

## **BLIND TEST GOLONGAN SENYAWA PSIKOTROPIKA DALAM SAMPEL URIN**

Maharani, G.A.K.<sup>1</sup>, Rismayani, P.A.<sup>1</sup>, Devi, N.N.A.S.<sup>1</sup>, Winarni, N.P.M.P.P.<sup>1</sup>,  
Sari, P.M.N.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Badung, 80361  
E-mail : kopangmaharani@gmail.com

### **ABSTRAK**

Kasus penyalahgunaan psikotropika telah banyak terjadi di Indonesia. Penyalahgunaan atau penggunaan secara merugikan adalah penggunaan psikotropika tanpa pengawasan dokter. Kasus penyalahgunaan tersebut merupakan kasus yang memerlukan pemeriksaan toksikologi forensik. Pemeriksaan toksikologi forensik terdiri dari tahap uji skrining, uji konfirmasi, dan interpretasi hasil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa psikotropika yang terdapat di dalam sampel urin. Metode uji skrining yang digunakan yakni dengan teknik *immunoassay* menggunakan *strip test*, diperoleh hasil bahwa sampel urin menunjukkan hasil positif pada *strip test* golongan barbiturat. Metode uji konfirmasi dilakukan dengan metode KLT-Spektrofotodensitometri, diperoleh hasil bahwa senyawa golongan barbiturat yang terdapat dalam sampel adalah senyawa fenobarbital. Selanjutnya dilakukan uji determinasi dan diperoleh hasil bahwa kadar fenobarbital dalam urin pada volume aplikasi sampel 4 µl dengan replikasi 3 kali berturut-turut yaitu 22,97 ng/µl, 34,66 ng/µl, dan 22,42 ng/µl.

**Kata kunci:** *blind test, KLT, KLT-spektrofotodensitometri, psikotropika, toksikologi forensik*

### **ABSTRACT**

Cases of psychotropic abuse have occurred in Indonesia. Drug abuse is the use of psychotropic without medical supervision. The case of drug abuse is a case that requires forensic toxicology examination. Forensic toxicology examination consists of the stages of screening tests, confirmation tests, and interpretation of results. This study aims to determine the psychotropic compounds contained in urine samples. The screening test method used is the immunoassay technique using a strip test, the results obtained that urine samples show positive results on the barbiturate group test strips. Confirmation test method is done by TLC-Spectrophotodensitometry method, the results obtained that the barbiturate class compounds contained in the sample are phenobarbital compounds. Furthermore, a determination test was performed and the results were obtained that the levels of phenobarbital in urine at the volume of application sample 4 µl with replication 3 times were 22.97 ng / µl, 34.66 ng / µl, and 22.42 ng / µl.

**Keywords:** *blind test, TLC, TLC-spectrophotodensitometry, psychotropic, toxicology forensic*

### **PENDAHULUAN**

Kasus penyalahgunaan psikotropika telah banyak terjadi di Indonesia. Penyalahgunaan atau penggunaan secara merugikan adalah penggunaan psikotropika tanpa pengawasan dokter. Menurut UU RI No. 5 Tahun 1997 tentang Psikotropika, psikotropika adalah zat

atau obat, baik alamiah maupun sintesis bukan narkotika, yang berkhasiat psikoaktif melalui pengaruh selektif pada susunan saraf pusat yang menyebabkan perubahan khas pada aktivitas mental dan perilaku. Psikotropika dibagi menjadi empat golongan berdasarkan kegunaannya

dan potensi dalam menyebabkan sindroma ketergantungan.[1]

Penyalahgunaan psikotropika dapat menyebabkan sindroma ketergantungan bila penggunaannya tidak di bawah pengawasan dan petunjuk tenaga kesehatan yang mempunyai keahlian dan kewenangan. Penyalahgunaan psikotropika mendorong adanya peredaran gelap, sedangkan peredaran gelap psikotropika menyebabkan meningkatnya penyalahgunaan yang makin luas dan berdimensi internasional.

Kasus penyalahgunaan tersebut merupakan kasus yang memerlukan pemeriksaan toksikologi forensik. Ilmu toksikologi forensik dapat diterapkan dalam kasus penyalahgunaan obat terlarang yaitu dalam menganalisis keberadaan senyawa terlarang. Toksikologi forensik merupakan suatu aplikasi atau pemanfaatan ilmu toksikologi untuk kepentingan peradilan. Toksikologi forensik memiliki beberapa bidang kerja yaitu analisis ada atau tidaknya alkohol atau obat terlarang di dalam cairan tubuh atau napas yang dapat mengakibatkan perubahan perilaku seperti pada tindak kekerasan dan kejahatan, dan analisis obat terlarang di darah dan urin pada kasus penyalahgunaan narkotika dan obat terlarang lainnya,

Penelitian ini bertujuan untuk mengimplementasikan ilmu toksikologi forensik dengan melakukan analisis senyawa psikotropika yang terdapat di dalam sampel urin, untuk mengetahui

senyawa yang terdapat di dalam sampel urin. Analisis senyawa psikotropika dalam sampel urin dilakukan dengan tahapan uji skrining, uji konfirmasi dan uji determinasi menggunakan KLT-Spektrofotodensitometri.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Peralatan**

Sampel urin, NaOH(Merck<sup>®</sup>), akuades, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(Merck<sup>®</sup>), diklorometan, Plat KLT silika gel GF254, methanol(Merck<sup>®</sup>), standar yang digunakan seperti Phenobarbital, Allobarbital, Barbital, Morfin, Trimetoprim, Bromazepam, Diazepam, Kodein, dan Flurazepam

Timbangan analitik (Kern-Alj<sup>®</sup>), alat-alat gelas, sentrifugasi, kolom Screen C (STRATA<sup>®</sup>), oven, *micropipet* (Rainin<sup>®</sup>), *bulbfiller*, chamber, TLC-Visualizer, TLC Scanner Camag 4.

### **Metode**

#### ***Uji Skrining***

Uji skrining dilakukan dengan penilaian sampel (uji organoleptis, uji pH), uji skrining dengan *strip test*, dan interpretasi.

#### ***Preparasi***

Preparasi dilakukan dengan pembuatan larutan dapar fosfat 0,1 M pH 6, ekstraksi dengan dua metode LLE dan SPE. Metode SPE dengan tahap *conditioning* (metanol, akuades, dapar), *loading sample*, *washing* (dapar, asam asetat, heksana dengan laju alir 1,5 mL/menit), elusi 3 kali dengan 500 µL. Ekstraksi dengan LLE

menggunakan 2 mL sampel ditambah 4 mL diklorometana dan adjust pH hingga 5,5, disentrifugasi dengan 2000 rpm selama 15 menit dan dipisahkan kedua fasenya.

### **Pembuatan Larutan**

Pembuatan larutan standar fenobarbital konsentrasi 1 mg/mL, pembuatan larutan seri konsentrasi 10, 20, 40, 80, 160, dan 320 µg/mL, pembuatan larutan standar pembanding untuk TE (morfin, tripetoprim, bromazepam, diazepam) dan TAE (kodein, trimetoprim, flurazepam, diazepam) konsentrasi 1 mg/mL. Fase gerak yang digunakan adalah untuk sistem TE yakni etil asetat: metanol: amonia (85: 10: 5; v/v/v) sebanyak 10 mL. Untuk sistem TAE dengan metanol sebanyak 10 mL. Plat KLT Silika Gel GF<sub>254</sub> disiapkan dan diaktivasi pada suhu 110°C selama 10 menit. Pereaksi semprot menggunakan HCl 0,1 M dan KOH 0,1 M.

### **Uji Konfirmasi**

Plat yang telah diaktivasi disiapkan sebanyak 2 buah. Masing-masing sampel ditotolkan sebanyak 6µL (6000 ng) dengan jarak 1 cm dari bawah plat dan 1 cm antar noda. Kemudian dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah jenuh dan dielusikan dengan masing-masing fase gerak yang disiapkan hingga jarak pengembangan. Plat dikeringkan dengan oven bersuhu 60°C selama 10 menit. Plat discan pada 215 nm. Untuk masing-masing puncak yang diperoleh, dibuat spektrumnya pada

rentang panjang gelombang 200-400 nm. Uji konfirmasi dilakukan dengan membandingkan bentuk spektrum analit dengan bentuk spektrum senyawa pembanding yang teradapat dalam data *library WinCats* pada rentang jendela hRf<sup>c</sup>, kesesuaian spektrum ditunjukkan dengan besaran harga koefisien korelasi antar kedua spektrum  $\geq 0,95$ .

### **Geseran Spektrum**

Plat yang telah di-*scan* kemudian disemprot dengan HCl 0,1 M dan di-*scan* pada 200-400 nm, kemudian plat dikeringkan, dan di-*scan* kembali. Selanjutnya disemprotkan dengan KOH 0,1 M, kemudian plat dikeringkan, dan di-*scan* kembali pada 200-400 nm. Prosedur yang sama diulangi untuk plat kedua dengan perlakuan basa (KOH 0,1 M) dilakukan lebih dulu kemudian asam (HCl 0,1 M).

### **Uji Determinasi**

Sampel dan larutan seri ditotolkan pada plat KLT dengan volume masing-masing 4 µl. Plat dielusikan pada *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak. Plat dikeluarkan dari *chamber* setelah fase gerak mencapai batas pengembangan. Plat dikeringkan kemudian divisualisasikan pada UV 254 nm, sinar putih, UV 366 nm serta di scan pada  $\lambda$ 215 nm

## **HASIL dan PEMBAHASAN**

Berdasarkan uji organoleptis, sampel urin berbentuk cairan berwarna kuning jernih dan berbau normal urin

tanpa tercium bau obat-obatan. Pada uji pH diperoleh hasil pH urin sampel sebesar 6, yang mana hasil uji termasuk dalam rentang pH urin normal berkisar 4,4 – 8.[3]

Metode uji skrining yang digunakan yakni dengan teknik *immunoassay* menggunakan *strip test* untuk mendeteksi senyawa golongan amfetamin dan barbiturat. Berdasarkan hasil uji skrining menggunakan *strip test*, sampel urin menunjukkan hasil positif pada *strip test* golongan barbiturat, sedangkan pada uji *strip test* golongan amfetamin dan opiat menunjukkan hasil negatif. Hal ini ditandai dengan tidak munculnya warna di zona T pada pengujian menggunakan *strip test* golongan barbiturat, sedangkan pada *strip test* golongan amphetamin muncul warna di zona T. Kedua pengujian menggunakan *strip test* tersebut dapat dikatakan valid, karena pada zona C (*control*) tetap dihasilkan warna yang berarti alat *strip test* yang digunakan bekerja dengan baik. Berdasarkan uji skrining yang dilakukan, hasil yang ditunjukkan yakni sampel urin positif mengandung senyawa golongan barbiturat.

Setelah dilakukannya uji skrining, kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi sampel. Metode ekstraksi dilakukan dengan dua metode yakni dengan LLE dan SPE. Metode LLE dilakukan sebagai cara untuk mengekstraksi analit atau komponen yang dikehendaki, *clean-up* (membersihkan) atau menghilangkan komponen-komponen matriks yang mengganggu,

memekatkan analit, dan mengubah pelarut sehingga analit yang dituju kompatibel dengan teknik analisis yang digunakan. Prinsip dasar pemisahan ini adalah perbedaan kelarutan suatu senyawa dalam dua pelarut yang berbeda.<sup>[4],[5]</sup> Dalam ekstraksi cair-cair perlu diperhatikan pH dan pKa. Senyawa golongan barbiturat merupakan senyawa golongan asam lemah. Senyawa obat dengan gugus fungsional asam atau basa akan mengalami disosiasi atau mengalami protonasi dalam larutan berair sesuai dengan nilai pH larutan. Dengan demikian, proses ekstraksi dapat dioptimalkan dengan pengaturan pH. Pada pH rendah, ketika asam tidak mengalami disosiasi, maka asam akan terekstraksi dengan efisiensi tertinggi  $D \sim K_D$ . Ketika nilai pH ditingkatkan, maka nilai D menurun. Pada pH tinggi, asam akan mengalami disosiasi secara sempurna menjadi anion  $A^-$  dan tidak ada yang terekstraksi.<sup>[5]</sup> Sehingga diperlukan suatu keadaan asam agar senyawanya tidak mengalami ionisasi dan nantinya akan terlarut pada fase organik.

Proses ekstraksi cair-cair dilakukan dengan melarutkan sampel dengan pelarut diklorometana dan pH di-*adjust* dengan  $KH_2PO_4$  hingga pH 5,5. pH 5,5 dipilih karena sesuai dengan perhitungan menggunakan persamaan Henderson-Hasselbalch didapatkan persen tidak terion lebih dari 90%. Kemudian dilakukan sonikasi yang bertujuan untuk menggerakkan partikel yang berada dalam suatu sampel untuk berbagai keperluan seperti ekstraksi senyawa.

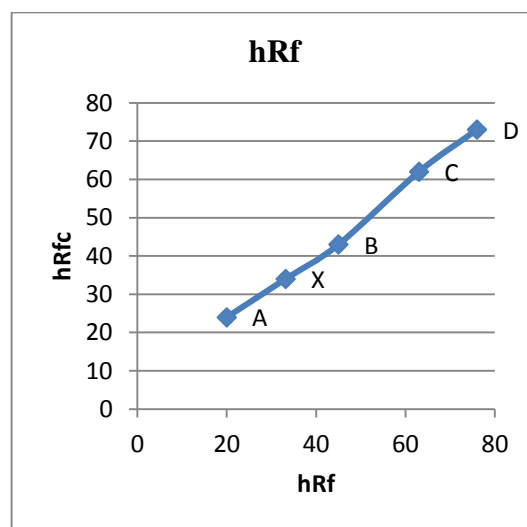
Sonikasi digunakan untuk mempercepat proses pelarutan suatu materi dengan prinsip pemecahan reaksi intermolekuler, sehingga terbentuk suatu partikel yang berukuran nano. Setelah proses sonikasi, sampel di-*vortex* dengan kecepatan rendah 3000 rpm selama 10 menit. Proses vortex bertujuan untuk melakukan proses homogenisasi atau menyeragamkan cairan. Setelah itu dilakukan proses sentrifugasi dengan kecepatan 200 rpm selama 5 menit, yang bertujuan memisahkan campuran, yang nantinya akan terbentuk dua fase yang tidak saling campur. Sentrifugasi merupakan proses pemisahan partikel berdasarkan berat partikel terhadap densitas layangan. Pada pemisahan, partikel yang densitasnya lebih tinggi daripada pelarut akan turun (sedimentasi), sedangkan partikel yang lebih ringan akan berada di atas. Dari hasil sentrifugasi diambil fase organik (diklorometana) yang berada di bagian bawah karena diklorometana memiliki BJ yang lebih besar daripada BJ air. Setelah itu diuapkan dan digunakan untuk dilakukan analisis lebih lanjut.

Metode SPE kemudian dilakukan dengan menggunakan kolom Screen C dengan fase diam *copolymeric-cation exchange* sehingga dapat mengekstraksi senyawa asam maupun basa. Tahap *conditioning* dilakukan dengan metanol untuk membasahi fase diam, kemudian akuades, dan dapar fosfat pH 6 untuk menyamakan kondisi dengan sampel. Tahap *washing* menggunakan dapar fosfat pH 6, asam asetat untuk dapat menarik

pengotor yang bersifat polar dan heksana untuk menarik pengotor bersifat non polar. Pencucian tersebut bertujuan untuk menghilangkan sisa matriks yang tertinggal tetapi tidak mempengaruhi interaksi analit dengan penjerap. Elusi dilakukan menggunakan metanol untuk dapat menarik analit yang selanjutnya akan dilakukan uji konfirmasi.

Tabel 1. Hasil Uji Konfirmasi dengan Sistem TE

Track	hRf <sup>c</sup> (Pustaka)	hRf (Eksperimen)
Morfin	20	24
Trimetoprim	45	43
Bromazepam	63	62
Diazepam	76	73
Barbital	32	41
Phenobarbital	28	34
Allobarbital	34	48
Sampel LLE	-	34
Sampel SPE	-	34



Gambar 2. Grafik poligon nilai hRf vs nilai hRfc pada sistem TE

Keterangan :

- Sumbu Y = harga hRf senyawa pembeding dan analit
- Sumbu X = harga hRf<sup>c</sup> senyawa pembeding dan analit
- A = Morfin
- B = Trimetoprim
- C = Bromazepam
- D = Diazepam
- X = Analit SPE dan LLE

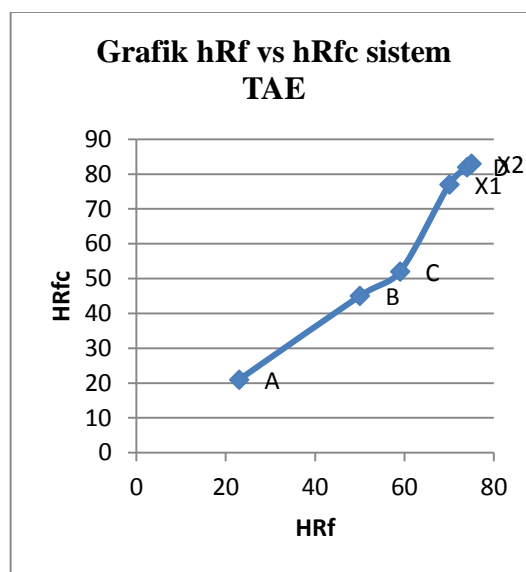
Uji konfirmasi ini bertujuan untuk memastikan identitas analit dan menetapkan kadarnya. Parameter yang digunakan adalah hRf<sup>c</sup> dan korelasi spektrum analit dengan pustaka [5]. Terdapat 2 sistem fase gerak, karena dalam suatu uji konfirmasi, untuk memastikan senyawa apa yang terdeteksi, senyawa tersebut harus muncul minimal pada 2 macam sistem fase gerak [6]. Pada penelitian ini senyawa pembeding yang digunakan untuk sistem TE adalah morfin, trimetoprim, bromazepam, dan diazepam sedangkan untuk TAE senyawa pembeding yang digunakan adalah kodein, trimetoprim, flurazepam dan diazepam. Dengan senyawa pembeding tersebut, maka variasi nilai hRf yang diperoleh dapat dikoreksi menjadi hRf terkoreksi (hRf<sup>c</sup>).

Dilihat dari nilai hRf<sup>c</sup> yang diperoleh pada uji konfirmasi ini diketahui bahwa sistem yang digunakan adalah sistem TE dengan fase gerak etil asetat: metanol: ammonia (85: 10:5 v/v/v) dan *windows error* yang diterima pada sistem ini adalah 11 [7]. Hasil yang diperoleh dilakukan pendataan senyawa golongan barbiturate yang

mempunyai nilai hRf<sup>c</sup> antara rentang 22, 158-44,158. Dari literature, diperoleh bahwa senyawa golongan barbiturate yang mempunyai hRf<sup>c</sup> diantara rentang tersebut adalah barbital, phenobarbital, dan allobarbital.

Tabel 3. Hasil Uji Konfirmasi dengan Sistem TAE

Track	hRf <sup>c</sup> (Pustaka)	hRf (Eksperimen)
Kodein	21	23
Trimetoprim	45	50
Flurazepam	52	59
Diazepam	82	74
Barbital	84	79
Phenobarbital	85	80
Allobarbital	87	74
Sampel LLE	-	70
Sampel SPE	-	75



Gambar 4. Grafik polygonal nilai hRf vs nilai hRf<sup>c</sup> pada sistem TAE

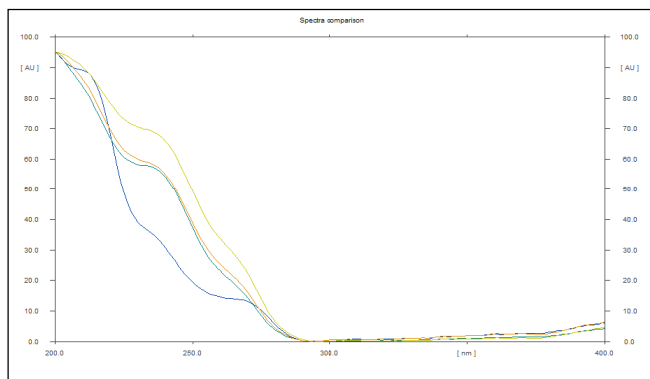
Berdasarkan hasil nilai hRf<sup>c</sup> yang diperoleh pada uji konfirmasi ini,

diketahui bahwa sistem yang digunakan adalah sistem TAE dengan metanol dan *windows eror* yang diterima pada sistem ini adalah 8 [7]. Hasil yang diperoleh dilakukan pendataan senyawa golongan barbiturate yang mempunyai nilai hRfc antara rentang 69,21-85,21. Dari literature, diperoleh senyawa golongan barbiturate yang mempunyai hRfc diantara rentang tersebut adalah barbital dan Phenobarbital.

Hasil nilai hRfc yang diperoleh pada uji konfirmasi ini, diketahui bahwa sistem yang digunakan adalah sistem TAE dengan metanol dan *windows eror* yang diterima pada sistem ini adalah 8 sehingga berdasarkan hasil yang diperoleh dilakukan pendataan senyawa

golongan barbiturate yang mempunyai nilai hRfc antara rentang 78,21-91,21. Dari literature, diperoleh senyawa golongan barbiturate yang mempunyai hRfc diantara rentang tersebut adalah barbital, phenobarbital, dan allobarbital.

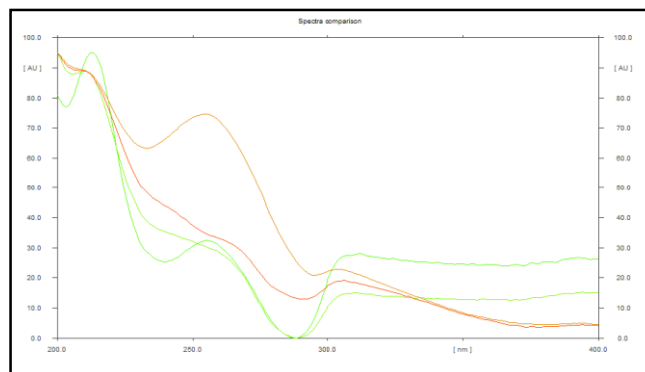
Uji konfirmasi dengan nilai hRfc pada 2 sistem fase gerak yakni TE dan TAE, terkonfirmasi senyawa golongan barbiturate yakni barbital dan Phenobarbital pada kedua sistem yang digunakan. Untuk konfirmasi lebih lanjut golongan barbiturate yang terkandung dalam urin maka dilakukan *overlay* spektrum terhadap spektrum analit dalam sampel dengan spektrum standar senyawa golongan barbital dan Phenobarbital.



**Gambar 5.** Overlay spektrum standar golongan barbital dengan sampel LLE dan SPE pada sistem TE

Keterangan :

- = barbital
- = Phenobarbital
- = sampel LLE
- = sampel SPE



**Gambar 6.** Overlay spektrum standar golongan barbital dengan sampel LLE dan SPE pada sistem TE

Keterangan :

- █ = Barbital
- █ = Phenobarbital
- █ = Sampel LLE
- █ = Sampel SPE

Berdasarkan hasil *overlay* spektrum analit dalam sampel dengan senyawa standar maka spektrum senyawa standar Phenobarbital mirip dengan spektrum analit. Selain itu dapat digunakan perbandingan nilai Rf dari analit pada sampel LLE dan SPE dengan nilai Rf standar golongan barbiturate. Dilihat dari nilai Rf pada sistem TE yang digunakan ini juga mampu memisahkan senyawa golongan barbiturate dengan baik yakni barbital, Phenobarbital dan allobarbital dengan baik dimana Rf yang diperoleh untuk barbital 0,41, Phenobarbital 0,34 dan allobarbital 0,48. Sedangkan analit dalam sampel LLE dan SPE memiliki Rf yang sama dengan phenobarbital yaitu 0,34. Sehingga dapat dikonfirmasi bahwa analit golongan barbiturate yang terdapat dalam sampel adalah phenobarbital.

Berdasarkan penelitian Wirasuta (2012) diketahui bahwa cairan pengelusi dengan berbagai pH

dapat menggeser secara khas pola spektrum senyawa barbiturat pada plat Al-TLC Silika 60 GF<sub>254</sub>. Pada praktikum kali ini dilakukan variasi pH didapat dengan penyemprotan plat memakai HCl 0,1 M dan KOH 0,1 M. Hasil densitogram dan spektrum UV dapat dilihat pada lampiran. Pada spektrum UV allobarbital setelah diberikan HCl 0,1 M mengalami perubahan bentuk spektrum. Perubahan bentuk spektrum dapat terjadi dikarenakan adanya reaksi disosiasi asam barbiturate menuju ion mono laktim atau dilaktim. Pada senyawa allobarbital pada lingkungan pH  $\leq 2$  senyawa asam barbiturate berada dalam bentuk asamnya, dimana pada kondisi seperti ini ikatan rangkap C=O dari asam barbiturate berada dalam keadaan terisolasi. Hal ini mengakibatkan senyawa allobarbital setelah diberikan HCl 0,1 M tidak memberikan puncak serapan pada daerah panjang gelombang 220-300 nm. Berdasarkan literatur senyawa



barbiturate tidak mengalami pemunculan bahu pada 240-255 nm. Namun pada praktikum kali ini terjadi pemunculan bahu pada barbital dan phenobarbital. Pada senyawa barbiturate akan mengalami pemunculan bahu apabila diberikan KOH 0,1 M [8].

Selain menggunakan HCl 0,1 M, variasi pH juga diperoleh dengan menggunakan penyemprotan pada plat dengan KOH 0,1 M. Setelah disemprot dengan menggunakan KOH 0,1 M terdapat kemunculan bahu pada panjang gelombang 240 nm pada sistem TE. Pemunculan bahu pada spektrum UV allobarbital, barbital dan phenobarbital setelah disemprot dengan menggunakan KOH 0,1 M menunjukkan senyawa barbiturate telah mengalami disosiasi dari bentuk asamnya menuju ion monolaktim. Perubahan ionisasi ini membentuk ion monolaktim mengakibatkan perpanjangan ikatan rangkap terkonjugasi dari ikatan karbonil (C=O) terisolasi menjadi O=C=N=O. Perpanjangan ikatan rangkap terkonjugasi ini menyebabkan geseran batokromik, munculnya bahu pada panjang gelombang 240 nm [8]. Pada sistem TAE tidak terdapat perubahan spektrum ketika diberikan HCl 0,1 M maupun KOH 0,1 M.

Selanjutnya dilakukan tahap determinasi dengan menggunakan sistem fase gerak TE. Sistem fase gerak ini dipilih karena memiliki resolusi yang lebih baik dibandingkan TAE. Digunakan 6 seri larutan phenobarbital dengan konsentrasi 10 ng/μl, 20 ng/μl, 40 ng/μl, 80 ng/μl, 160

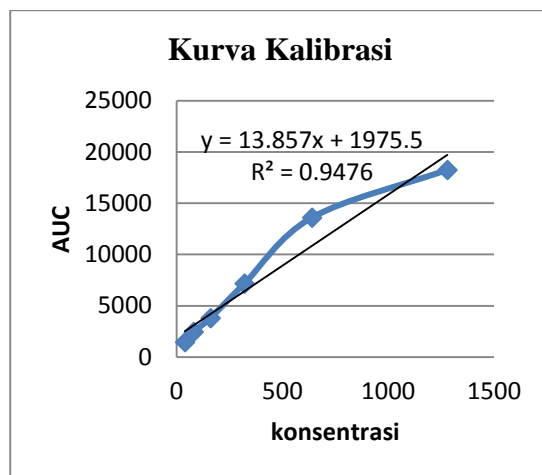
ng/μl, dan 320 ng/μl. pemilihan konsentrasi larutan seri didasarkan atas perbandingan AUC dari standar sampel LLE dan SPE yang ditotolkan pada uji konfirmasi. Kemudian dicari kurva kalibrasi dengan menggunakan 6 seri tersebut. diperoleh nilai koefisien korelasi 0,973 dengan persamaan  $y = 14,86x + 1975,52$

Kemudian dihitung nilai LOD dan LOQ (Batas deteksi dan batas kuantifikasi) dari hasil yang diperoleh LOD sebesar 379,6 ng dan LOQ sebesar 1265,2 ng. Setelah itu dilakukan penetapan kadar phenobarbital dalam sampel LLE yang mana diperoleh kadar dalam volume aplikasi sampel 4 μl dengan replikasi 3 kali berturut-turut yaitu 22,97 ng/μl, 34,66 ng/μl, dan 22,42 ng/μl.

Tabel 7. Hasil Uji Determinasi yang diperoleh

Senyawa	Konsentrasi (ng/μl)	Volume aplikasi sampel	AUC
Seri 1	10	4 μl	1466,1
Seri 2	20	4 μl	2466,1
Seri 3	40	4 μl	3813,2
Seri 4	80	4 μl	7157,6
Seri 5	160	4 μl	13605,4
Seri 6	320	4 μl	18263,6
Sampel LLE	-	4 μl	3340,9

Sampe 1 LLE		4 µl	4036, 1
Sampe 1 LLE		4 µl	3308, 3



**Gambar 8.** Kurva kalibrasi dengan menggunakan 6 seri

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Skrining terhadap golongan narkotika dan psicotropika dalam sampel urin dengan menggunakan *strip test* menghasilkan bahwa sampel positif mengandung senyawa golongan barbiturate yang ditunjukkan dengan satu strip muncul di zona C dan tidak muncul *strip* pada zona T.
2. Berdasarkan hasil uji konfirmasi sampel urin dengan menggunakan KLT-Spektrofotodensitometri dikonfirmasi bahwa senyawa golongan barbiturate yang positif pada sampel urin adalah Phenobarbital
3. Berdasarkan hasil uji determinasi kadar phenobarbital dalam sampel

LLE yang mana diperoleh kadar dalam volume aplikasi sampel 4 µl dengan replikasi 3 kali berturut-turut yaitu 22,97 ng/µl, 34,66 ng/µl, dan 22,42 ng/µl.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Presiden RI. 1997. *Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 1997 Tentang Psicotropika*. Jakarta: Sekretariat RI.
- [2] Wirasuta, M.A.G.. 2008. Analisis Toksikologi Forensik dan Interpretasi Temuan Analisis. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences* 1(1): 47-55.
- [3] Shaafie, I., Ahmad, Sreedharan, J., Muttappallymyalil, J., Venkatramana, M., Freeg, M. A. H. A., Mathew, E.. 2012. Effect of Urinary pH and Specific Gravity in Urolithiasis, Ajman, UAE. *Journal of Gulf Medical* 1: 26-31.
- [4] Leba, M.A.U. 2017. *Buku Ajar: Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Edisi 1. Cetakan 1. Yogyakarta: Deepublish.
- [5] Rohman, A. 2018. *Validasi dan Penjaminan Mutu Metode Analisis Kimia*. Yogyakarta: UGM Press.
- [5] Wirasuta, I.M.A.G. 2008. Analisis Toksikologi Forensik dan Interpretasi Temuan Analisis. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Science* 1(1):47-55.
- [6] Moffat, A.C., M.D. Osselton, B. Widdop. 2011. *Clarke's*

- Analysis of Drugs and Poisons in Pharmaceuticals, Body Fluids, and Postmortem Material.* Fourth Edition. London: Pharmaceutical Press.
- [7] Zeeuw, R.A., J.P. Franke, F. Degel, G. Machbert, H. Schutz, J. Wijsbeek. 1992. *Thin Layer Chromatographic Rf Values of Toxicologically Relevant Substances on Standardized Systems.* Jerman: VHC Verlagsgesellschaft mbH
- [8] Wirasuta, I.M.A.G., N.G. Indriyaningsih, N.M. Suaniti. 2012. Studi Geseran Spektrum UV Senyawa Asam Barbiturat Pada Plat Al-TLC Si G 60 F254 Akibat Pengaruh Perbedaan pH Pengeluen Untuk Keperluan Uji Konfirmasi. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences*2(1): 1-4