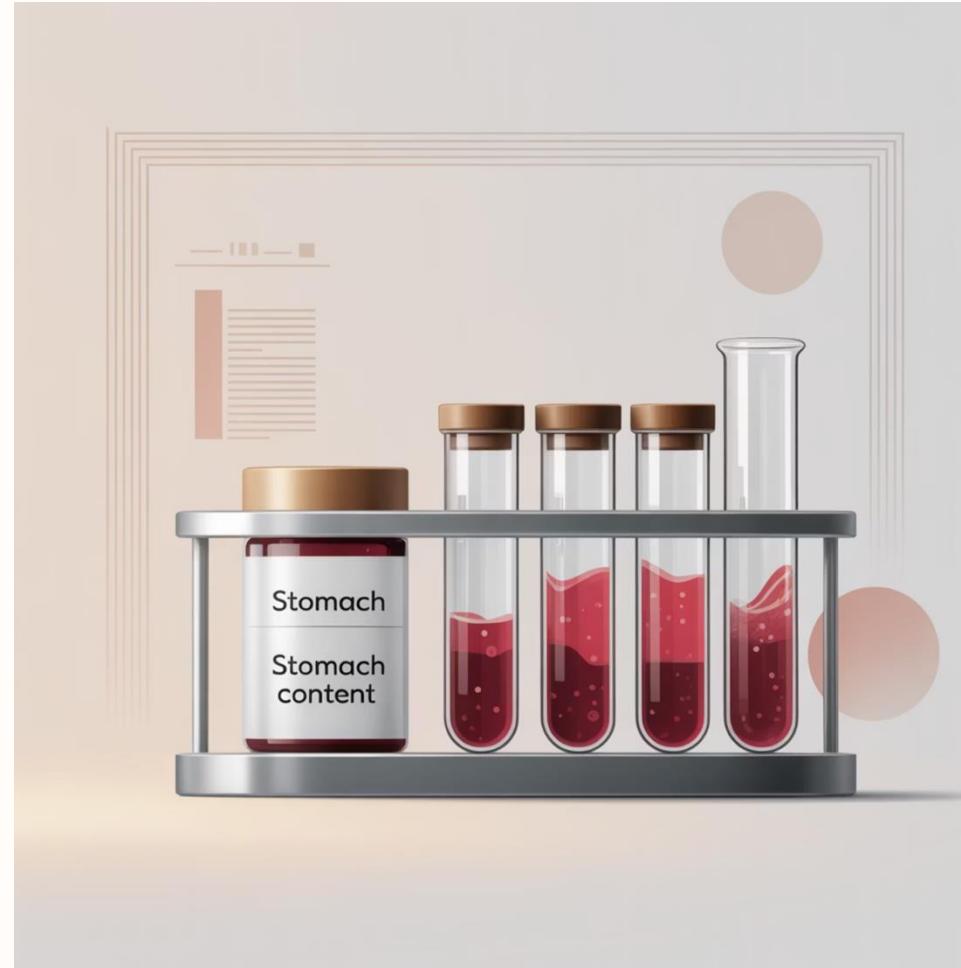
Tingkat rhodanese (enzim yang berfungsi pada detoksifikasi sianida) bervariasi pada organ-organ tubuh, mempengaruhi distribusi dan metabolisme sianida.

ap

Keterbatasan Sampel

Meskipun residu sianida dan turunannya juga ditemukan dalam urin dan saliva, analisis langsung sianida dari urin dan saliva juga terbatas.

Sampel Biologis untuk Analisis Sianida



Sampel Utama

- Darah - untuk paparan melalui semua jalur
- Isi lambung - untuk paparan melalui oral

Dalam situasi keracunan sianida, penting untuk segera mendekksi dan mengukur sianida dalam tubuh, agar perawatan yang diperlukan pasien bisa cepat diberikan.

Metode Analisis Sianida



Metode Kit Test

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.

Metode Spektrofotometri

Menggunakan senyawa seperti 2,3-dinitro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ), piridin barbiturat, dll yang akan bereaksi dengan sianida untuk membentuk senyawa berwarna yang dapat diukur intensitasnya.

Metode Kromatografi Gas

Sianida merupakan senyawa yang mudah menguap sehingga cocok untuk dipisahkan menggunakan metode kromatografi gas. Sampel yang telah dipisahkan akan dideteksi konsentrasiannya menggunakan detektor khusus.

Metode Analisis Sianida



Metode KCKT/HPLC

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dapat digunakan untuk memisahkan dan mengukur konsentrasi sianida dalam sampel biologis. Detektor UV atau detektor konduktivitas digunakan untuk pengukuran konsentrasi.

Metode Elektroda Ion Selektif

Menggunakan elektroda berbasis membran yang dapat merespon ion sianida. Potensial listrik diukur dan digunakan untuk menghitung konsentrasi sianida bebas setelah pemisahan.

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

Preparasi Sampel Darah



Pengumpulan Sampel

Darah dimasukkan ke dalam tabung falkon

Sentrifugasi

Dilakukan selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm pada suhu ruang

Pemisahan Plasma

Terbentuk dua lapisan, lapisan atas merupakan plasma darah

Penyimpanan

Plasma dipisahkan menggunakan pipet secara hati-hati dan disimpan dalam lemari es



Analisa Kuantitatif Metode Spektrofotometri (Pikrat)



Tujuan dan Prinsip

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

Alat

- Spektrofotometer
- Gelas beaker
- Tabung reaksi
- Labu ukur
- Pipet tetes
- Botol semprot

Bahan

- Larutan Na_2CO_3 2,5%
- Larutan asam pikrat
- Kertas pikrat
- Larutan asam sulfat 1,9 M
- KCN murni
- Akuades

Prosedur Analisa Metode Pikrat

1 Pembuatan Kurva Standar

- Campurkan 1 mL larutan KCN berbagai konsentrasi (10-50 mg/L) dengan 0,1 mL Asam Sulfat 1,9 M
- Taruh kertas pikrat menggantung dalam botol tertutup rapat
- Inkubasi pada suhu 27°C selama 8-24 jam
- Elusi kertas pikrat dalam 5 mL akuades selama 30 menit
- Ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimal
- Dapatkan persamaan linear $Y=aX+b$

2 Pengukuran Sampel

- Tempatkan 1 mL sampel dalam botol dengan 0,1 mL asam sulfat 1,9 M
- Taruh kertas pikrat menggantung pada mulut tabung dalam botol tertutup rapat
- Inkubasi pada suhu 27°C selama 8-24 jam
- Perubahan warna dari kuning menjadi cokelat menandakan positif sianida
- Elusi kertas pikrat dalam 5 mL akuades selama 30 menit
- Ukur absorbansi dan hitung konsentrasi menggunakan persamaan kurva standar

Analisa Kuantitatif Metode Spektrofotometri (Piridin Barbiturat)

Tujuan dan Prinsip

Menentukan kadar senyawa sianida dalam sampel. 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.



Alat dan Reagen Metode Piridin Barbiturat

Alat

- Spektrofotometer
- Gelas beaker
- Tabung reaksi
- Pipet tetes
- Labu ukur
- Botol semprot

Reagen

- Akuades
- Larutan Kloramin T 1%
- Pereaksi Piridin Barbiturat
- Larutan Natrium Hidrogen Fosfat 1N
- Larutan Pengencer NaOH
- Indikator Fenolftalein
- Larutan HCl 1N
- Reagen murni KCN
- Sampel darah atau urin

Prosedur Analisa Metode Piridin Barbiturat

01

Membuat larutan standar minimal 5 konsentrasi (1-6 ppm) menggunakan reagen murni sianida

02

Menimbang 10 gram sampel yang telah dihomogenkan

03

Memasukkan sampel ke dalam labu ukur 100 mL, mengencerkan dengan akuades hingga tanda tera

04

Memipet 10 mL sampel, memasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan menambahkan akuades hingga tanda tera

05

Memipet 5 mL larutan, memasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, dan menambahkan 15 mL larutan pengencer

Prosedur Analisa Metode Piridin Barbiturat

06

Menambahkan 4 mL buffer fosfat, 2 mL larutan kloramin T, dan pereaksi piridin barbiturat, mengocoknya hingga homogen

07

Mengencerkan dengan akuades sampai tanda tera

08

Melakukan langkah 5-7 pada larutan standar

09

Membaca absorbansi sampel dan larutan standar pada panjang gelombang maksimum 578 nm

10

Membuat kurva standar dan menghitung konsentrasi sianida dengan memasukkan absorbansi sampel ke persamaan linear kurva standar

Interpretasi Hasil Analisis Sianida Darah



<0.2 mg/L

Normal

Kadar sianida normal dalam darah manusia

0.2-1 mg/L

Mulai Timbul Gejala

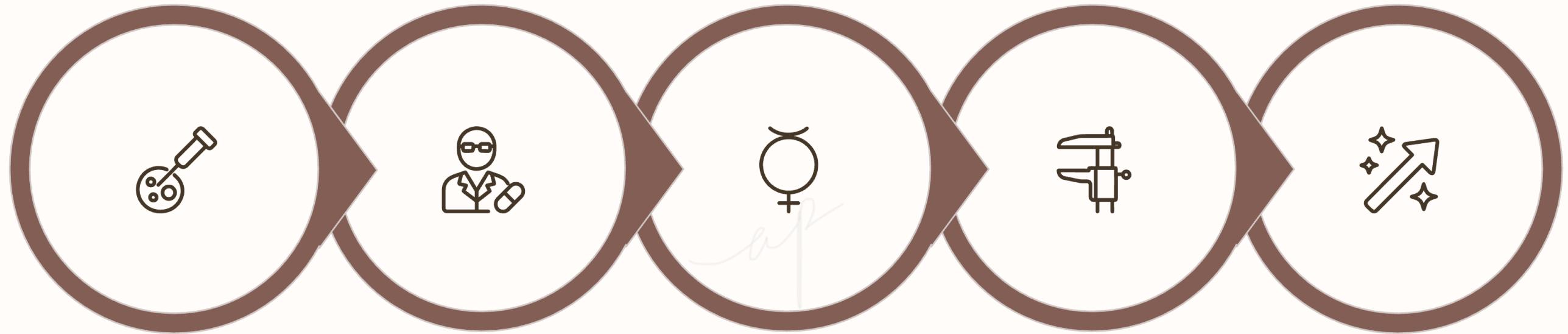
Pada rentang ini, gejala keracunan sianida mulai muncul

>1 mg/L

Keracunan

Kadar ini menunjukkan keracunan sianida yang serius

Ringkasan Analisis Sianida



Pengambilan Sampel

Persiapan Sampel

Analisis Laboratorium

Kontrol Kualitas

Interpretasi Hasil

Analisis sianida dalam sampel biologis merupakan prosedur penting dalam kasus dugaan keracunan. Metode spektrofotometri dengan pikrat atau piridin barbiturat menawarkan pendekatan yang relatif sederhana namun efektif untuk kuantifikasi sianida. Interpretasi hasil harus mempertimbangkan waktu paruh sianida yang singkat dan variasi metabolisme antar individu.

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 (AIP TLMI)
2024



terima
kasih

af