

ANALYSIS OF PARACETAMOL LEVELS IN BLOOD AND SERUM

ANALISIS KADAR PARACETAMOL PADA DARAH DAN SERUM

Nyoman Sudarma¹, I Putu Gede Subhaktiyasa²

Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga STIKes Wira Medika Bali, Indonesia

ABSTRAK

Paracetamol merupakan golongan obat analgesik yaitu penahan rasa sakit/nyeri dengan cara kerja menghambat sintesis prostaglandin terutama di sistem saraf pusat. Paracetamol yang diberikan secara oral akan diserap cepat dan mencapai kadar serum puncak dalam waktu 30-120 menit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar paracetamol pada darah dan serum. Sampel yang digunakan adalah sampel darah dan serum dari responden yang mengkonsumsi obat paracetamol 500 mg. Sampel darah diambil 2 jam setelah mengkonsumsi obat paracetamol. Untuk mendapatkan serum, darah harus dilakukan proses sentrifugasi, dengan proses sentrifugasi zat-zat pengganggu dalam darah dapat diminimalkan. Analisis kadar paracetamol pada darah dan serum secara kualitatif dianalisis menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS). Ekstraksi paracetamol pada sampel darah dan serum menggunakan metode *Solid Phase Extraction* (SPE). Hasil ekstraksi diderivatisasi menggunakan BSTFA yang mengandung TMCS 1% dan dianalisis menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS). Analisis kuantitatif dilakukan dengan menghitung kadar paracetamol menggunakan rumus persamaan garis regresi $y = 50207x + 56321$. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sampel darah dan serum menunjukkan positif paracetamol pada *retention time* 15.056 dan 15.101. Kadar paracetamol pada sampel darah yaitu 175,2 ppm dan kadar paracetamol pada sampel serum yaitu 56,7 ppm.

Kata kunci: Paracetamol, Darah, Serum, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*.

ABSTRACT

Paracetamol is a group of analgesics that is pain relief in the way of work and inhibits the synthesis of prostaglandins especially in the central nervous system. Paracetamol given orally will be absorbed quickly and reach peak serum levels within 30-120 minutes. The purpose of this research is to determine the level of paracetamol in blood and serum. The sample used were blood and serum samples from respondents who consumed the 500 mg paracetamol drug. Blood samples were taken 2 hours after consuming the drug paracetamol. To get serum, blood must be centrifuged, with the process of centrifugation of confounding substances in the blood can be minimized. Qualitative analysis of paracetamol levels in blood and serum was analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Paracetamol extraction on blood and serum samples using the Solid Phase Extraction (SPE) method. The extraction results were

derivatized using BSTFA containing 1% TMCS and analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Quantitative analysis was performed by calculating paracetamol levels using the equation of the regression line $y = 50207x + 56321$. The results of this research showed that blood and serum samples showed positive paracetamol at 15,056 and 15,101 retention times. The level of paracetamol in blood samples was 175,2 ppm and the level of paracetamol in serum samples was 56,7 ppm.

Keywords: *Paracetamol, Blood, Serum, Gas Chromatography-Mass Spectrometry.*

Alamat Korespondensi : STIKes Wira Medika Bali

Email : sudarma842@gmail.com

PENDAHULUAN

Paracetamol adalah golongan obat analgesik non opioid yang dijual secara bebas. Indikasi paracetamol adalah untuk sakit kepala, nyeri otot sementara, sakit menjelang menstruasi, dan diindikasikan juga untuk demam. Obat ini menjadi pilihan analgesik yang relatif aman bila dikonsumsi dengan benar sesuai petunjuk penggunaan (Anief, 2009).

Paracetamol yang diberikan secara oral diserap cepat dan mencapai kadar serum puncak dalam waktu 30-120 menit. Adanya makanan dalam lambung akan sedikit memperlambat penyerapan sediaan paracetamol. Paracetamol terdistribusi dengan cepat pada hampir seluruh jaringan tubuh. Lebih kurang 25% paracetamol dalam darah terikat pada protein plasma. Waktu paruh paracetamol adalah 1,25-3 jam. Penderita kerusakan hati dan konsumsi paracetamol dengan dosis toksis dapat memperpanjang waktu paruh zat ini. Paracetamol diekskresikan melalui urin sebagai metabolitnya, yaitu *asetaminofen glukoronid*, *asetaminofen sulfat*, *merkaptat* dan bentuk yang tidak berubah (3-5%) (Olson, 2007).

Banyak kesalahan dalam mengkonsumsi obat ini, karena digunakan secara terus menerus untuk menghilangkan gejala sakit yang timbul. Karena paracetamol merupakan obat bebas yang digunakan secara luas oleh masyarakat, maka kemungkinan terjadinya kesalahan dalam penggunaan yang dapat menyebabkan keracunan paracetamol cukup besar (Olson, 2007).

Ada beberapa penelitian mengenai paracetamol pada cairan tubuh yang telah dilakukan. Penelitian dilakukan diantaranya oleh Eriawan (2014) dengan judul penelitian Aplikasi Metode HPTLC–Spektrofotodensitometri Dalam Pengukuran Kadar Paracetamol Pada Urin, penelitian ini menggunakan ekstraksi fase padat *Solid Phase Extraction* (SPE) dan didapatkan hasil rata-rata kadar Paracetamol yang diperoleh yaitu 6,76 ppm.

Penelitian yang dilakukan oleh Darmapatni (2014) dengan karya ilmiah yang berjudul Analisis Kualitatif Senyawa Paracetamol (Acetaminophen) Pada Urin Dan Rambut Menggunakan Kromatografi Gas – Spektrometri Massa (GC-MS), dalam penelitian ini digunakan ekstraksi fase padat *Solid Phase Extraction* (SPE), hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel urine dari 1 jam hingga sehari setelah mengonsumsi tablet paracetamol, positif acetaminophen-TMS dan pada sampel rambut hasil positif telah ditunjukkan pada 1 jam hingga 720 jam setelah mengonsumsi tablet paracetamol.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Soysa dan Kolambage (2010) mengenai metode HPLC/UV cepat untuk analisis konsentrasi paracetamol urin dan plasma/serum, dilakukan proses sentrifugasi pada $\times 10.000$ g protein yang dihilangkan secara memadai dan residu tak larut lainnya dari serum, plasma, dan urin. Untuk mendapatkan serum, darah harus dilakukan proses sentrifugasi. Proses sentrifugasi ini perlu dilakukan untuk memisahkan darah dengan komponennya, agar komponen tersebut tidak mempengaruhi hasil pemeriksaan (Nugraha, 2015). Menurut Sadikin (2014) darah yang telah disentrifugasi akan tampak gumpalan darah yang bentuknya tidak beraturan dan bila penggumpalan berlangsung sempurna, gumpalan darah tersebut akan terlepas atau dengan mudah dapat dilepaskan dari dinding tabung. Selain itu akan tampak pula bagian cair dari darah. Bagian ini, karena sudah terpisah dari gumpalan darah maka tidak lagi berwarna merah keruh akan tetapi berwarna kuning jernih. Diharapkan paracetamol yang ada dalam serum sebagai hasil yang didapatkan lebih baik dibandingkan dalam darah. Dengan adanya perlakuan sentrifugasi, zat-zat pengganggu akan hilang, maka dengan hilangnya zat-zat pengganggu tersebut pengukuran paracetamol akan jauh lebih baik.

Analisis kadar paracetamol pada darah dan serum menggunakan metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Proses ekstraksi sampel menggunakan ekstraksi fase padat atau *Solid Phase Extraction* (SPE). *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS) mampu mendeteksi kadar obat dengan konsentrasi kurang dari $1\mu\text{g/L}$ dan membutuhkan waktu pengerjaan yang relatif singkat (Wirasuta, 2007).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu penelitian eksperimental dengan melakukan pemeriksaan kadar paracetamol pada darah dengan perlakuan disentrifugasi dan tidak disentrifugasi. Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – Februari 2020. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Forensik Cabang Denpasar. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel darah dan serum dari 1 orang responden yang mengkonsumsi obat paracetamol 1 tablet (500 mg). Sampel darah diambil 2 jam setelah mengkonsumsi obat paracetamol. Proses pemeriksaan sampel dilakukan sebagai berikut :

Pengambilan sampel darah dan serum

Dilakukan pengambilan sampel darah vena sebanyak 6 cc, 3 cc untuk sampel darah dengan menggunakan tabung vacutainer tutup ungu dan 3 cc untuk sampel serum dengan menggunakan tabung vacutainer tutup merah. Dilakukan proses sentrifugasi pada tabung vacutainer tutup merah untuk memperoleh serum.

Ekstraksi sampel darah dan serum

Penelitian ini dilanjutkan dengan proses ekstraksi sampel darah dan serum menggunakan SPE (*Solid Phase Extraction*). Masing-masing sebanyak 3 cc darah dan serum, dimasukkan ke dalam *catridge* yang sudah berisi kertas *whatman* dan *silica gel*. Setelah sampel mencapai batas bawah, kemudian dielus dengan kloroform sebanyak 15 mL, ditunggu sampai terdapat tetesan hasil ekstraksi. Hasil ekstraksi kemudian dikeringkan di dalam *laminar airflow* sampai tersisa 1 mL. Sebanyak 1 mL eluat disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan yang diperoleh kemudian ditampung di dalam tabung mikro kemudian

diderivatisasi. Supernatan diderivatisasi dengan ditambahkan BSTFA sebanyak 10 μ l. Tabung disegel menggunakan aluminium foil kemudian dipanaskan dengan suhu 60°C selama 30 menit. Setelah dipanaskan, sampel didinginkan sampai suhu kamar, kemudian siap diinjeksikan pada GC-MS.

Preparasi Larutan Standar Paracetamol

Ditimbang 1 butir tablet (500 mg) paracetamol, kemudian digerus menggunakan mortir dan stemper hingga halus. Pembuatan larutan standar paracetamol 100 ppm dengan cara ditimbang 2,59 mg serbuk paracetamol kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas. Pembuatan larutan standar paracetamol 3, 7 dan 10 ppm dengan cara dipipet 0,3, 0,7 dan 1 mL larutan standar paracetamol 100 ppm kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu diencerkan dengan metanol sampai tanda batas. Seluruh larutan standar diderivatisasi sebelum diinjeksikan ke sistem GCMS.

Pengkondisian 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.

Dalam penelitian ini analisis data disajikan dalam bentuk tabel. Data di analisis secara kualitatif dan kuantitatif. Untuk analisa kualitatif akan dilihat dari nilai Rt (*Retention time*) yang keluar pada GC-MS. Nilai Rt (*Retention time*) sampel akan dibandingkan dengan nilai Rt (*Retention time*) pada standar paracetamol. Untuk analisa kuantitatif akan dilihat dari nilai luas puncak sampel digunakan untuk menghitung kadar sampel melalui rumus persamaan garis regresi kurvakalibrasi. $y = mx + a$.

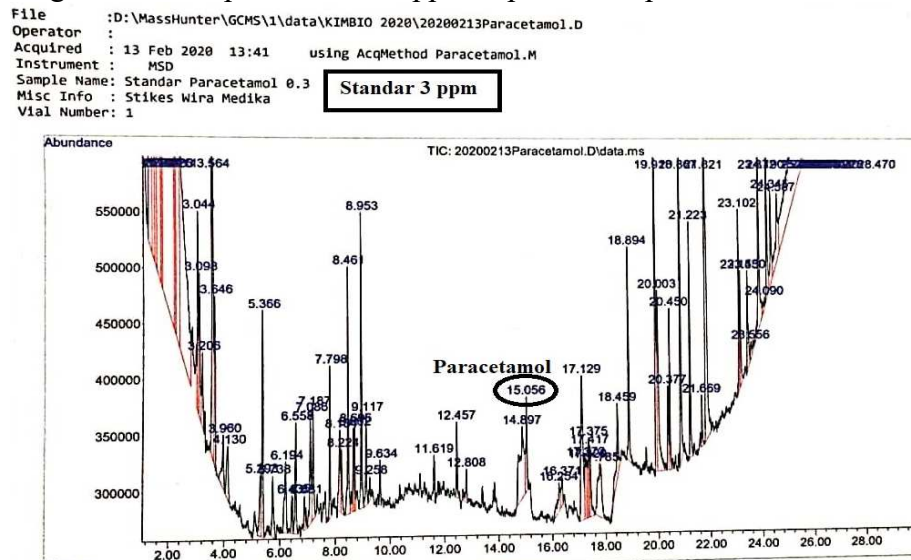
HASIL DAN DISKUSI

Tabel 1. Hasil Analisis Kadar Paracetamol Pada Darah Dan Serum

	Volume	<i>Retention Time</i>	Luas Puncak	Kadar (ppm)
Larutan Standar 1	1 μ L	15.056	2542499	3 ppm
Larutan Standar 2	1 μ L	15.120	4851224	7 ppm
Larutan standar 3	1 μ L	15.169	4900530	10 ppm
Sampel Darah	1 μ L	15.056	8853183	175,2 ppm
Sampel Serum	1 μ L	15.101	2903979	56,7 ppm

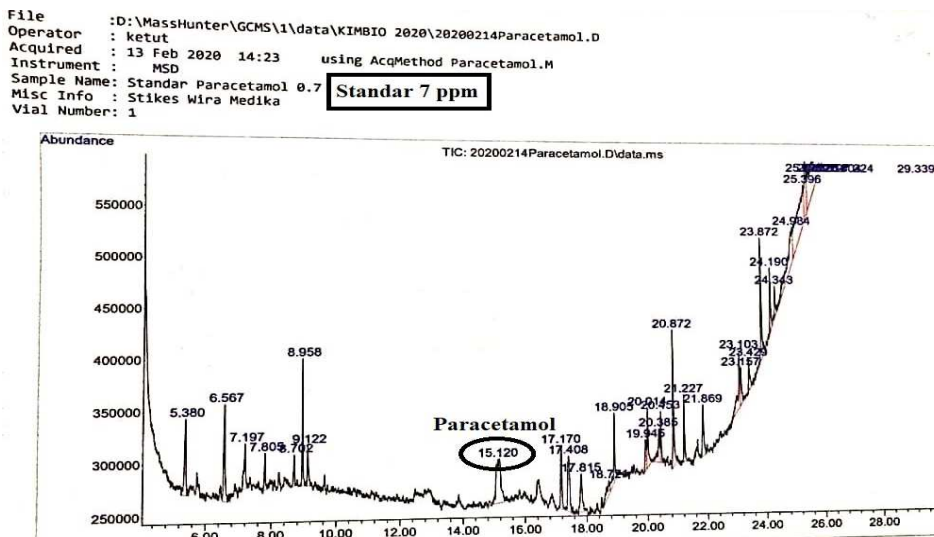
Berdasarkan Tabel 1, pada sampel darah dan sampel serum responden yang mengkonsumsi obat paracetamol pada pengambilan 2 jam setelah mengkonsumsi obat paracetamol, terdeteksi hasil positif senyawa paracetamol yang ditunjukkan dengan nilai *retention time* yang sama atau mendekati dengan nilai *retention time* pada larutan standar paracetamol. Pada sampel darah nilai *retention time* nya yaitu 15.056, pada sampel serum nilai *retention time* nya yaitu 15.101.

Berdasarkan analisis kadar parasetamol pada darah dan serum yang telah dilakukan, hasil pemeriksaan sampel secara kualitatif dapat diketahui dari kromatogram yang berupa Rt (*Retention time*) yang sama atau mendekati dengan standar parasetamol yang menunjukkan terdeteksinya senyawa parasetamol. Kromatogram standar parasetamol 3 ppm dapat dilihat pada Gambar 1. berikut :



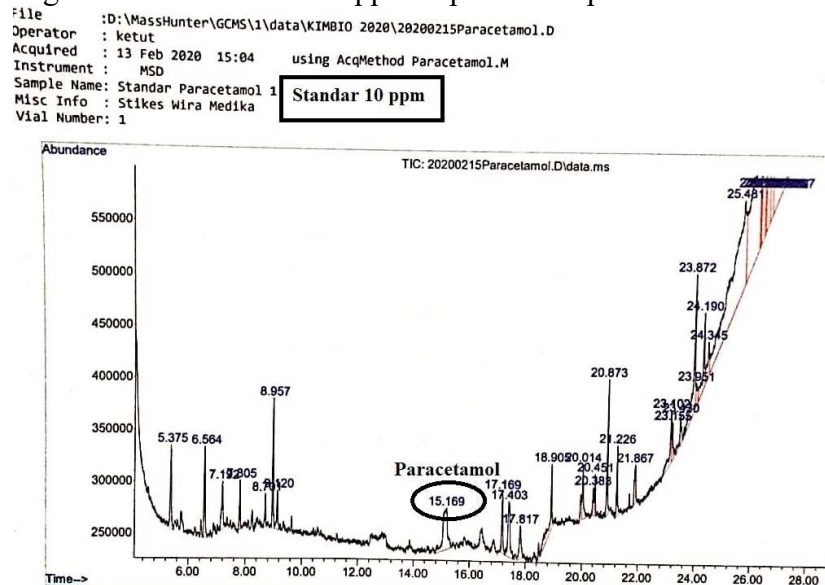
Gambar 1. Kromatogram larutan standar parasetamol 3 ppm

Kromatogram larutan standar 7 ppm dapat dilihat pada Gambar 2 berikut:



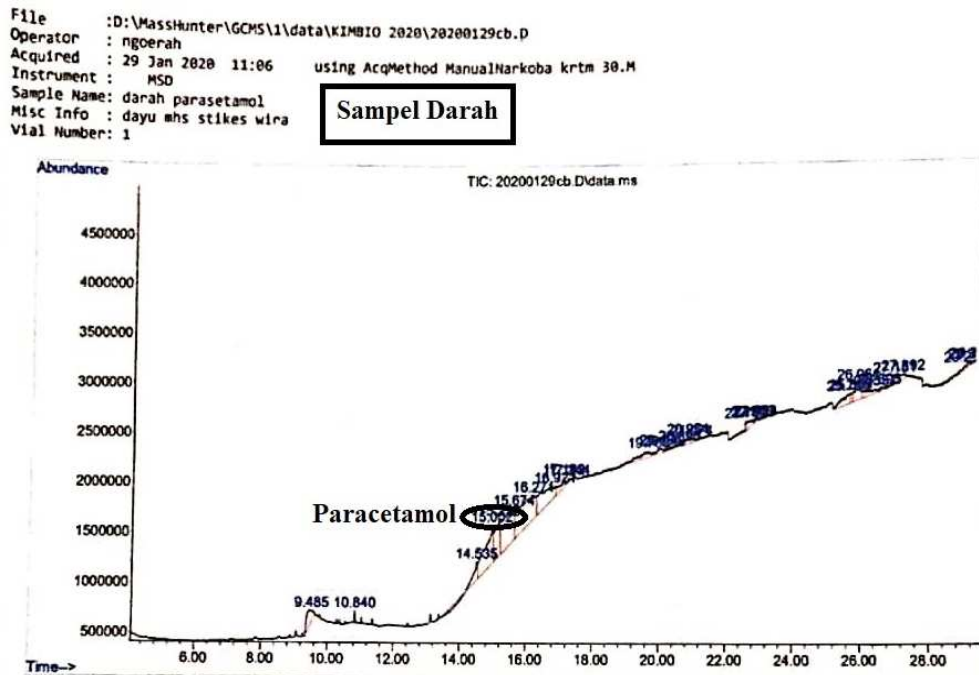
Gambar 2. Kromatogram larutan standar parasetamol 7 ppm

Kromatogram larutan standar 10 ppm dapat dilihat pada Gambar 3. berikut:



Gambar 3. Kromatogram larutan standar paracetamol 10 ppm

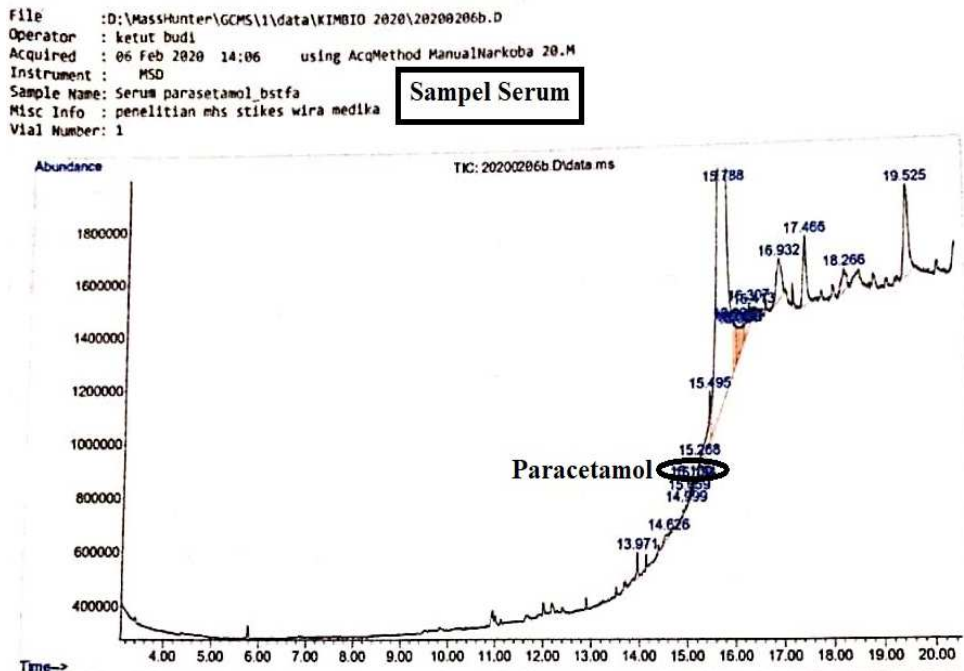
Gambar 1, Gambar 2, dan Gambar 3 menunjukkan kromatogram dengan nilai *retention time* pada ketiga larutan standar paracetamol. Nilai *retention time* pada pengukuran larutan standar paracetamol 3 ppm, 7 ppm, dan 10 ppm secara berturut-turut adalah 15.056, 15.120, dan 15.169. Nilai *retention time* larutan standar paracetamol akan dibandingkan dengan nilai *retention time* sampel darah dan serum. Kromatogram yang menyajikan nilai *retention time* sampel darah dapat dilihat pada Gambar 4. berikut :



Gambar 4. Kromatogram sampel darah

Nilai *retention time* sampel darah memiliki nilai *retention time* 15. 056, nilai ini sama dengan nilai *retention time* pada standar paracetamol 3 ppm.

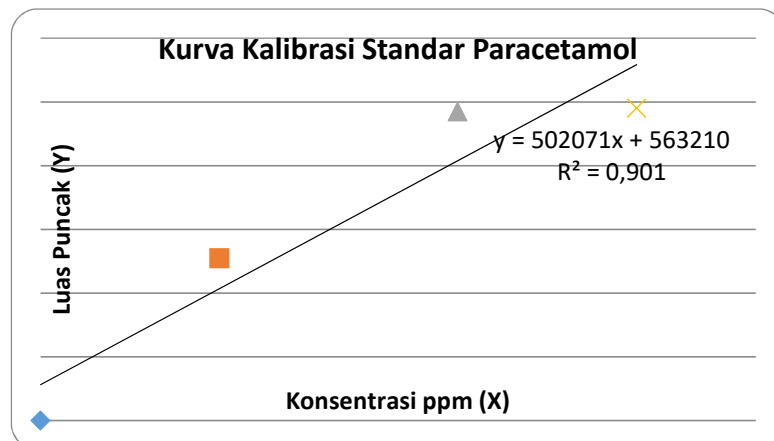
Kromatogram pada sampel serum dapat dilihat pada Gambar 5 berikut :



Gambar 5. Kromatogram sampel serum

Nilai *retention time* pada sampel serum adalah 15.101, nilai ini mendekati dengan nilai *retention time* pada larutan standar 7 ppm . Secara kualitatif, pada sampel darah dan serum terdeteksi senyawa paracetamol yang ditunjukkan dengan nilai *retention time* yang sama dan mendekati dengan nilai *retention time* pada standar.

Untuk analisa secara kuantitatif, digunakan luas puncak sampel dalam pembuatan kurva kalibrasi standar paracetamol untuk menentukan kadar paracetamol pada sampel darah dan serum. Kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 6. berikut:



Gambar 6. Kurva kalibrasi standar paracetamol

Kadar sampel dihitung dari persamaan regresi yang dibuat dengan cara memplot antara konsentrasi larutan standar paracetamol 3 ppm, 7 ppm, dan 10 ppm dengan luas puncak larutan standar 2542499, 4851224 dan 4900530. Sehingga dihasilkan persamaan regresi $y = 50207x + 56321$. Dengan nilai linearitas (R^2) 0.901. Kadar paracetamol pada sampel dihitung dengan memasukkan y sebagai luas puncak dan x sebagai kadar paracetamol. Luas puncak pada sampel darah yaitu 8853183 dan luas puncak sampel serum yaitu 2903979. Berdasarkan perhitungan, diperoleh hasil analisis kadar paracetamol pada sampel darah yaitu 175,2 ppm dan sampel serum yaitu 56,7 ppm. Berdasarkan penelitian Soysa dan Kolambage (2010) menyatakan bahwa kadar paracetamol pada serum adalah $10,71 \pm 3,95$ mg pada 1 jam setelah pemberian oral paracetamol. Hal ini selaras dengan penelitian yang telah dilakukan bahwa pada darah dan serum terdeteksi paracetamol dengan kadar 175,2 ppm dan 56,7 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa paracetamol telah terdistribusikan ke seluruh tubuh dengan waktu paruh (1-3) jam (Ganiswara, 2007).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, perbandingan hasil analisis antara sampel darah dan sampel serum dapat dilihat melalui kromatogram yang dihasilkan pada Gambar 4. untuk kromatogram sampel darah dan Gambar 5. untuk kromatogram sampel serum. Jika dilihat dari kromatogram yang dihasilkan, hasil analisis sampel serum menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan darah bahwa pada sampel serum dihasilkan puncak yang lebih sedikit serta terpisah-pisah, sedangkan pada sampel darah dihasilkan puncak yang bertumpuk dan tidak terpisah. Hal ini menunjukkan bahwa dengan hilangnya zat-zat pengganggu pada darah akan menghasilkan hasil analisis yang lebih baik dalam mendeteksi senyawa paracetamol dalam suatu sampel.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar paracetamol pada sampel darah dan serum yang diambil 2 jam setelah mengkonsumsi obat paracetamol dengan menggunakan metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), diperoleh simpulan yaitu kadar paracetamol pada sampel darah yaitu 175,2 ppm, kadar paracetamol pada sampel serum yaitu 56,7 ppm. Adapun saran yang dapat disampaikan diharapkan peneliti selanjutnya, menggunakan sampel yang lebih banyak jumlahnya, sehingga dapat dilihat perbandingan sampel satu dengan sampel yang lainnya, waktu pengambilan sampel dilakukan pada 3 jam setelah mengkonsumsi obat paracetamol serta menggunakan konsentrasi larutan standar paracetamol yang lebih kecil, sehingga dapat mendeteksi sampel dengan kadar paracetamol yang kecil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Pusat Laboratorium Forensik (Puslabfor) Bareskrim Polri Cabang Denpasar, dr. I Putu Oka Dharmawan, MARS.,IBCLC, dan Ida Ayu Gede Reina Widya Kirana, serta semua pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M. 2009. *Prinsip Umum dan Dasar Farmakologi*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.
- Darmapatni, K.A.G., Putra, A.A.B., Ariati, N.K., Suaniti, N.M. 2014. Analisis Senyawa Parasetamol (*Acetaminophen*) Pada Urin Dan Rambut Menggunakan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS). *Jurnal Kimia*. 8 (2) : 257-262.
- Eriawan, A. 2014. *Aplikasi Metode HPTLC-SPEktofotodensitometri dalam Pengukuran Kadar Paracetamol Pada Urine*. Karya Tulis Ilmiah. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wira Medika Bali.
- Ganiswara, S. 2007. *Obat Otonom dalam Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- Nugraha, G. 2015. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Jakarta.CV. Trans Info Media.
- Sadikin, M. 2014. *Biokimia Darah*. Jakarta. Widya Medika.
- Soysa, P., Kolambage, S. 2010. Rapid HPLC/UV Method For Analysis Of Urinary And Plasma/Serum Paracetamol Concentrations. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*. 38(2) : 131-137.
- Wirasuta, I.M.A.G., Suardamana, K. 2007. *Analisis Toksikologi Tantangan Baru Bagi Farmasis Indonesia*. Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Udayana, Lembaga Forensik Sains dan Kriminologi Universitas Udayana dan Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Rumah Sakit Sanglah, Denpasar.