



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.11**

Validasi Metode *HPLC*
untuk Identifikasi Kristal
Metamfetamina

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 1 dari 4

A. PARAMETER HPLC DIODE ARRAY DETECTOR

1. Puslab_1a

Metode ini digunakan untuk analisis kristal metamfetamina menggunakan UFLC Shimadzu Nexera sesuai dengan metode yang tercantum pada LU-IKM 19 Metode Identifikasi *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

2. Puslab_2a

Metode ini digunakan untuk analisis kristal metamfetamina menggunakan UPLC Waters sesuai dengan metode yang tercantum pada LU-IKM 19 Metode Identifikasi *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

B. PARAMETER VALIDASI

Parameter Validasi yang digunakan mengacu pada prosedur mutu LU-PSD 7.2 Pemilihan, Verifikasi, dan Validasi Metode Uji.

1. *Limit Of Detection*/Batas Deteksi (LoD) dan *Limit of Quantification*/Batas Kuantitasi (LoQ)

a. Preparasi

Larutan induk metamfetamina dibuat dari baku pembanding (WS) metamfetamina dilarutkan dalam metanol (sesuai dengan LU-IKR 04 Identifikasi Metamfetamina dalam Sampel Serbuk Kristal, Tablet, Pecahan Tablet dan Tablet), kemudian dilakukan pengenceran sesuai konsentrasi yang dikehendaki untuk pengujian LOD.

b. Analisis dengan HPLC

- 1) Sampel hasil preparasi yang telah disiapkan, kemudian diinjeksikan ke HPLC, dengan ulangan injeksi sebanyak 3 kali.
- 2) Untuk uji LoD, dilihat dari sinyal terkecil yang terdeteksi. Pengenceran terus dilakukan sampai sampel tidak dapat terdeteksi lagi (LoD).
- 3) Setelah didapat titik LoD, dibuat replika sebanyak 10 kali dan diinjeksikan sebanyak 3 kali ulangan pada tiap replika

c. Pengolahan data

Nilai rasio *Signal to Noise* (S/N) dikalkulasikan secara sistem komputerisasi dan dinilai kesesuaian mengikuti keberterimaan uji LoD.

d. Keberterimaan

- 1) Terbentuk *peak*/puncak kromatogram metamfetamina.
- 2) Nilai rasio *Signal to Noise* (S/N) lebih besar dari 3 : 1 atau $S/N \geq 3$.

e. Tabel data *Limit of Detection* (LoD)

Konsentrasi	Replika	Waktu Retensi (Rt)	Area	S/N
	1			
	2			
	3			
	4			
	...			
	10			
Mean Keberterimaan				

Simpulan :

MASTER

Pusat Laboratorium Narkotika BNN

Dibuat oleh :
Asisten Penata Laboratorium
Narkotika Mahir

Diperiksa oleh :
Penata Laboratorium
Narkotika Ahli Muda

Disahkan oleh :
Penata Laboratorium
Narkotika Ahli Madya



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.11**

**Validasi Metode HPLC
untuk Identifikasi Kristal
Metamfetamina**

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 2 dari 4

2. Presisi (Ripitabilitas dan Reprodusibilitas)

a. Preparasi

- 1) Sampel uji berupa blanko yang di-*spike* menggunakan baku pembanding metamfetamina pada konsentrasi di antara 1,25 sampai dengan 2 kali LoD.
- 2) Sampel disiapkan sebanyak 10 replika. 5 replika dikerjakan untuk presisi *intra-day* (ripitabilitas/pada hari yang sama) dan 5 replika untuk presisi *inter-day* (reprodusibilitas/pada hari berbeda).

b. Analisis dengan HPLC

Sampel hasil preparasi yang telah disiapkan, kemudian diinjeksikan ke HPLC, dengan ulangan injeksi sebanyak 3 kali pada masing-masing replika.

c. Pengolahan data

Nilai *Relative Standar Deviation* (RSD) dari data waktu retensi yang diperoleh kemudian dihitung.

d. Keberterimaan

- 1) Tidak lebih dari 20% sampel uji (1 dari 5 sampel uji) memberikan hasil *false negative*.
- 2) Nilai *Relative Standar Deviation* (RSD) dari waktu retensi kurang dari 2%.

e. Tabel uji presisi ripitabilitas/reprodusibilitas*.

Replika	Ulangan	Waktu Retensi (Rt)	Area
1	1		
	2		
	3		
2	1		
	2		
	3		
...dst	...dst		
Mean			
SD			
RSD			

*Pilih salah satu

Simpulan :

3. Spesifisitas/Selektifitas

a. Preparasi

- 1) Sampel uji berupa blanko yang di-*spike* menggunakan analit Kontrol (*control drugs*) pada satu golongan yang sama (contoh : amfetamina, MDMA, MDA dan golongan *Amphetamine Type Stimulant*/ATS lainnya).
- 2) Sampel uji berupa seluruh komponen proses preparasi sintesis yang biasa ditemukan pada sampel uji (contoh : efedrin).
- 3) Sampel uji berupa *substance*/analit lain yang ditemukan sebagai tambahan pada sampel (contoh : kafeina).
- 4) Sampel uji mengandung senyawa dari golongan berbeda (contoh : morfin, heroin, dan senyawa lain yang bukan merupakan golongan ATS).
- 5) Analisis terhadap sampel uji yang mengandung senyawa yang memiliki waktu retensi yang mirip dengan metamfetamina.
- 6) Sampel uji dibuat replika sebanyak total 20 (masing-masing 4 sampel uji).



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.11**

**Validasi Metode HPLC
untuk Identifikasi Kristal
Metamfetamina**

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 3 dari 4

b. Analisis dengan HPLC

Sampel hasil preparasi yang telah disiapkan, kemudian diinjeksikan ke HPLC, dengan ulangan injeksi sebanyak 3 kali.

c. Pengolahan data

Untuk sampel uji mengandung metamfetamina dan senyawa lain, dihitung nilai resolusi dengan menggunakan rumus :

$$\text{Resolusi} = \frac{|(Rt \text{ analit 1}) - (Rt \text{ analit 2})| \times 2,35464}{(width \text{ analit 1}) + (width \text{ analit 2}) \times 0,5}$$

d. Keberterimaan

- 1) Tidak ada senyawa lain yang dapat mengintervensi *peak*/puncak metamfetamina pada waktu retensi (Rt) metamfetamina.
- 2) Senyawa lain tidak memberikan reaksi terhadap nilai metamfetamina (tidak menambahkan/ mengurangi area atau menggeser waktu retensi metamfetamina).
- 3) Sampel uji mengandung metamfetamina dan senyawa lain memiliki nilai resolusi $\geq 1,5$.

e. Tabel uji spesifisitas / selektivitas

Replika	Ulangan	Metamfetamina		Senyawa lain*	
		Waktu Retensi (Rt)	Area	Waktu Retensi (Rt)	Area
1	1				
	2				
	3				
2	1				
	2				
	3				
...dst	...dst				
Mean					
SD					
RSD					

*sesuai dengan sampel uji.

Simpulan :

4. Stabilitas

a. Preparasi

- 1) Sampel uji berupa metamfetamina pada konsentrasi tertentu sebanyak 3 replika. Kemudian disiapkan pada vial injeksi dan siap diinjeksikan.
- 2) Sampel diinjeksikan mengikuti pola waktu yang berbeda (0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam) dan varian suhu yang berbeda (suhu ruang dan suhu lemari pendingin) sebanyak 3 kali ulangan injeksi pada masing-masing replika.

b. Analisis dengan HPLC

Sampel hasil preparasi yang telah disiapkan, kemudian diinjeksikan ke HPLC, dengan ulangan injeksi sebanyak 3 kali.



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.11**

Validasi Metode *HPLC*
untuk Identifikasi Kristal
Metamfetamina

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 4 dari 4

c. Pengolahan data

Seluruh data yang diperoleh diolah data menggunakan uji t sesuai dengan LU-FRM 60a Formulir Uji Stabilitas Validasi Metode/Verifikasi Baku Pembanding berpasangan (*Paired*).

d. Keberterimaan

Nilai t hitung < t tabel, data tidak berbeda nyata, maka uji dinyatakan stabil; Nilai t hitung > t tabel, data berbeda nyata, maka uji dinyatakan tidak stabil.

e. Tabel data uji stabilitas

Replika	Ulangan	Suhu ruang				Suhu (2 – 8)°C			
		0 jam	24 jam	48 jam	72 jam	0 jam	24 jam	48 jam	72 jam
1	1								
	2								
	3								
2	1								
	2								
	3								
...dst	...dst								

Simpulan :

C. SIMPULAN

1. Jika semua komponen validasi memenuhi syarat keberterimaan, maka metode dinyatakan valid dan dapat digunakan dalam analisis rutin di Pusat Laboratorium Narkotika BNN.
2. Apabila terjadi perubahan terhadap metode pengujian atau kondisi uji metode yang telah divalidasi dan perubahan tersebut berpengaruh secara signifikan maka dilakukan kaji ulang untuk menentukan perlunya revalidasi atau verifikasi.

D. LITERATUR

1. *Guidance and Validation of Analytical Methodology Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens* – UNODC 2009.
2. *Recommended Method for Identification and Analysis of Amphetamine, Methamphetamine and Their Ring-Substituted Analogues in Seized Materials* – UNODC 2006.
3. *Training Basic Method Validation (MV-01) Agilent Technologies* – Berca Niaga Medika.

E. DOKUMEN TERKAIT

1. LU-PSD 7.2 Pemilihan, Verifikasi, dan Validasi Metode Uji.
2. LU-IKR 04 Identifikasi Metamfetamina dalam Sampel Kristal, Serbuk, Tablet, dan Pecahan Tablet.
3. LU-IKM 19 Metode Identifikasi *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).
4. LU-FRM 60a Formulir Uji Stabilitas Validasi Metode/Verifikasi Baku Pembanding Berpasangan (*Paired*).
5. LU-FRM 66 Lembar Kerja Kegiatan.
6. Laporan Hasil Validasi Metode (6.7.2/LU/BULAN/TAHUN/REVxx/PL/metamfetamina/Kristal).