

ANALISIS SENYAWA PARACETAMOL (ACETAMINOPHEN) DALAM SAMPEL URIN MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI DAN SPEKTROMETRI

Dianti Pratiwi, Dila Qhoirul Nisa, Elsyia Martia, Ivan Iduljana, Nurma Dwi Rahmawati, Sridevi Anggraini

Universitas Singaperbangsa Karawang (UNSIKA) Jawa Barat, Indonesia

Email: diantipra201@gmail.com, dilaqhoirul@gmail.com, elsyamrt@gmail.com,

Iduljanaivan04@gmail.com, nurmadwi23@gmail.com, sridevianggraini27@gmail.com.

ARTIKEL INFO

Diterima:

10 April 2022

Direvisi:

11 April 2022

Dipublish:

23 April 2022

Kata Kunci:

Paracetamol

(Acetaminophen);

Gas Chromatography-Mass

Spectrometry (CG-MS);

LC-MS (Liquid

Chromatography

Mass Spectrometry)

Keywords:

Paracetamol,

Acetaminophen, Gas

Chromatography-Mass

Spectrometry (CG-MS),

LC-MS (Liquid

Chromatography –

Mass Spectrometry)

ABSTRAK

Paracetamol (acetaminophen) merupakan obat yang memiliki efek analgesic-antipirek. Telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk menganalisis senyawa parasetamol (acetaminophen) pada urin dengan cara kualitatif menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (CG-MS) dan LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry). Sampel urin diperoleh dari pasien yang mengkonsumsi paracetamol tanpa mengubah pola konsumsi. Hasil analisis penelitian menunjukkan bahwa hasil positif acetaminophen-TMS diperoleh pada sampel urin dari 1 jam hingga sehari setelah mengkonsumsi tablet parasetamol namun diperoleh hasil negative setelah lebih dari 1 hari mengkonsumsi tablet.

ABSTRACT

Paracetamol (acetaminophen) is a drug that has an analgesic-antipyretic effect. Research has been carried out with the aim of analyzing the compound paracetamol (acetaminophen) in urine qualitatively using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (CG-MS) and LC-MS (Liquid Chromatography – Mass Spectrometry). Urine samples were obtained from patients taking paracetamol without changing consumption patterns. The results of the research analysis showed that positive results of acetaminophen-TMS were obtained in urine samples from 1 hour to a day after taking paracetamol tablets but negative results were obtained after more than 1 day of taking tablets.

Pendahuluan

Paracetamol (acetaminophen) adalah obat yang mempunyai efek analgesik-antipirek. (Darmapatni et al., 2014) Telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk menganalisis senyawa parasetamol (acetaminophen) pada urin dengan metode kualitatif menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (CG-MS) dan LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry). Sampel urin yang diperoleh

dari pasien yang mengkonsumsi paracetamol tanpa mengubah pola konsumsi. Hasil analisis dari penelitian menunjukkan bahwa hasil positif acetaminophen-TMS diperoleh pada sampel urin dari 1 jam hingga sehari setelah mengkonsumsi tablet parasetamol tetapi diperoleh hasil negative setelah lebih dari 1 hari mengkonsumsi tablet. (Darmapatni et al., 2014)

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (CG-MS) merupakan suatu metode yang

How to cite:

Pratiwi D., et. al., (2022). Analisis Senyawa Paracetamol (Acetaminophen) dalam Sampel Urin Menggunakan Metode Kromatografi dan Spektrometri. *Jurnal Health Sains* 3(4). <https://doi.org/10.46799/jhs.v3i4.473>

E-ISSN:

2723-6927

Published by:

Ridwan Institute

mengkombinasikan kromatografi gas dan spektrometri massa yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analisis sampel. Hal ini berarti sampel yang akan diperiksa diidentifikasi terlebih dahulu dengan alat GC (Gas Chromatography), setelah itu diidentifikasi dengan menggunakan alat MS (Mass Spectrometry). Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) mampu mendeteksi kadar obat dengan konsentrasi kurang dari 1 µg/L dengan membutuhkan waktu pengerjaan yang relative singkat (Warditiani et al., 2020). Syarat suatu senyawa dapat dianalisis adalah memiliki sifat yang volatile (mudah menguap), jika suatu senyawa sulit menguap maka dilakukan derivatisasi terlebih dahulu. (Jóźwiak-Bebenista & Nowak, 2014).

LC-MS (Liquid Chromatography – Mass Spectrometry) merupakan suatu penggabungan Teknik analisis kromatografi cair dengan kemampuan analisis deteksi spektrometri massa. Prinsip kerja dari LC-MS yaitu pemisahan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran yang

selanjutnya ion bermuatan akan dideteksi oleh detektor spektrometri massa. Penggunaan LC-MS semakin meningkat pada akhir-akhir ini, dikarenakan semakin kecilnya dosis obat dan semakin kompleksnya komposisi obat yang beredar saat ini. Penggunaan LC-MS dapat dilakukan tanpa proses derivatisasi atau cara lain untuk meningkatkan polaritas sampel atau fase gerak, dikarenakan alat tersebut dapat merubah sampel menjadi ion yang mampu dideteksi oleh detector. (Widyaningrum et al., 2021).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui dan menganalisis senyawa Paracetamol (Acetaminophen) dalam sampel

urin menggunakan metode Kromatografi dan Spektrometri. Adapun manfaat dari penelitian ini diharapkan dijadikan pengalaman dalam upaya meningkatkan kemampuan penulis dalam mengembangkan ilmu dan informasi yang di dapat. Hasil dari penelitian ini dapat menjadi landasan dalam pengembangan media pembelajaran atau pengetahuan ilmiah dan digunakan sebagai dasar penelitian lanjutan dan pengembangan pembelajaran untuk melanjutkan penelitian.

Metode Penelitian

Pencarian literatur dilakukan pada bulan April 2022, situs yang digunakan yaitu Google Scholar. Kata kunci yang digunakan dalam menemukan sumber jurnal adalah “ Analisis paracetamol dalam sampel biologis”. Kriteria literatur yaitu jurnal ilmiah tahun publikasi dari 10 tahun terakhir 2012-2022, literatur yang digunakan sebagai sumber dari beberapa jurnal dengan metode penelitian Kromatografi Gas – Spektrometri Massa (GC-MS) dan Kromatografi Cair – Spektrometri Massa (LC-MS).

Hasil dan Pembahasan

A. pH Sampel Urin

Sebelum ekstraksi dilakukan, pH sampel perlu disesuaikan dengan senyawa yang akan diekstrak. pH senyawa Paracetamol stabil pada pH 4-6 sehingga sampel urin harus sesuai dengan pH paracetamol. Dalam pengukuran pH yang digunakan yaitu pH indicator universal, hasil yang didapat tertera pada tabel 1. Pada tabel tersebut semua sampel urin telah sesuai dengan rentang pH 4-6 parasetamol sehingga tidak perlu dilakukan perlakuan lain untuk menyesuaikan pH urin. (Hayun & Karina, 2016).

Tabel 1
Hasil pengukuran pH urin 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

B. Analisis Senyawa Paracetamol (Acetaminophen) pada Urin

Untuk mengesktraksi sampel urin alat yang digunakan yaitu kolom SPE dan etil asetat digunakan sebagai eluan karena senyawa paracetamol dan metabolitnya diketahui memiliki sifat cenderung lipofil maka dari itu eluat yang cocok pada ekstraksi sampel urin terhadap paracetamol yaitu etil asetat. (Cay & Irmawati, 2020). Dari hasil analisis yang diperoleh, terdapat senyawa acetaminophen-TMS pada larutan standar yang terdeteksi dalam Library C:\Database\W9N11.L menggunakan

metode Full Scan dan SIM (Selected Ion Monitoring) dengan waktu retensi 18.31 menit. Senyawa acetaminophen-TMS ini terjadi karena pergantian gugus hydrogen aktif dengan trimetilsilil (Si(CH₃)₃) yang diperoleh derivatisasi dengan BSTFA yang mengandung TMCS 1%. Ion fragmen yang dipilih dengan metode SIM untuk menganalisis senyawa acetaminophen-TMS merupakan ion fragmen yang mempunyai kelimpahan tinggi. Hasil analisis acetaminophen pada semua urine seperti yang tertera pada tabel 2.

Tabel 2
Hasil analisis Acetaminophen pada semua sampel urin sukarelawan

Pengambilan Sampel	Hasil Analisis Acetaminophen (+) (-)			Keterangan
	A	B	C	
	I	(+)	(+)	
II	(+)	(+)	(+)	Acetaminophen-TMS
III	(+)	(+)	(+)	Acetaminophen-TMS
IV	(-)	(-)	(-)	Negatif Acetaminophen
V	(-)	(-)	(-)	Negatif Acetaminophen
VI	(-)	(-)	(-)	Negatif Acetaminophen

Dari hasil pengamatan pada tabel 2, terlihat sampel urine I, II, dan III atau 1, 2 dan 3 jam terhadap 3 orang pasien sukarelawan mengonsumsi tablet paracetamol menunjukkan hasil positif (+) acetaminophen dalam bentuk derivatennya yaitu 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). Sedangkan pada pengamatan VI, V, VI atau 24, 168, dan 720 jam setelah

mengonsumsi obat didapatkan hasil negatif, hal ini disebabkan karena seluruh metabolit acetaminophen seluruhnya telah terekskresi melalui urin maupun cairan tubuh yang lainnya seperti keringat dan saliva.

C. Analisis sampel urin dari anak setelah overdosis parasetamol

Dalam penelitian oleh Laura et al. sampel dikelompokkan menjadi 2 yaitu kelompok kontrol sebanyak 6 subjek dan kelompok overdosis sebanyak 13 subjek. Sampel urin dari kelompok kontrol dan kelompok overdosis dievaluasi, untuk kelompok kontrol termasuk subjek sehat tanpa

penggunaan obat parasetamol dalam 14 hari sebelumnya, sedangkan kelompok overdosis yang dirawat di rumah sakit baik anak-anak maupun remaja dengan overdosis Acetaminophen (APAP). Kelompok kontrol memiliki sampel urin tunggal yang dikumpulkan, sedangkan kelompok overdosis memiliki sampel urin dari beberapa titik waktu yang dikumpulkan selama rawat inap. Selain itu, data klinis dan demografis dikumpulkan dan disimpan dalam database yang juga menyertakan tingkat ALT. (Rahmawati et al., 2018)

Tabel 1
Demografi dan data klinis untuk subjek kontrol dan overdosis. Puncak acetaminophen ALT

Variabel	Kontrol N = 6	Overdose N = 13
Age (years)	14.08	13.91
PEAK ALT (IU/L)	NA	2050 (106,6072)
Peak Adduct (nmol/mL)	0.00 (0.00,0.00)	1.48 (0.20,6.69)

Dari hasil yang didapat kelompok kontrol dimana rata-rata subjek berusia 14,08 tahun tidak mengalami puncak ALT maupun aduksi protein, sedangkan kelompok overdosis rata-rata usia 13 tahun memiliki median puncak ALT adalah 2050 IU/L dengan nilai berkisar antara 106–6072 IU/L pada puncak ALT dan median aduksi protein pada kelompok overdosis 1,48 nmol/mL. Teknik untuk menganalisis sampel urin digunakan metode resonansi magnetik nuklir (NMR)- dan teknik metabolomik berbasis kromatografi cair ultrakinerja/quadropole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC/QToF MS). Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu optima LC/MS grade asetonitril dan air Asam format dan leucine enkephalin sebagai pelarut. Mula-mula 5µL volume urin yang diencerkan dengan air (1:10)

kemudian disuntikkan ke sistem UPLC fase gerak yang digunakan yaitu 0,1% asam format dalam air (solvent A) dan 0,1% asam format dalam asetonitril (solvent B). Lalu metabolit dielusi pada laju aliran konstan 4 mL/menit setelah dilakukan elusi dari kolom, metabolit dideteksi dengan spektrometer massa QToF Premier yang dioperasikan dalam mode elektropray ionisasi positif dan negatif. Untuk memastikan akurasi massa, leucine enkephalin pada konsentrasi 250 pg/µL digunakan sebagai massa kunci dalam mode positif dan pada konsentrasi 25 ng/µL untuk mode negatif. Aplikasi Micromass MarkerLynx XS Versi 4.1 digunakan sebagai pemilihan puncak dan penyalarsan puncak dari data mentah. Lalu Puncak diekstraksi, lalu dataset

selaras yang dihasilkan dianalisis dengan PCA dan PLS-DA. (Darmapatni, 2016).

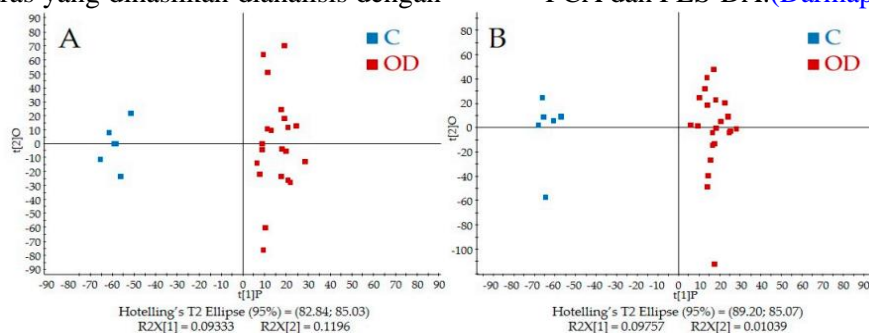


Figure 1. Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) scores plots for both (A) positive and (B) negative ionization modes. Control samples are shown in blue and samples from overdose subjects are in red.

Dari gambar tersebut menunjukkan pemisahan antara kelompok kontrol (berwarna biru) dan kelompok overdosis (berwarna merah) di kedua mode ionisasi yaitu mode ionisasi positif (A) dan negative (B). Sampel urin dari pasien overdosis yang dikumpulkan dari beberapa titik waktu berkerumun berdekatan. Metabolit individu dari

spektrum QToF-MS standar otentik dalam basis data internal. Dievaluasi berdasarkan plot pemuatan dan diidentifikasi berdasarkan Basis Data Metabolom Manusia atau berdasarkan standar otentik dalam basis data internal. Metabolit yang terdeteksi dalam spektrum NMR dikuantifikasi menggunakan Chenomx NMR Suite.

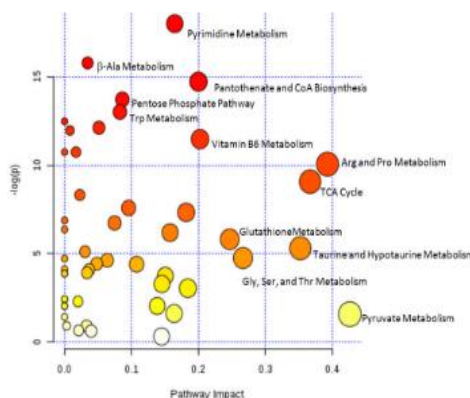


Figure 2. Metabolome view from pathway analysis performed using MetaboAnalyst. Select pathways with high pathway impact and/or high *p*-value are labeled.

Dari gambar tersebut dapat diketahui bahwa jalur yang berubah secara signifikan ($P < 0,05$) yang juga memiliki nilai dampak tinggi yaitu metabolisme arginin dan prolin, siklus TCA, metabolisme taurin dan hipotaurin, metabolisme glisin, serin dan treonin, dan metabolisme glutathione. Metabolisme piruvat memiliki dampak yang tinggi karena piruvat, laktat, dan asetat semuanya terletak di

persimpangan dalam jalur, meskipun *P*-nilai tidak signifikan namun perubahan metabolit ini tidak terjadi signifikan dalam kontrol dengan overdosis. (Rosalina, 2018). Kemudian jalur *P*-nilai secara signifikan berubah tetapi dengan dampak yang lebih rendah yaitu triptofan, pirimidin, vitamin B6, dan metabolisme b-alanin; biosintesis pantotenat dan CoA; dan jalur pentosa fosfat. Mewakili beberapa jalur berbeda

yang sebelumnya telah diidentifikasi dalam model non-klinis hepatotoksisitas yang diinduksi APAP, termasuk metabolisme glutathione, metabolisme asam empedu, siklus asam sitrat (TCA), dan asam lemak –oksidasi.

Hasil metabolit urin yang didapat dalam penelitian Laura et al. diketahui bahwa asam taurocholic memiliki korelasi yang signifikan terhadap adduct protein APAP. Asam taurocholic dan asam empedu lainnya sebelumnya telah terbukti diubah karena hepatotoksisitas yang diinduksi APAP. (Rosalina, 2018) Selain itu hydroxybutyrylcarnitine memiliki korelasi negatif yang signifikan terhadap kadar ALT. Asilkarnitin juga telah terbukti diubah pada awal hepatotoksisitas yang diinduksi APAP pada model hewan pengerat, dengan maksimum di asilkarnitin terjadi sebelum maksimum ALT. P-Nilai telah disesuaikan. Untuk pengujian perbandingan ganda menggunakan tingkat penemuan palsu (FDR) dan setelah penyesuaian; hanya korelasi untuk hippurat, asam askorbat, dan propilen glikol yang signifikan. Alanin, hippurat, kreatinin, dan trimetil amina-n-oksida juga ditemukan berkorelasi dengan adduksi protein ALT atau APAP. Alanin dan hippurat meningkat pada kelompok overdosis dalam penelitian, sedangkan kreatinin menurun pada kelompok overdosis. Pembentukan NAPQI toksik yang relatif meningkat menyebabkan penipisan glutathione (GSH). (Sudarma & Subhaktiyasa, 2021) Glutathione penting dalam detoksifikasi molekul reaktif, dan penipisan GSH setelah overdosis APAP telah diketahui. Dari hasil analisis jalur pada penelitian oleh Laura et al. menunjukkan bahwa siklus TCA memiliki nilai dampak yang tinggi dan signifikan P-nilai ($P < 0,05$). Kemudian untuk metabolit dari

metabolisme arginin dan prolin, siklus TCA, metabolisme taurin dan hipotaurin, metabolisme glisin, serin dan treonin, dan jalur metabolisme glutathione lebih signifikan pada kelompok overdosis APAP dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kesimpulan

Paracetamol merupakan senyawa stabil pada pH 4-6 sehingga pH urin wajib diatur sesuai pH paracetamol dan memiliki sifat cenderung lipofil sehingga dapat diekstraksi menggunakan pelarut organik seperti etil asetat. Hasil positif dari acetaminophen-TMS yaitu diperoleh pada sampel urin dari 1 jam sampai sehari dan diperoleh hasil negative setelah lebih dari 1 hari mengkonsumsi paracetamol. Dalam penelitian Laura et al dilakukan analisis metabolik pada sampel urin dari pasien anak-anak yang mengalami overdosis paracetamol. Dalam penelitian ini digunakan metode resonansi magnetik nuklir (NMR)- dan teknik metabolomik berbasis kromatografi cair ultrakinerja/ quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC/QToF MS). Kemudian untuk hasil metabolit dari metabolisme arginin dan prolin, siklus TCA, metabolisme taurin dan hipotaurin, metabolisme glisin, serin dan treonin, dan jalur metabolisme glutathione lebih signifikan pada kelompok overdosis APAP dibandingkan dengan kelompok control.

BIBLIOGRAFI

- Cay, S., & Irnawati, J. (2020). The Influence Of Marketing Strategy and Brand Community On MSME Sales In South Tangerang City. *Jurnal Pemasaran Kompetitif*, 4(1), 102–114. [Google Scholar](#)
- Darmapatni, K. A. G. (2016). Pengembangan metode GC-MS untuk penetapan kadar acetaminophen pada spesimen rambut

- manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(3), 255–266. [Google Scholar](#)
- Hayun, H., & Karina, M. A. (2016). Pengembangan dan Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Analisis secara simultan Parasetamol, Asam Mefenamat dan Ibuprofen dalam Jamu “Pegel Linu.” *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(2), 150–161. [Google Scholar](#)
- Rosalina, V. (2018). Analisis Kadar Sediaan Parasetamol Syrup Pada Anak Terhadap Lama Penyimpanan Dan Suhu Penyimpanan. *WARTA BHAKTI HUSADA MULIA: Jurnal Kesehatan*, 5(1). [Google Scholar](#)
- Sudarma, N., & Subhaktiyasa, I. P. G. (2021). Analisis kadar paracetamol pada darah dan serum Sis Kadar Paracetamol pada Darah dan Serum: Analysis of paracetamol levels in blood and serum. *Bali Medika Jurnal*, 8(3), 285–293. [Google Scholar](#)
- Warditiani, N. K., Astuti, K. W., Sari, P. M. N. A., & Wirasuta, I. (2020). Antidyslipidemic Activity of Methanol, Ethanol and Ethyl Acetate Mangosteen rind (*Garcinia mangostana* L). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(1), 261–264. [Google Scholar](#)
- Widyaningrum, E. A., Admaja, W., & Hidayatunnisa, S. (2021). Tingkat Pengetahuan Penggunaan Obat Rasional Dalam Swamedikasi Pada Mahasiswa Farmasi Iik Bhakti Wiyata Kediri. *Jurnal Inovasi Farmasi Indonesia (JAFI)*, 2(2), 65–76. [Google Scholar](#)
- Cay, S., & Irnawati, J. (2020). The Influence Of Marketing Strategy and Brand Community On MSME Sales In South Tangerang City. *Jurnal Pemasaran Kompetitif*, 4(1), 102–114. [Google Scholar](#)
- Darmapatni, K. A. G. (2014). Pengembangan metode GC-MS untuk penetapan kadar acetaminophen pada spesimen rambut manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(3), 255–266. [Google Scholar](#)
- Darmapatni, K. A. G., Putra, A. A. B., Ariati, N. K., & Suaniti, N. M. (2015). Analisis Senyawa Parasetamol (Acetaminophen) Pada Urin dan Rambut Menggunakan Kromatografi Gas–Spektometri Massa (GC-MS). *Jurnal Kimia*, 8(2), 257–262. [Google Scholar](#)
- Hayun, H., & Karina, M. A. (2016). Pengembangan dan Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Analisis secara simultan Parasetamol, Asam Mefenamat dan Ibuprofen dalam Jamu “Pegel Linu.” *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(2), 150–161. [Google Scholar](#)
- Józwiak-Bebenista, M., & Nowak, J. Z. (2014). Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 71(1), 11–23. [Google Scholar](#)
- Rahmawati, N. N., Sugiyanta, S., & Sakinah, E. N. (2018). Pengaruh Pemberian Cuka Apel’A’ terhadap Kadar MDA Hepar Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik (The Effect of A’Apple Vinegar on the Liver MDA of Male Wistar Rat Induced by Toxic Dose of Paracetamol). *Pustaka Kesehatan*, 6(2), 272–277. [Google Scholar](#)
- Rosalina, V. (2018). Analisis Kadar Sediaan Parasetamol Syrup Pada Anak Terhadap Lama Penyimpanan Dan Suhu Penyimpanan. *Warta Bhakti Husada Mulia: Jurnal Kesehatan*, 5(1). [Google Scholar](#)
- Sudarma, N., & Subhaktiyasa, I. P. G. (2021). Analisis kadar paracetamol pada darah dan serum Sis Kadar Paracetamol Pada Darah Dan Serum: Analysis of paracetamol levels in blood and serum. *Bali Medika Jurnal*, 8(3), 285–293. [Google Scholar](#)
- Warditiani, N. K., Astuti, K. W., Sari, P. M. N. A., & Wirasuta, I. (2020).

Analisis Senyawa Paracetamol (Acetaminophen) dalam Sampel Urin Menggunakan Metode Kromatografi dan Spektrometri

Antidyslipidemic Activity of Methanol, Ethanol and Ethyl Acetate Mangosteen rind (*Garcinia mangostana* L). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(1), 261–264. [Google Scholar](#)

Hidayatunnisa, S. (2021). Tingkat Pengetahuan Penggunaan Obat Rasional Dalam Swamedikasi Pada Mahasiswa Farmasi Iik Bhakti Wiyata Kediri. *Jurnal Inovasi Farmasi Indonesia (JAFI)*, 2(2), 65–76. [Google Scholar](#)

Widyaningrum, E. A., Admaja, W., &

Copyright holder:

Dianti Pratiwi, Dila Qhoirul Nisa, Elsyia Martia, Ivan Iduljana, Nurma Dwi Rahmawati, Sridevi Anggraini (2022)

First publication right:

Jurnal Health Sains

This article is licensed under:

