

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 26	Tgl : 05-06-2026 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 1 dari 7
		Prosedur Pengoperasian <i>High Resolution -Mass Spectrometer (HRMS)</i>	

MASTER

Pusat Laboratorium Narkotika BNN

A. Menyalakan LCMS-MS/HRMS Ultimate 3000

1. Nyalakan Power disamping MS(Main Power)
2. Nyalakan Elektronik tombol disamping kanan di Main Power
3. Tekan tombol Power pada masing2 bagian LC-MS
4. Tunggu sampai lampu warna hijau di "Status" masing-masing bagian LC-MS
5. Buka Aplikasi "Tune" 4 Vacuum/Bake out ► bake out diklik.
6. Direct control ► ceklist semua control di "Home"
Di Kalibrasi Ion Positif -Point a.4 HESI_Calibration_PM20240808.mstune",

B. Solvent Line Purging

1. *Purging* dilakukan pada saat mengganti *solvent* dan terdapat gelembung udara pada *solvent line*.
2. Klik *double "Xcalibur"* ; kemudian klik "*status*" dan "*instrument set-up*" lalu pilih "*Thermo Scientific Sll for Xcalibur*". Tunggu beberapa waktu sampai muncul kolom "*status*" lalu klik "*Direct Control*".
3. Klik "*home*", lalu pilih semua modul di "*control*" dan pilih/Klik menu "*Pump Module*",
4. Atur % B (pada *eluent*) untuk melakukan *purging* .
 - a. Apabila *purging line A* maka %B diganti 0% dan *Flow/Pressure* 0.350 ml/min (tergantung pada diameter kolom yang digunakan) , lalu *ceklist "Purge : Off"* sampai berubah menjadi "*Purge : On*". Tunggu sampai *purging* selesai.
 - b. Apabila *purging line B* maka % B diganti 100% dan *Flow/Pressure* 0.350 ml/min (tergantung pada tipe kolom yang digunakan) , lalu *ceklist "Purge : Off"* sampai berubah menjadi "*Purge : On*". Tunggu sampai *purging* selesai.
 - c. Apabila terjadi *error* , maka klik "*More Options*", *Mode* pada *Rear Seal Wash* digantidari "*Dry*" menjadi "*Active*" kemudian *Enter*. Tunggu sampai selesai (status : operasional). *Solvent* yang digunakan adalah 10 % Metanol dalam H₂O.
5. Klik menu "*Sampler*", pada menu *Start Up*:
 - a. klik "*Prime Syringe*" dan tunggu sampai selesai (Module Status : Ready).
 - b. Klik "*Wash Buffer Loop*" dan tunggu sampai selesai (Module Status : Ready).
 - c. Klik "*Wash Needle Externally*" dan tunggu sampai selesai (Module Status : Ready).
 - d. Klik menu "*Column Oven*", ganti *nominal temperature* menjadi 30 °C (minimal 4 °C) dan *temperature control "ON"*.

C. Kalibrasi (Mass Calibration)

1. Kalibrasi dilakukan dua minggu sekali menggunakan **Pierce LTQ Velos ESI POSITIVE Ion Calibration Solution** dan **Pierce NEGATIVE Ion Calibration Solution**.
2. Langkah-langkah kalibrasi :
 - a. **Kalibrasi Ion Positif**
 - 1) Siapkan **Pierce LTQ Velos ESI POSITIVE Ion Calibration Solution**
 - 2) Siapkan *syringe* dan bilas menggunakan metanol dengan *volume* 500 µL (400 µL dibuang dan 100 µL diinjeksikan ke *ion source* menggunakan tubing dengan *nut* warna hitam)
 - 3) Siapkan larutan ion positif sebanyak 200 µL pada *syringe* (tidak boleh ada gelembung udara) dan letakkan *syringe* diatas.

Dibuat oleh :
Asisten Penata Laboratorium
Narkotika Mahir



Diperiksa oleh :
Penata Laboratorium
Narkotika Ahli Muda

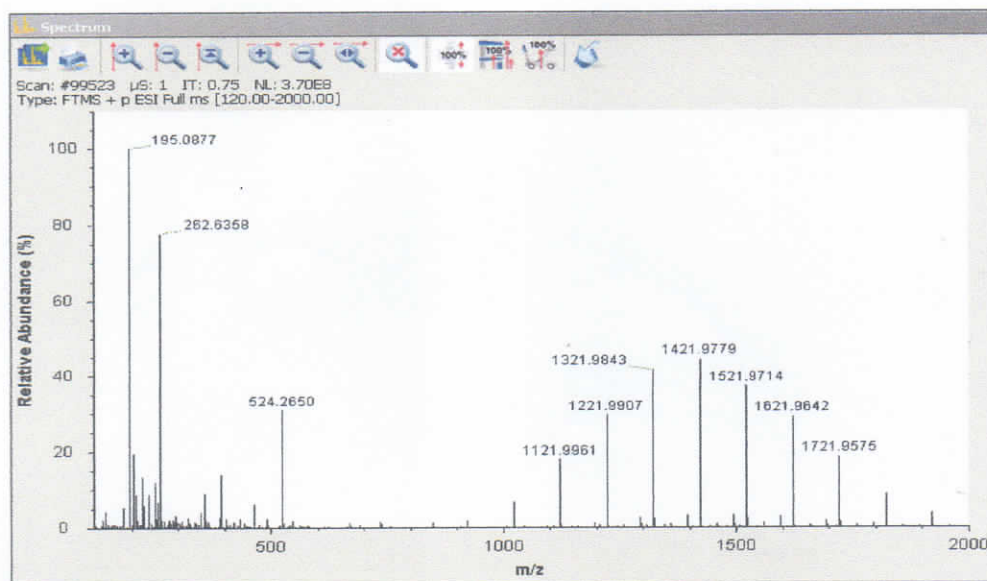


Disahkan oleh :
Penata Laboratorium
Narkotika Ahli Madya

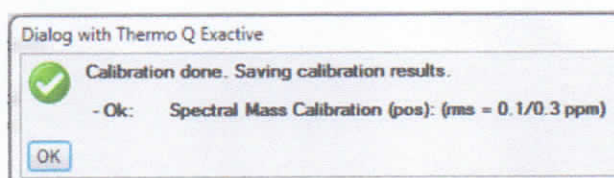


	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 26	Tgl : 05-06-2026 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 2 dari 7
		Prosedur Pengoperasian <i>High Resolution -Mass Spectrometer (HRMS)</i>	

- 4) Double Klik "**Tune**", kemudian pilih "**ON**" pada menu **General Instrument State**. Buka menu file, pilih "**load tune file**" dan "**HESI_Calibration.mstune**".
- 5) Pada **Instrument control**, menu "polarity" pilih positif kemudian "apply", pada menu "calibrate" pilih positif dengan ceklist. Klik "**Syringe Pump Setting**" (gambar syringe) untuk mulai injeksi dan tunggu sampai spektrum massa seperti pada gambar dibawah ini.



- 6) Buka menu "**Calibrate**", ceklist pada "**Mass Calibration (pos)**", klik "**calibrate**" dan tunggu sampai selesai serta muncul status kalibrasi. Klik OK pada gambar dibawah ini:

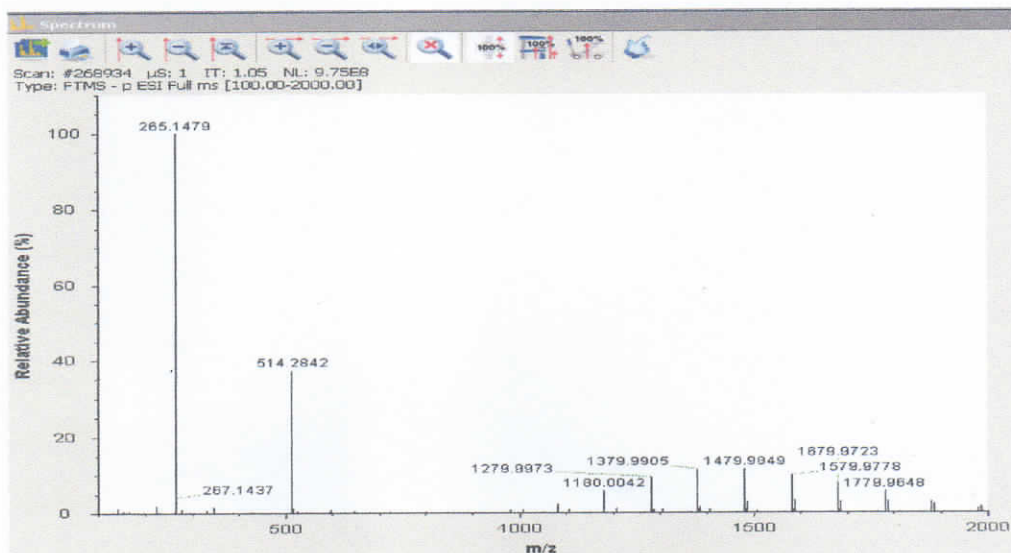


- 7) Setelah kalibrasi sudah selesai maka klik "**turn off syringe**" pada general state.

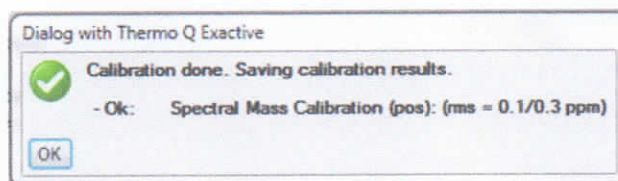
b. Kalibrasi Ion Negatif

- 1) Siapkan **Pierce NEGATIVE Ion Calibration Solution**.
- 2) Siapkan syringe dan bilas menggunakan metanol dengan volume 500 µL (400 µL dibuang dan 100 µL diinjeksikan ke ion source menggunakan tubing dengan nut warna silver)
- 3) Siapkan larutan ion negatif sebanyak 200 µL pada syringe (tidak boleh ada gelembung udara) dan letakkan syringe diatas.
- 4) Klik double "**Tune**", kemudian pilih "**ON**" pada menu **General Instrument State**. Buka menu file, pilih "**load tune file**" dan "**HESI_Calibration.mstune**".
- 5) Pada Instrumen control, menu "polarity" pilih negatif kemudian "apply", pada menu "calibrate" pilih negatif dengan ceklist. Klik "**Syringe Pump Setting**" (gambar syringe) untuk mulai injeksi dan tunggu sampai spektrum massa seperti pada gambar dibawah ini.

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 26	Tgl : 05-06-2026 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 3 dari 7
		Prosedur Pengoperasian High Resolution -Mass Spectrometer (HRMS)	



- 6) Buka menu "**Calibrate**", ceklist pada "**Mass Calibration (neg)**", klik "**calibrate**" dan tunggu sampai selesai serta muncul status kalibrasi. Klik OK pada gambar dibawah ini :



- 7) Setelah kalibrasi sudah selesai maka klik "**turn off syringe**" pada general state.

D. Membuat Metode Injeksi (Sampel dengan Target)

1. Buka menu **XCalibur**, kemudian pilih Menu "**Instrument Setup**".
2. Pilih "**Q Exactive Plus – Orbitrap MS**", "**Global List**", klik Icon "**Inclusion**" dan masukkan **MS2 target senyawa**, kemudian **Done**.
3. Buat metode yang diinginkan (Metode LC dengan mengisi data "**Thermo Scientific SII for**" dan Metode MS/MS dengan mengisi data "**Q Exactive Plus – Orbitrap MS**").
4. Pilih **File** dan **Save/Save As**.

E. Membuat Sequence Injeksi (Sampel dengan Target)

1. Buka menu **XCalibur**, kemudian pilih Menu "**Sequence Setup**".
2. Isi masing-masing kolom :
 - a. **Sample Type**; untuk sampel isi dengan **Unknown** dan Blank untuk **Blank**
 - b. **File Name**
 - c. **Sampel ID**
 - d. **Path**; browse penyimpanan hasil injeksi
 - e. **Inst Meth**; browse metode yang sudah dibuat sebelumnya pada tahap Pembuatan Metode Injeksi
 - f. **Position**; ada 3 indikasi warna rak tempat vial injeksi, yakni Red (R), Green (G), dan Blue (B), masing-masing terdiri dari 5 raw (A, B, C, D, dan E) dan tiap raw terdapat 8 kolom, sehingga

Dilarang menggandakan atau menyadur sebagian atau seluruh isi dokumen ini tanpa seizin Kepala Pusat Laboratorium Narkotika BNN

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 26	Tgl : 05-06-2026 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 4 dari 7
		Prosedur Pengoperasian <i>High Resolution -Mass Spectrometer (HRMS)</i>	

pada masing-masing rak ada 40 tempat vial injek dengan total keseluruhan 120 tempat vial injek. Kemudian isi **Position** (misal : vial ditempatkan pada rak warna merah, raw B, kolom ke-5, sehingga penulisannya menjadi **RB5**).

- g. **Inj Vol**; isi dengan banyaknya volume sampel yang akan diinjek.
3. Klik **No urutan injeksi** yang akan dijalankan hingga muncul anak panah dan dan terblok hitam pada kolom yang dipilih.
4. Pilih **File, Save/Save As**.
5. Kemudian klik icon "**Run Sequences**" pada menu bar, aktifkan dengan klik **After Sequence Set System "Standby"**.
6. Pilih **OK**.
7. Setelah status menunjukkan "**Downloading...**", pantau proses injeksi pada menu **Acquisition Queue**, dan klik icon "**Realeime Plot View**" pada menu bar.

F. Mengolah Data Hasil Kromatogram Melalui *Library Online*

Sebelum memulai membaca, pastikan komputer terhubung dengan internet.

1. Sampel tanpa target (*Unknown sample*)

- a. Buka "**Compound Discoverer 2.1**" dengan doubleklik ikon.
- b. Pilih "**New Study and Analysis**" kemudian klik "**Next**".
- c. Isi "**study name**", "**study folder**" dan pilih workflow "**workflow template/forensics/forensics w statistics unknown ID w compound class scoring, online and local database searches**", kemudian klik "**next**".
- d. Klik "**Add Files**" (pilih data yang akan di analisis yang terdiri dari blank dan sampel), kemudian klik "**next**".
- e. Merubah tipe sampel sesuai dengan data pada kolom "**sample Type**"
 - 1) Blank sampel, pilih sebagai blank
 - 2) Sampel, pilih sebagai sampel
- f. Kemudian klik "**next**".
- g. Beri tanda ceklist pada "**sample type**", klik "**next**" kemudian klik "**finish**".
- h. Klik "**run**" pada kolom Analysis, pilih "**ignore**" dan tunggu sampai pembacaan selesai.
 - 1) Apabila "processing step" terdapat tanda seru (!), ikuti petunjuknya sampai tidak ada tanda seru(!) dengan klik "workflow" kemudian edit sesuai dengan petunjuk tersebut.

Contoh:

- 2) Pada diagram "workflow Tree" hapus "compound class scoring"
- 3) Klik "Search mz cloud", nilai "match factor thure" ganti menjadi 40.
- i. Melihat proses pembacaan pada "**Job Queue**", apabila % progress sudah 100% maka file dapat dibuka dengan klik *double*.

2. Sampel dengan target

- a. Membuat library dengan target yang telah ditentukan.
- b. Buka **chemspider.com** di e-xplorer.
- c. Ketik **analit/senyawa target** yang akan dicari di "search".
- d. Pilih dan klik di "**kode ID**" analit tersebut.
- e. Klik gambar **disket (save)** untuk download "mole file".
- f. **Open file location** lalu **Rename**.
- g. Buka "**Compound Discoverer 2.1**", pilih **libraries**, pilih "**expected compound**", klik **new**, open file (library yang sudah di download) kemudian **save**.
- h. Mol file yang sudah di download masuk pada daftar "**expected compounds**".
- i. Buka "**Compound Discoverer 2.1**" dengan doubleklik ikon.
- j. Pilih "**New Study and Analysis**" kemudian klik "**Next**".

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 26	Tgl : 05-06-2026 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 5 dari 7
		Prosedur Pengoperasian <i>High Resolution -Mass Spectrometer (HRMS)</i>	

- k. Isi "**study name**", "**study folder**" dan pilih workflow "**workflow template/forensics/forensics expected with fish scoring**", kemudian klik "**next**"
- l. Klik "**Add Files**" (pilih data yang akan di analisis yang terdiri dari blank dan sampel), kemudian klik "**next**"
- m. Merubah tipe sampel sesuai dengan data pada kolom "**sample Type**"
 - 1) Blank sampel, pilih sebagai blank
 - 2) Sampel, pilih sebagai sampel
- n. Kemudian klik "**next**"
- o. Beri tanda ceklist pada "**sample type**", klik "**next**" kemudian klik "**finish**"
- p. Apabila "processing step" terdapat tanda seru (!), ikuti petunjuknya sampai tidak ada tanda seru (!) dengan klik "workflow" kemudian edit sesuai dengan petunjuk tersebut.
Contoh:
 - 1) Pada diagram "workflow Tree" Klik diagram "Generate Expected Compound", kemudian merubah parameter pada : "Compound Selection "(pilih senyawa target yang akan digunakan dengan memberi tanda check list (✓).
 - 2) Dealkylation:
Apply Dealkylation : *False*, Apply Dearylation : *false*
Keterangan :
True : kekurangan air / penambahan O2 (artinya masih bisa terdeteksi walaupun ada modifikasi penambahan O2).
False : library yang akan mengidentifikasi sampel "pure" tanpa penambahan atau pengurangan ion lain (tidak terbaca).
 - 3) Transformations:
Phase I : klik "uncheckedlist all"
- q. Klik "**run**" pada kolom Analysis, pilih "**ignore**" dan tunggu sampai pembacaan selesai.
- r. Melihat proses pembacaan pada "**Job Queue**", apabila % progress sudah 100% maka file dapat dibuka dengan klik *double*.

G. Mengolah Data Melalui Menu **Free Style IB** (Sampel dengan Target)

1. Double klik menu Free Style di dekstop, hingga muncul tampilan Windows "**Thermo Scientific FreeStyle**" atau Dapat membuka Menu **Xcalibur**, dan pilih Icon **FreeStyle**.
2. Pilih Icon "**New Workspace**" atau pilih "**File**" kemudian "**Open RawFile**" dan pilih data hasil yang akan diolah datanya menggunakan *Free Style* sampai muncul *WorkSpace* data.
 - a. Menggunakan metode PRM
 - 1) Pada menu **Active Traces**, pastikan data yang hendak diolah sudah di "**ceklist**", kemudian pilih **Detector Type : MS**.
 - 2) Pilih Filter menggunakan **MS2** (misal : FTMS + p ESI Full ms2 86.04@hcd35.00 [50.00-105.00]) senyawa yang hendak dicari (sudah dimasukkan terlebih dahulu dalam *inclusion list*).
 - 3) Pilih **Trace Type : Mass Range**, dan pilihan Smoothing jika diperlukan).
 - 4) Apabila pada metode diinput lebih dari 1 senyawa (*inclusion list*), maka tahapan dilanjutkan tambahkan display pada *Active Traces* dengan klik.
 - 5) tanda kolom (hingga bertambah data pada *Active Traces*) pada tanda "+" yang ada di bawah display/tampilan "**WorkSpace**".
 - 6) Kemudian pengisian pada kolom **Detector Type, Trace Type** sama dengan pengisian sebelumnya, sedangkan **Filter** dipilih **MS2** dari senyawa lain yang hendak dicari yang terdata dalam *inclusion list*.

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 26	Tgl : 05-06-2026 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 6 dari 7
		Prosedur Pengoperasian <i>High Resolution -Mass Spectrometer (HRMS)</i>	

b. Menggunakan metode Full ms/ddMS2

- 1) Pada menu **Active Traces**, pastikan data yang hendak diolah sudah di "**ceklist**", kemudian pilih **Detector Type : MS**.
- 2) Pilih Filter menggunakan **Full ms** (misal : FTMS + p ESI Full ms [50.00-550.00]).
- 3) Pilih **Trace Type : TIC** (dan pilihan Smoothing jika diperlukan).
- 4) Selanjutnya tambahkan display pada **Active Traces** dengan klik tanda kolom (hingga bertambah data pada **Active Traces**) pada tanda "+" yang ada di bawah display/tampilan "**WorkSpace**".
- 5) Isi kolom **Detector Type : MS** dan **Trace Type : MS**, sedangkan **Filter** dipilih **MS2** (misal : FTMS + p ESI Full ms2 86.04@hcd35.00 [50.00-105.00]) dari senyawa yang hendak dicari (sudah dimasukkan terlebih dahulu dalam *inclusion list*).
- 6) Apabila pada metode diinput lebih dari 1 senyawa (*inclusion list*), maka tahap pada **point d diulangi** sebanyak data yang ada di *inclusion list*.

c. Mengolah Data Melalui Qual Browser (Sampel dengan Target)

- 1) Pilih menu **Xcalibur**, dan pilih Icon **Qual Browser** hingga muncul tampilan Windows "**Thermo XCalibur Qual Browser**".
- 2) Pilih **File**, lalu pilih **Open** data untuk memilih data hasil kromatogram yang akan dianalisis/dibaca.
- 3) Aktifkan operasional *layout* hasil kromatogram dengan klik icon "**pin**" pada pojok kanan atas *layout* kromatogram (pin berubah menjadi 2 bulatan kecil dan berwarna hijau).
- 4) Klik kanan hasil *layout* kromatogram kemudian pilih "**Ranges**".
- 5) Pada kotak/tampilan "**Plot properties**", isi bagian "**Scan filter**".

a) Menggunakan metode PRM

- Pada menu **Active Traces**, pastikan data yang hendak diolah sudah di "**ceklist**", kemudian pilih **Detector Type : MS**.
- Pilih Filter menggunakan **MS2** (misal : FTMS + p ESI Full ms2 86.04@hcd35.00 [50.00-105.00]).
- Pilih **Trace Type : Mass Range**, dan pilihan Smoothing jika diperlukan).
- Apabila pada metode diinput lebih dari 1 senyawa (*inclusion list*), maka tahapan dilanjutkan tambahkan display pada **Active Traces** dengan klik tanda kolom pada tanda "+" yang ada di bawah display/tampilan "**WorkSpace**".
- Kemudian pengisian pada kolom **Detector Type, Trace Type** sama dengan pengisian sebelumnya, sedangkan **Filter** dipilih **MS2** dari senyawa lain yang hendak dicari yang terdata dalam *inclusion list*.

b) Menggunakan metode Full ms/ddMS2

- Pilih Filter menggunakan **Full ms** (misal : FTMS + p ESI Full ms [50.00-550.00])
- Pilih **Plot type : TIC** dan pastikan pada kolom **Detector** diisi dengan **MS**.
- Kolom **Peak algorithm** dapat diisi dengan **ICIS** (default).
- Selanjutnya tambahkan data untuk MS2 dengan klik kolom type (hingga bertambah data), kemudian pilih **Scan Filter** menggunakan **MS2** dari senyawa yang hendak dicari (misal : FTMS + p ESI Full ms2 86.04@hcd35.00 [50.00-105.00]).
- Pilih **Plot type : Mass Range** dan pastikan pada kolom **Detector** diisi dengan **MS**
- Kolom **Peak algorithm** dapat diisi dengan **ICIS** (default).
- Setelah selesai, lalu klik **OK**

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 26	Tgl : 05-06-2026 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 7 dari 7
		Prosedur Pengoperasian <i>High Resolution -Mass Spectrometer (HRMS)</i>	

- Aktifkan operasional *layout Mass Spectra* Kromatogram dengan klik icon “pin” pada pojok kanan atas *layout Mass Spectra* kromatogram (pin berubah menjadi 2 bulatan kecil dan berwarna hijau).
- Klik **hasil kromatogram** pada *layout* kromatogram apakah menunjukkan **Mass Spectra** (MS2) yang sesuai dengan senyawa yang diinginkan.
- Untuk menampilkan Luas Area maupun Rt dari senyawa target, maka terlebih dahulu Aktifkan operasional *layout* hasil kromatogram dengan klik icon “pin” pada pojok kanan atas *layout* kromatogram (pin berubah menjadi 2 bulatan kecil dan berwarna hijau).
- Klik kanan *layout* kromatogram, kemudian klik “**Display Options**”, klik bagian “**Labels**” dan ceklist kolom “**Area**” dan “**Retention Time**”.
- Aktifkan Icon “**Toogle Peak Detection in This Plot**” (kromatogram yang diaktifkan saja) atau “**Toogle Peak Detection in All Plot**” (semua hasil kromatogram) pada menu bar.

H. Mematikan LCMS-MS/HRMS Ultimate 3000

- Tekan tombol **power** pada masing-masing bagian LC-MS (*digest, pump, column dan autosampler*).
- Matikan PC dan monitor.