

LAJU HIDROLISIS HEROIN DALAM AIR DAN PLASMA

I M. A. G. Wirasuta*, M. A. Ningtyas, E. I. Setyawan

*Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana
Jimbaran, Bali, Indonesia*

**e-mai: gelgel.wirasuta@unud.ac.id*

ABSTRAK

Heroin terhidrolisis secara spontan di dalam air dan darah. Proses ini dapat berpengaruh pada hasil akhir penetapan kadar, khususnya pada analisis *drug profiling*. Spektrofotodensitometri digunakan untuk uji drug profiling sediaan heroin ilegal. Dalam penelitian ini dilaporkan analisis heroin, asetilkodein, 6-monoasetilmorfin (6-MAM) dan morfin menggunakan TLC-Spektrofotodensitometri dan pemanfaatannya untuk menentukan laju hidrolisis heroin dalam air dan plasma. Heroin, asetilkodein, 6-MAM, dan morfin dapat dipisahkan dengan baik menggunakan fase gerak campuran pelarut: toluen: sikloheksan:dietilamin (75:15:10, v/v). Batas deteksi penetapan kadar heroin menggunakan Al-TLC Si GF₂₅₄ spektrofotodensitometri pada λ 212 nm adalah 165,16 ng/spot, sedang batas kuantitasnya adalah 550,53 ng/spot. Heroin dalam air terhidrolisis mengikuti reaksi orde pertama dengan tetapan laju 0.055 min⁻¹ dan waktu paruh 12,47 menit, sedangkan di plasma laju hidrolisisnya lebih lambat dengan waktu paruh 16 menit.

Kata kunci: Heroin, TLC-spektrofotodensitometri, laju hidrolisis

ABSTRACT

Heroin is hydrolyzed spontaneously in water and plasma. This will influence the determination, especially on the drug profiling. Spectrophotodensitometry has been used to analyze drug profiling of illicit heroine. This article reports the AL-TLC separation of heroine, 6-monoacetylmorphine (6-MAM), morphine, acetyl codeine, and the heroine hydrolysis in water and plasma. Heroin, 6-MAM, morphine, and acetyl codeine can be well-separated by mobile phase of toluene:siclohexane:diethyl amine (75:15:10, v/v). The limit of detection was 165.16 ng/spot and the limit of quantification was 550.55 ng/spot. Heroine was hydrolyzed in water and plasma under first order reaction. The rate of reaction was 0.55 min⁻¹ in water with the half time reaction of 12.47 minutes. On the other hand the hydrolysis rate in plasma was slower with the half time of 16 minutes.

Keywords : hydrolysis, heroin, water, TLC-spectrophotodensitometer

PENDAHULUAN

Heroin adalah narkotika golongan I. Morfin direaksikan dengan asam asetat anhidrat membentuk diasetilmorfin (heroin). Heroin terhidrolisis secara spontan di dalam lingkungan berair membentuk 6-monoasetilmorfin. Waktu paruh alu hidrolisis ini berkisar sekitar 3 menit (Bogus, 2001) Hidrolisis 6-monoasetilmorfin berlangsung lebih lambat berkisar 10-50 menit (Osborne *et al.*, 1990).

Drug profiling adalah analisis khrakterisasi sifat fisika dan kimia narkotika ilegal, yang meliputi elusidasi kandungan kimia sediaan narkotika menggunakan metode kromatografi. Komposisi kandungan kimia narkotika, yang tersusun dalam puncak-puncak kromatogram, dapat dilihat sebagai profil

kromatogram atau profil sidik jari narkotika tersebut. Profil kromatogram ini dianalisa kedekatannya menggunakan analisis multivariat dan dikelompokkan berdasarkan kemiripan kandungan dan komposisi jumlah kandungannya (Wirasuta, 2012). Pengelompokan dapat dimanfaatkan oleh polisi narkotika guna menelusuri jalur peredarannya.

Hidrolisis selama proses analisis dapat mengakibatkan perbedaan komposisi kandungan heroin, seperti penurunan kadar heroin yang terdeteksi, terdeteksinya 6-MAM atau morfin sebagai senyawa hasil urai selama proses analisis atau peredarannya. Perubahan komposisi ini dapat memberikan perbedaan karekteristik *drug profiling*, sehingga memberikan kesalahan identitas sidik kromatografi heroin. Kesalahan akan berpengaruh pada pengelompokan dan

prunutan jalur peredaran narotika. Dalam penelitian ini dilaporkan laju hidrolisis heroin di dalam lingkungan air menggunakan AL-TLC spektrofotodensitometri.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan antara lain morfin HCl dan dekstrometorfan HBr diperoleh dari PT Kimia Farma. Semua pelarut dan pereaksi kimia yang digunakan adalah dengan derajat pro analisis: etanol, metanol, kloroform, dietilamin, ammonia, toluen, aseton, sikloheksan, natrium hidroksida, natrium klorida, isopropanol, dan KH_2PO_4 . Plat kromatografi lapis tipis silika GF_{254} dengan ketebalan 0,25 mm, pelat kromatografi lapis tipis kinerja tinggi silika GF_{254} dengan ketebalan 0,2 mm, kertas saring *nitrous cellulose* (Whatman).

Peralatan

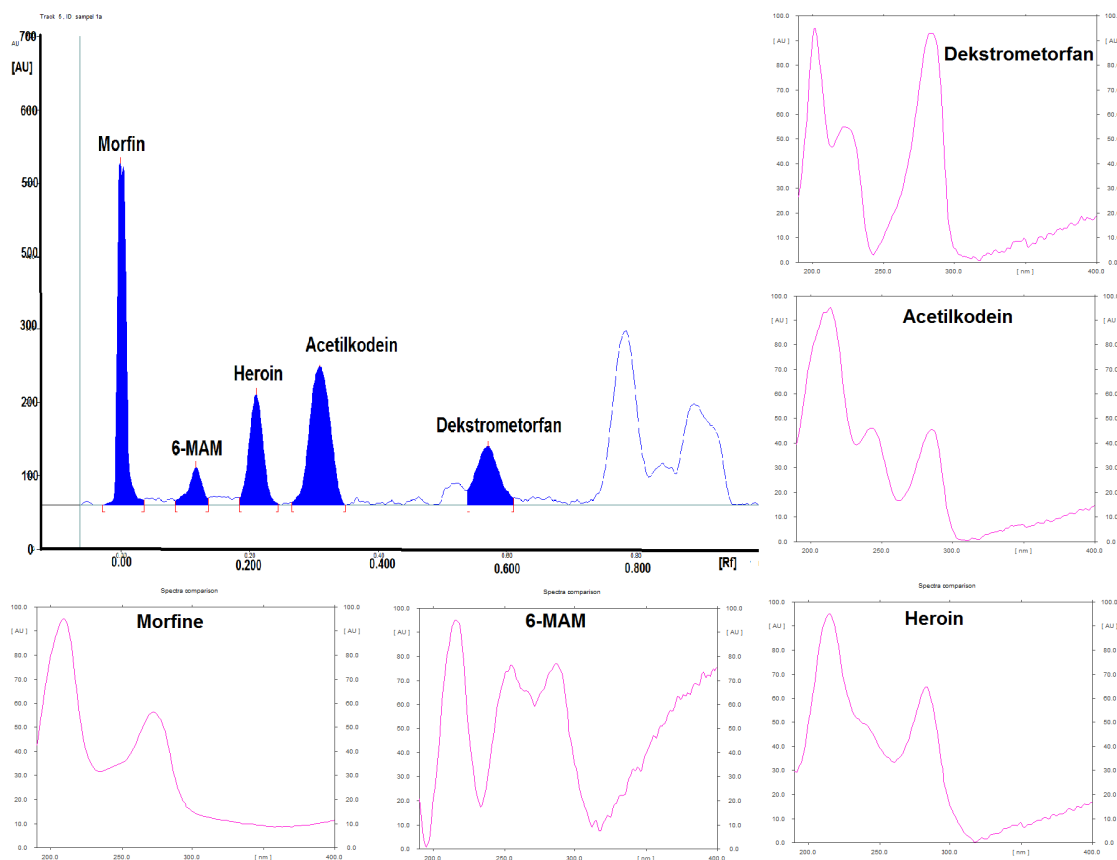
Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi alat-alat gelas yang umum digunakan

dalam laboratorium analisis, timbangan analitik, alat pengocok mekanik, alat sentrifugasi, oven, tangas air, pH meter, *stirer*, *syringe aplikator* 100 μl (*Camag-Muttenz-Switzerland*), bejana kromatografi lapis tipis tipe *twin chamber* (*Camag-Muttenz-Switzerland*), instrumen aplikator sampel Linomat V (*Camag-Muttenz-Switzerland*), TLC scanner 3 (*Camag-Muttenz-Switzerland*), kabinet lampu UV 254/366 nm (*Camag-Muttenz-Switzerland*).

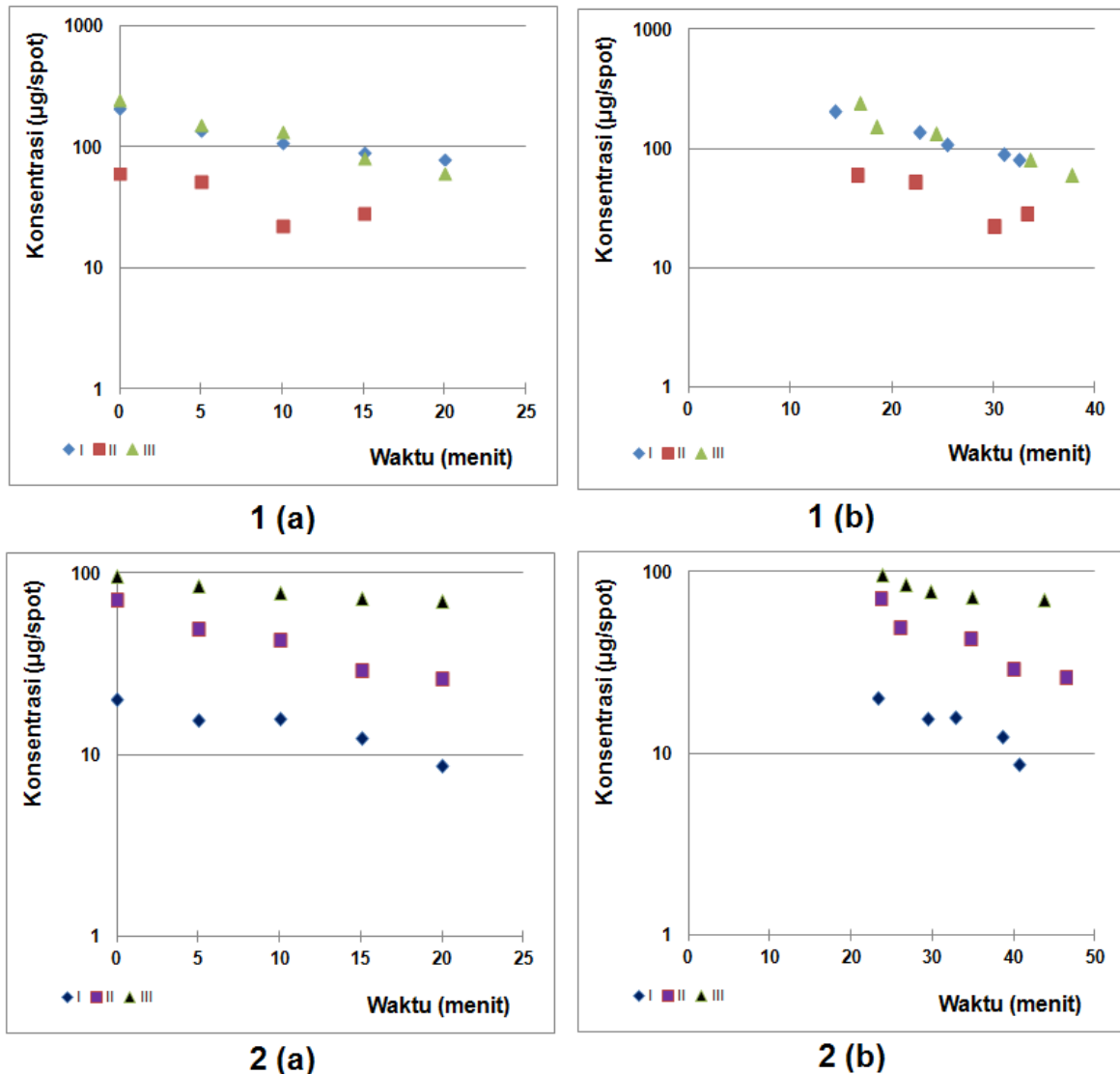
Cara kerja

Sintesa heroin.

Morfin HCl sebanyak 1 g dimasak dengan asam asetat anhidrat sebanyak 10 mL menggunakan alat sokhlet di atas kompor langsung selama 9 jam. Campuran ditambahkan larutan Na-karbonat hingga tidak berbuih dan ditambahkan amoniak pekat sedikit demi sedikit hingga terbentuk endapan. Endapan yang terbentuk lalu disaring menggunakan kertas saring *whatman* dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 70 $^{\circ}\text{C}$ hingga diperoleh serbuk. .



Gambar 1. Densitogram dan in-situ spektrum pemisahan Morfin, 6-Monoacetilmorfin (6-MAM), Heroin, Acetilkodein dan Dekstrometorfan



Gambar 2. Profil konsentrasi hidrolisis heroin dalam air 1 (a-b) dan dalam plasma (2 (a-b))

Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ).

Larutan heroin dengan konsentrasi 25, 100, dan 150 ng/µL dengan internal standard dekstrometorfan 160 ng/µL di totolkan sebanyak 10,0 µL pada plat AL-TLC menggunakan Linomat V (Camag). Chember dijenuhkan dengan campuran pelarut: toluen: sikloheksan:dietilamin (75:15:10, v/v) selama 30 menit, kemudian dielusi hingga tanda batas. Plat kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60⁰C selama 10 menit. Plat dipindai dengan TLC-Scanner 3 dengan panjang gelombang 212 nm. Luas area dari masing-masing sampel dan konsentrasi dicatat dan dihitung batas deteksi dan kuantitasnya.

Prosedur Hidrolisis

Dibuat 3 seri konsentrasi larutan campuran heroin dan dekstrometorfan, yaitu: A: 240µg/ml heroin dan 160µg/ml dekstrometorfan; B: 288µg/ml heroin dan 160µg/ml dekstrometorfan, C: 400µg/ml heroin dan 160µg/ml dekstrometorfan. Laju hidrolisis dalam air: Lima belas tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing seri konsentrasi larutan campuran heroin. Lima belas seri pertama ditambahkan 120 µL larutan seri A, 15 tabung seri kedua ditambahkan 120 µL seri B, dan 15 tabung reaksi seri ketiga ditambahkan 120 µL seri C. Setiap tbung reaksi ditambahkan 2 mL air kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C. Sampling dilakukan pada rentang waktu 0, 5, 10, 15, dan

20 menit. Setiap sampling diambil 3 tabung reaksi dari masing-masing seri.

Dalam media plasma

Seperti pada percobaan laju hidrolisis heroin dalam air, setiap tabung reaksi yang telah berisi 120 µL larutan campuran heroin ditambahkan 2 mL cairan plasma. Sampling dan inkubasi dilakukan seperti pada percobaan laju hidrolisis dalam air.

Ekstraksi:

Sebanyak 0,5 mL larutan incobasi heroin dalam air dipindahkan kedalam tabung ekstraksi yang baru, kemudian ditambahkan 1 mL larutan 0,2 M buffer fosfat pH 9,3, dan 4 mL campuran: isopropanol:klorofom (1:3). Ekstraksi heroin dari larutan plasma dilakukan dengan mengambil 0,5 mL larutan percobaan plasma, ditambahkan 1 mL larutan 0,2 M buffer fosfat pH 9,3 , 1 gram NaCl, dan 4 mL campuran: isopropanol:klorofom (1:3). Campuran larutan dikocok dengan pengaduk pada 3000 rpm selama 5 menit, emulsi dipisahkan dengan sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Fase klorofom dipisahkan dan sebanyak 25µL di totolkan pada plat Al-TLC silika GF₂₅₄ menggunakan linoman V. Plat dielusi seperti pada prosedur penetapan LOD dan LOQ.

Analisis Data.

Konsentrasi heroin pada masing-masing interval waktu, ditentukan nilai tetapan laju reaksi (*k*) dengan plot dalam grafik

semilogaritme vs waktu inkubasi. Tetapan *k* dihitung menggunakan reaksi orde ke pertama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Validasi metode KLT

RS _{morfin:6-MAM}	1,8
RS _{6-MAM:heroin}	1,2
RS _{heroin:acetilkodein}	1,1
RS _{acetilkodein:dekstrometorfam}	3,6
Persamaan regresi	y= 0,0033x+0,1888,
Koefisien regrasi	0,996
LOD	165,16 ng/spot
LOQ	550,53 ng/spot
Perolehan kembali	88,61 ± 12,93 %

Tabel 1 menampilkan hasil validasi metode analisis yang digunakan, sedangkan gambar 1 menggambarkan hasil pemisahan sistem KLT. Fase gerak mampu memisahkan senyawa-senyawa uji dengan baik RS> 1. Dekstrometorfam terpisah jauh dari senyawa morfin, 6-MAM, heroin dan acetilkodein, sehingga tepat digunakan sebagai internal standar dalam ekstraksi hasil hidrolisis heroin. Koefisien regrasi mendekati 1 menggambarkan respon alat pada rentang pengukuran λ=212 adalah sangat linear. Perolehan kembali menggunakan internal standar memenuhi kriteria persentase perolehan kembali menurut FDA yaitu antara 80-120%. Berdasarkan data diatas sistem KLT dapat digunakan untuk menetapkan laju hidrolisis heroin

Tabel 2. Persamaan laju hidrolisis heroin dalam medium air dan plasma

Tidak memperhitungkan waktu ekstraksi		Memperhitungkan waktu ekstraksi	
Persamaan Regresi	R ²	Persamaan Regresi	R ²
laju hidrolisis dalam medium air			
y = -0.0297x + 2.3822	0.9806	y = -0.0225x + 2.6392	0.9887
y = -0.0271x + 1.7803	0.7093	y = -0.0251x + 2.2169	0.8258
y = -0.0202x + 2.274	0.9443	y = -0.0251x + 2.7402	0.9423
laju hidrolisis dalam medium plasma			
y = -0.0166x + 1.312	0.9078	y = -0.0183x + 1.7486	0.8682
y = -0.022x + 1.8317	0.9686	y = -0.0178x + 2.2175	0.9127
y = -0.007x + 1.9718	0.9573	y = -0.0178x + 2.2175	0.9127

Pada Gambar 1 (a) dan 2 (a) tidak mempertimbangkan waktu ekstraksi dan gambar 1(b) dan 1(b) mempertimbangkan waktu dalam perhitungan persamaan laju hidrolisis. Tabel 2 menampilkan persamaan laju hidrolisis dalam medium air dan plasma. Laju hidrolisis heroin mengikuti orde ke pertama baik pada medium air maupun plasma. Heroin dilaporkan terhidrolisis secara spontan dalam medium air dengan laju reaksi orde ke pertama (Smith et. al. 1978) Pertimbangan memasukkan waktu ekstraksi dalam perhitungan persamaan laju tidak memberi perubahan yang signifikan terhadap koefisien regresi persamaan laju. Hal ini menandakan baik dalam proses inkubasi dan ekstraksi heroin terhidrolisis pada orde yang sama. Hidrolisis heroin dalam plasma divisilitasi oleh enzim kolinesterasi (Lockridge, O, et al. 1980). Tetapan laju hidrolisis heroin dalam air lebih tinggi jika dibandingkan dengan dalam plasma. Hal ini menandakan reaksi hidrolisis spontan berlangsung lebih cepat jika dibandingkan dengan hidrolisis terfasilitasi oleh enzim. Waktu paruh hidrolisis dalam air berkisar 12-13 menit, sedangkan dalam plasma 16 menit. Waktu paruh yang ditemukan lebih lambat jika dibandingkan pada waktu paruh heroin di dalam tubuh (Bogus, 2001)

Tabel 3. Tetapan Laju hidrolisis heroin dalam air dan plasma

Variasi	k(menit ⁻¹)	t ½ (menit)
dalam medium air		
I	0,0518	13,39
II	0,0577	12,01
III	0,0577	12,01
dalam medium plasma		
I	0,0421	16,47
II	0,0409	16,93
III	0,0409	16,93

KESIMPULAN

Heroin mengalami hidrolisis spontan dalam medium air dan plasma. Laju hidrolisis relatif lebih lambat di dalam plasma jika dibandingkan pada medium air. Selama proses ekstraksi heroin juga mengalami hidrolisis.

DAFTAR PUSTAKA

- Bogusz, M. J., Maier, R. D., Erkens, M. dan Kohls, U. 2001. Detection of non-prescription heroin markers in urine with liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.*, 25: 431-438.
- Lockridge, O., Mottershaw-Jackson, N., Eckerson, H. W., La Du, B. N. 1980. Hydrolysis of diacetylmorphine (heroin) by human serum cholinesterase. *J Pharmacol Exp Ther*, 215(1):1-8.
- Osborne, R., Joel, S., Trew, D., UND Slevin, M. 1990. Morphine and metabolite behavior after different routes of morphine administration, Determination of the importance of the active metabolite morphin-6-glucuronide, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 47:12-19.
- Smith, P. T., Hirst, M., Gowdey, C. W. 197. Spontaneous hydrolysis of heroin in buffered solution, *Can J Physiol Pharmacol*, 56(4): 665-667.
- Wirasuta, I M. A. G. 2012. Chemical profiling of ecstasy recovered from around Jakarta by High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)-densitometri, *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 2: 97-104.