

**ANALISIS KUALITATIF SENYAWA PARASETAMOL (ACETAMINOPHEN)
PADA URIN DAN RAMBUT MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI GAS – SPEKTROMETRI MASSA (GC-MS)**

Komang Ari Gunapria Darmapatni*, A. A. Bawa Putra, Ni K. Ariati, dan Ni M. Suaniti

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

**Email : argun4sma@yahoo.com*

ABSTRAK

Parasetamol (acetaminophen) adalah salah satu jenis obat yang memiliki efek analgesik-antipiretik dan sangat mudah diperoleh dipasaran. Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menganalisis senyawa parasetamol (*acetaminophen*) pada urin dan rambut secara kualitatif dengan menggunakan kromatografi gas – spektrometri massa (GC-MS). Sampel urin dan rambut diperoleh dari pasien (sukarelawan) yang mengkonsumsi parasetamol dalam dosis terapi tanpa mengubah pola konsumsi. Ekstraksi parasetamol pada sampel urin dilakukan dengan menggunakan etil asetat, sedangkan sampel rambut menggunakan metanol, yang selanjutnya hasil ekstraksi diderivatisasi menggunakan BSTFA yang mengandung TMCS 1 % dan dianalisis menggunakan kromatografi gas – spektrometri massa (GC-MS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel *urine* pada 1, 2, dan 3 jam setelah mengkonsumsi parasetamol memberikan hasil positif *acetaminophen*-TMS sedangkan pada 24, 168, dan 720 jam setelah konsumsi. Pada sampel rambut, hasil positif *acetaminophen*-TMS ditunjukkan pada 1, 2, 3, 24, 168, dan 720 jam setelah mengkonsumsi parasetamol.

Kata kunci : acetaminophen, urin, rambut, Kromatografi Gas – Spektrometri Massa

ABSTRACT

Paracetamol (acetaminophen) is one of analgesic-antipyretic drugs which can be commercially obtained. The research aim is to analyze qualitatively the presence of paracetamol (acetaminophen) in urine and human hair by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Urine and human hair sample were obtained from patients (volunteers) who consume paracetamol in therapeutic dose without consumption patterns change. Extraction of paracetamol in urine used ethyl acetate and in human hair used methanol. The extract was then derivatized with BSTFA and 1% TMCS and analyzed using *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS). The result showed that urine samples after 1, 2, and 3 hours consuming paracetamol contained acetaminophen-TMS. Those after 24, 168, and 720 hours after consuming paracetamol did not contain acetaminophen-TMS. In human hair, the acetaminophen-TMS was found in samples of 1, 2, 3, 24, 168, and 720 hours after consuming paracetamol.

Keywords : acetaminophen, urine, human hair, Gas Chromatography - Mass Spectrometry

PENDAHULUAN

Nekrosis hati merupakan kondisi saat terjadi kematian sel yang tidak terkontrol yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Obat dengan efek analgesik-antipiretik dapat menyebabkan intoksikasi dan nekrosis hati bila dalam dosis yang tidak tepat. Parasetamol dan turunannya

digunakan sebagai obat analgesik-antipiretik. Parasetamol dapat menyebabkan nekrosis hati apabila dalam kondisi *overdose*. Dalam kondisi *overdose* (OD) ketersediaan glutathione transferase (GSH) yang berfungsi mengubah N-asetil-p-benzo-quinon-imin (NAPQI) menjadi sistein dan konjugat asam merkapturat tidak mencukupi sedangkan parasetamol jalur sulfat dan

glukoronida menjadi jenuh sehingga metabolit reaktif yang dihasilkan dari metabolisme parasetamol yakni NAPQI akan berikatan dan membentuk ikatan kovalen dengan protein atau asam nukleat dan menghambat metabolisme oksidatif dan penurunan produksi Adenosin trifosfat atau ATP (Forte, 2002).

Keberadaan beberapa jenis obat-obatan dalam tubuh dapat dianalisis melalui cairan tubuh seperti urin dan darah, maupun non cairan tubuh seperti rambut. Kelebihan penggunaan sampel rambut dibandingkan urin dan darah untuk menganalisis obat adalah rambut memiliki informasi keberadaan obat yang lebih lama dengan rentang waktu minggu hingga bulan dibandingkan pada urin atau darah yang hanya mendeteksi dengan kisaran waktu beberapa jam hingga beberapa hari (Kintz, 2000).

Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS) mampu mendeteksi kadar obat dengan konsentrasi kurang dari 1µg/L dan membutuhkan waktu pengerjaan yang relatif singkat (Wirasuta, 2007). Syarat suatu senyawa dapat dianalisis menggunakan GC-MS adalah memiliki sifat yang *volatile* (mudah menguap), jika suatu senyawa sulit menguap maka sebelum dianalisis menggunakan GC-MS maka dilakukan derivatisasi terlebih dahulu.

Ipung (2008) yang menganalisis parasetamol dalam sampel urin dengan metode TLC-Spektrofotodensitometer diketahui bahwa urin yang dianalisis kandungan parasetamolnya adalah urin dari individu yang tidak mengkonsumsi parasetamol (urin blanko) yang ditambahkan larutan standar parasetamol (adisi standar). Penelitian ini belum dapat menggambarkan keberadaan parasetamol dalam urin pada kondisi yang sesungguhnya sehingga perlu dilakukan kembali analisis kualitatif pada *urine* seseorang yang mendapat terapi parasetamol. Saito (2008) telah berhasil melakukan analisis parasetamol dalam sampel rambut pada kasus keracunan dalam kondisi *overdose*. Dari penelitian ini diketahui juga bahwa limit deteksi GC-MS adalah 0,1 ng/mg. Bila analisis dilakukan dalam kondisi *overdose* maka masih memungkinkan untuk memperoleh hasil positif parasetamol pada rambut namun tidak demikian bila parasetamol hanya dikonsumsi beberapa kali bila diperlukan dalam dosis terapi (berdasarkan resep dokter)

sehingga perlu dilakukan kembali analisis parasetamol pada rambut pasien yang mendapatkan terapi parasetamol dalam dosis terapi.

Berdasarkan uraian diatas maka penulis kembali melakukan observasi secara kimiawi pada urin dan rambut pasien yang mendapatkan terapi *parasetamol* dalam dosis terapi (berdasarkan resep dokter) tanpa mengubah pola konsumsi obat yang diberikan oleh dokter sesuai dengan kode etik yang berlaku serta tanpa adanya intervensi dari peneliti.

MATERI DAN METODE

Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel rambut dan sampel urin. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan kimia dalam derajat pro analisis (p.a) yang terdiri dari diklorometana (CH₂Cl₂), metanol (CH₃OH), etil asetat (CH₃COOC₂H₅), aquades, air hangat, gas helium, gas nitrogen, *pH indicator-strips*, *Solid Phase Extraction (SPE)*, dan N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroasetamida (BSTFA) yang mengandung trimetilklorosilan (TMCS) 1% diperoleh dari *Sigma Aldrich Chemical* Hongkong.

Peralatan

Alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium analisis, es *box*, pipet mikro 1000 µL dan 20 µL, neraca analitik, gunting *stainless steel*, *Cartridge*, wadah plastik bertutup, *cup urine* (steril) 100 mL, *Gas Chromatography* (GC) tipe Agilent 6890N dengan kolom kapiler HP-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), dan detektor *Mass Spectrometry* (MS) tipe Agilent 5973.

Cara Kerja

Subjek Penelitian

Penelitian dilakukan setelah mendapatkan surat kelaikan etik penelitian dengan nomor *protocol* yaitu 20.01.1.2014 dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar. Subjek penelitian merupakan pasien yang mendapatkan terapi parasetamol dan bersedia secara sukarela mengikuti serangkaian penelitian yang dilakukan dan telah menandatangani

lembar persetujuan responden (*informed consent*) dengan disaksikan oleh dr. Putu Asri Wirya.

Pengambilan sampel urine dan rambut

Pengambilan sampel dilakukan pada 1, 2, 3, 24m, 168, dan 720 jam setelah konsumsi tablet parasetamol dengan dosis terapi tanpa mengubah pola konsumsi obat yang telah diberikan. Selama penelitian ini dilakukan, sukarelawan hanya mengkonsumsi obat pada hari Selasa, 22 April 2014 atau saat pengambilan sampel dimulai tanpa mengubah pola konsumsi yang telah diberikan dokter, disebabkan kesehatan ke-3 sukarelawan yang telah kembali semula sehingga ke-3 sukarelawan tidak mengkonsumsi obat kembali pada hari berikutnya dan hal tersebut berlanjut selama 1 bulan karena sukarelawan dalam kondisi sehat atau tidak mengkonsumsi obat kembali selama penelitian ini.

Preparasi Larutan Standar Parasetamol

Tablet obat campuran dengan keterangan obat yakni mengandung 500 mg parasetamol dan 250 mg senyawa obat lainnya (pseudoephedrine, malaet, klorfeniramine) digerus hingga halus. Sebanyak 0,15 mg serbuk obat ditimbang dan dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan aquades hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan standar parasetamol 1 ppm. Larutan standar parasetamol 1 ppm kemudian diberi perlakuan yang sama seperti sampel.

Preparasi kolom

Cartridge yang telah disiapkan ditutup dengan kertas saring sesuai ukuran lingkaran *cartridge* pada bagian terdalam *cartridge*. *Exterlute* dimasukkan kedalam *cartridge* sebanyak $\frac{3}{4}$ bagian *cartridge* untuk 8 mL sampel. Setelah *exterlute* dimasukkan, kemudian ditutup kembali dengan kertas saring sesuai ukuran lingkaran *cartridge* dan kolom siap digunakan.

Ekstraksi Sampel urin

Sampel urin diperoleh dari 3 orang sukarelawan yang memperoleh terapi tablet parasetamol yang sama pada dosis terapi. Urin ditampung pada 1, 2, 3, 168, dan 720 jam setelah mengkonsumsi tablet parasetamol tanpa mengubah pola konsumsi obat yang telah diberikan oleh dokter yang berwenang atas diagnosa pasien. pH sampel urin diukur menggunakan pH indicator-*strips*. Sebanyak 8 mL urin yang telah disesuaikan pHnya kemudian dimasukkan ke dalam kolom

SPE yang telah disiapkan dan dibiarkan hingga mencapai batas bawah kolom SPE.

Setelah sampel mencapai batas bawah, kemudian dielusi dengan eluen etil asetat sebanyak 8 mL sebanyak 2 kali, eluat hasil elusi diupkan dibawah blower lemari asam. 1 mL eluat disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan yang diperoleh ditampung dalam tabung reaksi lalu dialiri nitrogen pada suhu ruang hingga seluruh pelarutnya menguap kemudian residu yang diperoleh diderivatisasi.

Ekstraksi sampel rambut

Analisis pada rambut dilakukan pada 3 orang sukarelawan yang mendapatkan terapi tablet parasetamol yang sama pada dosis terapi. Rambut dikumpulkan pada 1, 2, 3, 168, dan 720 jam setelah mengkonsumsi tablet parasetamol tanpa mengubah pola konsumsi obat yang telah diberikan oleh dokter yang berwenang atas diagnosa pasien.

Setiap helai rambut diperoleh dengan cara rambut digunting menggunakan gunting *stainless steel* pada jarak sedekat mungkin dengan kulit kepala pada bagian depan, atas, samping kanan, samping kiri, dan bagian belakang. Kemudian dimasukkan ke dalam wadah plastik dan disimpan pada suhu kamar (Wijayaputra, 2011).

Sampel rambut didekontaminasi dengan 5 mL diklorometana selama 2 menit pada suhu ruang, 5 mL air hangat selama 2 menit, dan 5 mL diklorometana selama 2 menit. Sampel rambut yang telah didekontaminasi kemudian digunting menjadi kecil-kecil. Sebanyak 20 mg sampel diinkubasi pada 45°C selama 2 jam dalam 1 mL methanol (Wijayaputra, 2011). Lapisan air ditampung dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh diambil dan dialiri nitrogen pada suhu ruang.

Derivatisasi

Sebanyak 50 μ L BSTFA dengan TMCS 1 % ditambahkan ke residu (sampel urin dan rambut). Tabung disegel dan dipanaskan pada 60°C selama 30 menit. Setelah derivatisasi, sampel didinginkan sampai suhu kamar dan siap diinjeksikan pada sistem GC-MS.

Kondisi GC-MS

Analisis GC dilakukan dengan Agilent 6890N kromatografi gas dilengkapi dengan Agilent 5973 detektor massa selektif. Helium

(99%) digunakan sebagai gas pembawa pada laju alir 1 mL/menit, 1 μ L ekstrak disuntikkan dengan suhu injektor 250°C, suhu interface 270°C, suhu detektor 230°C dan split rasio 1:20. Program temperatur pada kolom adalah suhu awal kolom 70°C ditahan selama 5 menit, dinaikkan 10°C/menit hingga suhu 270°C dan ditahan 5 menit sehingga diperoleh total waktu 30 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

pH Sampel Urin

Sebelum melakukan proses ekstraksi, pH sampel urin diatur sesuai dengan senyawa yang akan diekstrak, parasetamol merupakan senyawa yang stabil pada pH 4-6 sehingga pH urin harus diatur pada pH 4-6. Hasil pengukuran pH urine menggunakan pH *indicator-strips* disajikan pada Tabel 1. Pada Tabel 1 terlihat bahwa semua sampel urin yang akan dianalisis telah berada pada pH 4-6 sehingga tidak dilakukan perlakuan lainnya untuk mengatur pH urin.

Tabel 1. Hasil pengukuran *pH urine* menggunakan *pH indicator-strip*

Pengambilan sampel	pH Urin		
	A	B	C
I	5	5	6
II	5	5	6
III	4	4	5
IV	5	5	5
V	4	4	6
VI	6	6	6

Analisis senyawa parasetamol (*acetaminophen*) pada urine

Ekstraksi pada sampel *urine* dilakukan dengan menggunakan kolom SPE dan eluen etil asetat. Etil asetat digunakan sebagai eluen karena parasetamol dan metabolitnya memiliki sifat yang cenderung lipofil sehingga dapat diekstraksi menggunakan pelarut organik seperti etil asetat.

Berdasarkan hasil analisis, diperoleh senyawa *acetaminophen-TMS* pada larutan standar yang terbaca pada *Library C:\Database\W9N11.L* dengan metode *Full Scan* dan *SIM (Selected Ion Monitoring)* dengan waktu retensi 18.31 menit. *Acetaminophen-TMS* diperoleh akibat dilakukannya derivatisasi menggunakan BSTFA

yang mengandung TMCS 1% sehingga terjadi pergantian gugus hidrogen aktif dengan trimetilsilil (Si(CH₃)₃). Ion fragmen yang dipilih ketika menggunakan metode SIM untuk menganalisis senyawa *acetaminophen-TMS* adalah ion fragmen yang memiliki kelimpahan tinggi yakni 223, 181, dan 166. Tabel 2 menunjukkan hasil analisis *acetaminophen* pada semua sampel urin.

Tabel 2. Hasil analisis *Acetaminophen* pada semua sampel urin sukarelawan

Pengambilan sampel	Hasil Analisis <i>Acetaminophen</i>			Keterangan
	(+)/(-)			
	A	B	C	
I	(+)	(+)	(+)	<i>Acetaminophen-TMS</i>
II	(+)	(+)	(+)	<i>Acetaminophen-TMS</i>
III	(+)	(+)	(+)	<i>Acetaminophen-TMS</i>
IV	(-)	(-)	(-)	Negatif <i>Acetaminophen</i>
V	(-)	(-)	(-)	Negatif <i>Acetaminophen</i>
VI	(-)	(-)	(-)	Negatif <i>Acetaminophen</i>

Berdasarkan Tabel 2, terlihat bahwa sampel urin ketiga sukarelawan pada pengambilan pertama (I), kedua (II), ketiga (III) atau 1 jam, 2 jam dan 3 jam setelah mengkonsumsi tablet parasetamol menunjukkan hasil positif (+) *acetaminophen* dalam bentuk *derivatennya* yakni *acetaminophen-TMS* dengan pecahan molekul MS yang sama seperti larutan standar. Hal ini menunjukkan bahwa parasetamol telah terdistribusikan keseluruh tubuh dengan waktu paruh 1-3 jam (Ganiswara, 1995). Hasil negatif diperoleh pada pengamatan 24, 168, dan 720 jam setelah mengkonsumsi obat, hal ini disebabkan karena seluruh metabolit *acetaminophen* seluruhnya telah terekskresi melalui urin maupun cairan tubuh yang lainnya seperti keringat dan saliva.

Analisis senyawa parasetamol (*acetaminophen*) pada rambut

Pada penelitian ini diperoleh hasil positif (+) *acetaminophen-TMS* pada semua sampel rambut mulai dari 1 jam hingga 720 jam (1 bulan) setelah mengkonsumsi tablet parasetamol, namun diketahui bahwa pertumbuhan rambut rata-rata 0,6-1,42 cm per bulan (Saitoh, 1969) sedangkan ukuran rambut dari masing-masing sukarelawan

juga relatif panjang berkisar antara 5 cm hingga 21 cm, jika dihubungkan dengan pertumbuhan rambut maka dapat diketahui bahwa rata-rata rambut sukarelawan telah berusia 12 bulan sehingga memungkinkan bila senyawa obat yang pernah dikonsumsi masih tersimpan dalam rambut sukarelawan namun dengan konsentrasi yang sangat kecil sehingga hanya dapat terbaca dengan GC-MS dengan metode SIM.

Menurut Kintz (2000) kelebihan uji rambut dibandingkan urin adalah rambut memiliki informasi keberadaan obat yang lebih lama dengan rentang waktu minggu hingga bulan dibandingkan pada urin atau darah yang hanya mendeteksi dengan kisaran waktu beberapa jam hingga beberapa hari. Hal ini juga mendukung temuan yang diperoleh dari penelitian ini. Dengan demikian dapat dipastikan bahwa hasil yang diperoleh merupakan parasetamol yang tersimpan dalam rambut dalam jangka waktu yang lama atau hasil konsumsi secara berkala. Hasil analisis *acetaminophen*-TMS pada sampel rambut menggunakan metode SIM ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis *acetaminophen*-TMS pada sampel rambut menggunakan metode SIM

Pengam- bilan sampel	Hasil Analisis <i>Acetaminophen</i> (+)/(-)			Keterangan
	A	B	C	
I	(+)	(+)	(+)	<i>Acetaminophen</i> -TMS
II	(+)	(+)	(+)	<i>Acetaminophen</i> -TMS
III	(+)	(+)	(+)	<i>Acetaminophen</i> -TMS
IV	(+)	(+)	(+)	<i>Acetaminophen</i> -TMS
V	(+)	(+)	(+)	<i>Acetaminophen</i> -TMS
VI	(+)	(+)	(+)	<i>Acetaminophen</i> -TMS

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Hasil positif *acetaminophen*-TMS diperoleh pada sampel urin dari 1 jam hingga sehari setelah mengkonsumsi tablet parasetamol namun diperoleh hasil negatif setelah lebih dari 1 hari mengkonsumsi tablet, sedangkan pada sampel rambut, hasil positif telah ditunjukkan pada 1 jam hingga 720 jam setelah mengkonsumsi tablet

parasetamol, hasil yang diperoleh merupakan parasetamol yang tersimpan dalam rambut dalam jangka waktu yang lama atau hasil konsumsi secara berkala.

Saran

Penelitian ini telah dapat menunjukkan bahwa senyawa parasetamol (*acetaminophen*) dapat terdeteksi dalam sampel urin dan rambut pada individu yang mendapatkan terapi parasetamol tanpa mengubah pola konsumsi yang telah diberikan oleh dokter, namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan metode ekstraksi khususnya pada sampel rambut serta mengukur konsentrasi senyawa parasetamol (*acetaminophen*) dalam sampel urin dan rambut pada individu yang mendapatkan terapi parasetamol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Pusat Laboratorium Forensik (Puslabfor) Bareskrim Polri Cabang Denpasar, Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Bapak I Wayan Gede Gunawan dan Bapak I Nengah Simpen serta semua pihak atas saran dan kritiknya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Drozd, J., 1985, Chemical Derivatization in Gas Chromatography, *Journal of Chromatography Library*, 19
- Forte, J.S., 2002, *Paracetamol : Safety Versus Toxicity*, (2)
- Ganiswara, S.G., 1995, *Farmakologi dan Terapi, Bagian Farmakologi dan Kedokteran*, Edisi 4, Universitas Indonesia, Jakarta
- Ipung, K., 2008, Analisis Parasetamol Dalam Urin Dengan Teknik KLT Spektrodensitometri, *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit-Jimbaran
- Kintz, P., 2000, Hair, In: Jay A. S. editors. *Encyclopedia of Forensic Sciences*, Vol II, Academic Press, UK, p. 598-640

- Knapp, D.R., 1979, *Handbook of Analytical Derivatization Reactions*, New York
- Liu, R.H., Canfield, D.V., and Wang, S.M., 2010, *Quantitation and Mass Spectrometric Data of Drug and Isotopically Labeled Analog*, CRC Press
- Regis, 1998, *Chromatography Catalog*, p. 86-88
- Moffat, A.C., Osselton, M.D., and Widdop, B., 2004a, *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*, 3th ed. Vol 1, Pharmaceutical Press, London
- Moffat, A.C., Osselton, M.D., and Widdop, B., 2004b, *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*, 3th ed. Vol 2, Pharmaceutical Press, London
- Saito, T., Morita, T., Inoue, S., Yamamoto, I., and Inokuchi, S., 2008, GC-MS assay for acetaminophen in human hair segments, *Forensic Toxicol*, 26 : 27-30
- Saitoh, M., 1969, *Rate of Hair Growth in Advances in Biology of Skin*, Oxford, Pergamon Press, London, p.183-201
- Wijayaputra, N., 2011, Deteksi Senyawa Metamfetamin (MA) Pada Rambut dengan Metode SIM GC-MS, *Tesis*, Universitas Udayana, Denpasar
- Wirasuta, I.M.A.G. dan Suardamana, K., 2007, *Analisis Toksikologi Tantangan Baru Bagi Farmasi Indonesia*, Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Udayana, Lembaga Forensik Sains dan Kriminologi Universitas Udayana dan Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Rumah Sakit Sanglah, Denpasar