

PENENTUAN KUANTITATIF MORFIN DALAM URIN SECARA SPEKTROFOTODENSITOMETRI

N. M. Suaniti dan M. A. Hitapretiwi Suryadhi

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Telah dilakukan penentuan kuantitatif morfin dalam urin secara spektrofotodensitometri. Larutan baku morfin 5 µg/mL dalam metanol ditotolkan dengan linomat berkisar dari 4–24 µL pada pelat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Spektrofotodensitometri. Larutan tersebut ditotolkan secara seri sehingga diperoleh jumlah morfin sebanyak 20, 40, 60, 80, 100, 120, dan 140 ng.

Berdasarkan perhitungan dan validasi metode analisis, secara statistik diperoleh persamaan garis $y = -69,21 + 8,06 x$ dengan korelasi linear (r) = 0,992. Batas deteksi dan batas kuantisasi masing-masing sebesar 18,02 ng dan 60,06 ng yang dapat diukur pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 287 nm dengan perolehan kembali sebesar 90,91 persen.

Kata kunci: morfin, metanol, panjang gelombang maksimum (λ_{maks}), kromatografi lapis tipis spektrofotodensitometri

ABSTRACT

Quantitative determination of morphine in urine has been done by utilizing spectrophotodensitometry. Morphine standard in methanol 5 µg/mL was spotted by linomat between 4-24 µL in metal sheet thin layer chromatography spectrophotodensitometry using morphine standard of 20.40.60.80.100.120. and 140 ng.

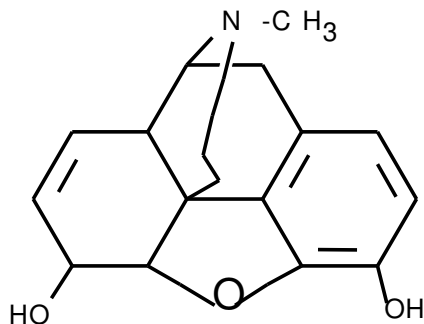
Method. statistically and validation analysis, showed a regression line of $y = -69.21 + 8.06 x$ with $r = 0.992$. Detection and quantitation limits of 18.02 ng and 60.06 ng respectively were measured at maximum wave length of (λ_{maks}) 287 nm with on recovery of 90.91 percent.

Keywords: morphine, methanol, maximum wave length (λ_{maks}), thin layer chromatography spectrophotodensitometry

PENDAHULUAN

Penggunaan obat yang tidak berdasarkan indikasi medis, tidak mengindahkan petunjuk penggunaan yang ada pada kemasan atau petunjuk dokter adalah termasuk penyalahgunaan obat-obatan. Dengan makin meningkatnya jenis obat yang

tersedia dan beredar bebas, maka makin meningkat pula kemungkinan terjadinya penyalahgunaan obat. Morfin termasuk golongan narkotika yang merupakan salah satu jenis obat yang sering disalahgunakan (Sujudi, 1995). Struktur senyawa morfin seperti Gambar 1 berikut: (Lowry, 1979)



Gambar 1. Struktur senyawa morfin

Perdagangan gelap narkotika, psikotropika, dan zat adiktif (NAPZA) telah merambat kepada jutaan orang baik di negara yang maju maupun sedang berkembang. Dampak negatif yang ditimbulkan yaitu mengancam kalangan generasi muda misalnya retardasi kemampuan otak, ketergantungan psikis dan fisik. Tahun 1990, Perserikatan Bangsa-Bangsa (PBB) memperkirakan ada 180 juta orang di seluruh dunia sebagai pengguna obat-obatan terlarang kurang lebih 4,2 % umurnya di atas 15 tahun. Di Indonesia terjadi peningkatan penyalahgunaan morfin dari 3,652 menjadi 5,008 selama periode 1997-1998. Di Bali juga terjadi peningkatan dari 256 menjadi 271 (Anonim, 2002). Peningkatan penyalahgunaan obat terlarang di Bali khususnya dan Indonesia umumnya, sudah mengancam kehidupan baik perorangan maupun masyarakat luas.

Dalam mengembangkan metode analisis obat selalu diusahakan untuk memperoleh metode-metode yang sensitif, tepat, teliti, cepat, dan murah. Beberapa contoh metode analisis obat-obatan antara lain adalah *enzyme multiplied immunoassay (EMIT)*, *radio immunoassay (RIA)*, *thin layer chromatography (TLC)*, *gas liquid chromatography (GLC/GC)*, *high performance liquid chromatography (HPLC)*, dan *gas chromatography-mass*

spectrometry (GC-MS) (WHO, 1988). Masing-masing metode tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan. Beberapa senyawa narkotika tidak berhasil dipisahkan dengan kromatografi cair. Analisis morfin dengan kromatografi gas-cair seperti GC dan GC-MS dapat dilakukan dengan syarat senyawanya harus mudah menguap (*volatile*) (Moffat, 2002). Ternyata juga bahwa deteksi senyawa-senyawa tersebut secara spektrofotometri tidak dapat dilakukan pada satu panjang gelombang yang sama. Untuk itu kromatografi lapis tipis (KLT) sangat memungkinkan untuk analisis kualitatif sekaligus analisis kuantitatif dengan spektrofotodensitometer. Di samping itu juga senyawa hasil analisis setelah dengan KLT maupun spektrofotodensitometer dapat di simpan, diulang untuk analisis selanjutnya dan juga untuk analisis beberapa sampel sekaligus. Oleh karena itu diperlukan perbandingan campuran larutan pengembang yang sesuai agar diperoleh pemisahan yang optimum dalam analisis dengan Kromatografi lapis tipis sebelum dengan spektrofotodensitometri.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari asam fosfat, eter, amonia, kloroform, asam hidroklorida, etil asetat, isopropanol, toluena, metanol, natrium hidroksida, aseton, dan etanol. Baku morfin diperoleh dari Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM). Sampel simulasi dibuat dari urin yang ditambah 30 ng morfin 5 µg/mL.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: alat-alat gelas,

timbangan analitik (Chyo MP 3000), *micro syringe* 100 μL , Camag linomat IV, pH-meter (Hanna), Spektrofotodensitometer Shimadzu dual-wavelength chromatogram scanning model CS-9000), Sonikator (Bronson 1200), oven (Fisher Vacuum Oven), Sentrifuga (Janetski TS) dan Autoclave (Hirayana).

Cara Kerja

Larutan baku morfin 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dibuat dengan cara menimbang 0,5656 g morfinhidroklorida dilarutkan dengan aquades sampai 100,0 mL. Selanjutnya larutan morfin 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ditotolkan berturut-turut 4,8,12,16,20, 24 dan 28 μL pada pelat kromatografi lapis tipis silica gel GF 254 siap pakai. Sehingga diperoleh jumlah penotolan larutan morfin berturut-turut 20, 40, 60, 80, 100, 120, dan 140 ng.

Selanjutnya pelat dikembangkan ke dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan campuran larutan pengembang toluene-aseton-etanol-amonia dengan perbandingan 45 : 45 : 7 : 3. Saat pengembang telah mencapai tanda batas pelat diangkat dan dikeringkan. Bercak diamati dengan spektrofotodensitometer. Masing-masing noda diukur luasnya dengan spektrofotodensitometer pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 287 nm (Moffat, 2002; Rokus, 1992).

Setelah sampel urin simulasi diekstraksi dengan pelarut terpilih, selanjutnya dianalisis dengan KLT-spektrofotodensitometer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Campuran larutan pengembang yang dicoba adalah kloroform-metanol (9:1), etil asetat-metanol ammonia (85:10:5), dan toluena-aseton-etanol-amonia (45:45:7:3). Pelarut untuk ekstraksi sampel urin simulasi yang telah dilakukan adalah etil asetat-

isopropanol (9:1), kloroform-isopropanol (3:1), dan kloroform.

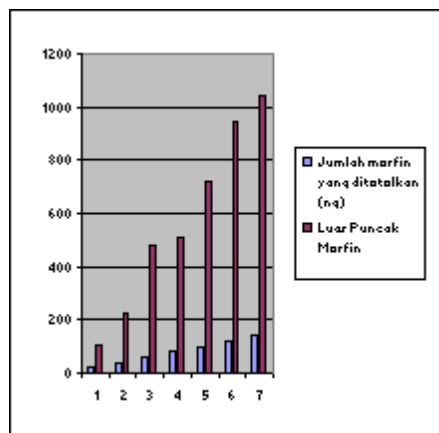
Larutan pengembang dipilih toluene : aseton : etanol:amonia dan pelarut pengestraksi dipilih etilasetat-isopropanol. Ke dalam 5 mL sample urin ditambahkan asam fosfat sampai pH 3, kemudian diekstraksi dengan 2x15 mL eter. Ke dalam lapisan air ditambahkan ammonia sampai pH 8 dan diekstraksi dengan 2x5 mL kloroform. Lapisan air berikutnya ditambah asam klorida pekat sampai pH 3, kemudian dipanaskan 100°C selama 30 menit. Setelah larutan didinginkan kemudian diekstraksi kembali dengan 2x5 mL eter. Lapisan air hasil ekstraksi ditambah NaOH sampai pH 9, lalu diekstraksi dengan etilasetat-isopropanol (9:1). Lapisan organik hasil ekstraksi diuapkan sampai kering kemudian ditambah 5 mL metanol.

Kurva kalibrasi ditentukan dengan perhitungan luas puncak yang dihasilkan dari penotolan baku morfin dengan konsentrasi 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pada satu seri jumlah baku morfin 20,40,60,80,100,120, dan 140 ng pada panjang gelombang maksimum 287 nm. Data luas puncak baku morfin adalah seperti ditunjukkan dalam Tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Data jumlah yang ditotolkan versus Luas puncak morfin

Jumlah (ng)	Luas puncak
20	101,3
40	227,4
60	477,4
80	512,7
100	718,5
120	948,2
140	1045,6

Grafik hubungan jumlah morfin yang ditotolkan versus luas puncak morfin sebagai berikut:



Gambar 2. Grafik hubungan jumlah morfin versus luas puncak

Berdasarkan perhitungan diperoleh persamaan garis regresi $y = -69,21 + 8,06 x$, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,992. yang diperoleh dari metode ekstraksi morfin dalam sampel urin yang optimum dengan etilasetat-isopropanol. Penggunaan kloroform untuk mengekstraksi morfin ternyata kurang baik, mengingat kelarutan etilasetat dalam air adalah 1: 15 sedangkan kelarutan kloroform dalam air adalah 1: 200 (Lowry, 1979) . Berdasarkan sifat kelarutan tersebut di atas dapat dikatakan bahwa etilasetat bersifat lebih polar dibandingkan kloroform atau lebih tepatnya bersifat semi polar. Demikian juga dengan penambahan isopropanol (9:1) pada etilasetat dapat menarik larutan tersebut ke arah polar ternyata menjadikan morfin yang berada pada keadaan isoelektrik menjadi lebih banyak tertarik ke dalam fase organik tersebut.

Batas deteksi yang dihitung secara statistik pada taraf 95 % tidak berbeda nyata dan dapat diterima. Berdasarkan

perhitungan ternyata bahwa morfin mempunyai batas deteksi 18,02 ng, sedangkan berdasarkan percobaan yang dilakukan diperoleh batas deteksi sebesar 15 ng. Perolehan batas deteksi baik secara perhitungan maupun percobaan adalah valid, sesuai dengan ketentuan yang tercantum pada literatur (Moffat, 2002). Literatur menunjukkan bahwa batas deteksi untuk KLT yang dianalisis dengan spektrofotodensitometer dengan sistem absorbansi berada pada rentang 10-100 ng. Perolehan pengukuran dengan spektrofotodensitometer yang digunakan masih memiliki sensitivitas baik terbukti dapat menghasilkan suatu pengukuran yang valid. Perbedaan hasil pengukuran alat dengan perhitungan tidaklah terlalu besar mengingat perbedaan dalam skala nanogram.

Persentase perolehan kembali kadar morfin dalam urin simulasi adalah 92,31 ; 93,14 ; dan 89,68 % dengan simpangan baku dan koefisien variasi masing-masing sebesar 2,55 dan 2,78.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pelarut pengembang yang sesuai untuk morfin adalah toluena:aseton:etanol:amonia dengan perbandingan 45:45:7:3 dan panjang gelombang maksimum adalah 287 nm.

Persamaan garis regresi morfin diperoleh $y = -69,21 + 8,06x$ dengan $r = 0,992$ dengan jumlah morfin yang ditotolkan secara seri 20,40,60,80,100, dan 120 ng. Batas deteksi adalah 18,02 ng dan perolehan kembali morfin sebesar 90,91 %.

Saran

Lebih lanjut, perlu dilakukan penelitian tentang sampel urin dalam morfin

dan turunannya untuk memperoleh pemisahan yang optimum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNUD dan Kepala Lab. Forensik Kepolisian Republik Indonesia Cabang Denpasar Bali, atas izin yang diberikan untuk menggunakan peralatan KLT-Spektrofotodensitometer. Ucapan terimakasih disampaikan pula kepada Kepala Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) Denpasar Bali, atas izin pemakaian bahan baku morfin.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2002, *Data Pasien NAPZA di Propinsi Bali*, Departemen Kesehatan Denpasar.
- Lowry, W.T. and Garriot, J.C., 1979, *Forensic Toxicology Controlled Substances and Dangerous Drugs*, New York; *Plenum Press*, 302-303.
- Moffat, A.C., 2002, *Clark's Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Post Mortem Material*, London: *The Pharmaceutical Press*, 2nd., 10,11,167
- Sujudi, Adhyatma, Slamet Susilo, dan Wisnu Katim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- WHO, 1988, *The International Pharmacopoeia*, 3th Ed., 3, Geneva.