



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU- IKM 16.5**

**Validasi Metode
GCMS untuk Identifikasi
Metamfetamina dalam urin**

Tgl : 22-05-2026
Ed : 03
Rev : 03
Hal : 1 dari 7

A. PARAMETER GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETER (GC-MS)

1. Puslab_4

Metode ini digunakan untuk analisis metamfetamina dalam urin menggunakan GC-MS Agilent 7890B – 5977B (GC-MS 06).

2. Puslab_5

Metode ini digunakan untuk analisis metamfetamina dalam urin menggunakan GC-MS Agilent 7890B – 5977B (GC-MS 05).

3. Puslab_9

Metode ini digunakan untuk analisis metamfetamina dalam urin menggunakan GC-MS Shimadzu QP 2010 Ultra.

B. PARAMETER VALIDASI

1. Batas Deteksi / Limit of Detection (LoD)

a. Preparasi

- 1) Disiapkan tabung ekstraksi yang berisi padatan pengestrak (500 mg Na_2SO_4 dan 100 mg NaCl), 3 mL larutan pengestrak (diklorometana, dikloroetana dan n-heptana dengan perbandingan 1:1:1) dan 100 μL Amoniak 25%.
- 2) Larutan induk metamfetamina dari baku pembanding (WS) metamfetamina yang telah diketahui konsentrasinya dibuat dan dilarutkan dalam akuades, kemudian dilakukan pengenceran dengan pelarut urin sesuai konsentrasi yang dikehendaki untuk pengujian LoD.
- 3) Setelah dilakukan pengenceran pada konsentrasi yang dikehendaki, sebanyak 4 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi yang sudah disiapkan.
- 4) Selanjutnya dikocok perlahan selama 5 menit. Kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga terpisah menjadi 2 lapisan. Lapisan atas (organik) disaring dengan *syringe filter* kemudian dimasukkan ke dalam vial, selanjutnya siap digunakan untuk injeksi GC-MS (preparasi sesuai dengan LU-IKS 01.1 identifikasi metamfetamina dalam sampel urin).

b. Analisis dengan GC-MS

- 1) Sampel hasil preparasi yang telah disiapkan, kemudian diinjeksikan ke GC-MS, 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.

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 16.5**

Validasi Metode
GCMS untuk Identifikasi
Metamfetamina dalam urin

Tgl : 22-05-2026
Ed : 03
Rev : 03
Hal : 2 dari 7

c. Pengolahan data

- 1) Pada kromatogram terbentuk *peak*/puncak pada waktu retensi metamfetamina, kemudian disesuaikan dengan kriteria penerimaan untuk uji LOD.
- 2) Nilai rasio *Signal to Noise* (S/N) dihitung (kalkulasi secara sistem komputerisasi).
- 3) Seluruh data yang diperoleh kemudian didokumentasikan sesuai Tabel data uji LoD.

d. Keberterimaan

- 1) Fragmen massa metamfetamina yang teridentifikasi adalah : 58; 91; 56; 65 m/z.
- 2) Nilai rasio *Signal to Noise* (S/N) lebih besar dari 3:1 atau $S/N \geq 3$.

e. Tabel data uji LoD

Konsentrasi	Replika	Waktu Retensi (Rt)	Area	S/N
	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
	8			
	9			
	10			
Rata - rata				
Keberterimaan				

Simpulan :

2. Presisi (Ripitabilitas dan Reprodusibilitas)

a. Preparasi

- 1) Disiapkan tabung ekstraksi yang berisi padatan pengestrak (500 mg Na_2SO_4 dan 100 mg NaCl), 3 mL larutan pengestrak (diklorometana, dikloroetana dan n-heptana dengan perbandingan 1:1:1) dan 100 μL Amoniak 25%
- 2) Larutan sampel metamfetamina dalam urin disiapkan pada konsentrasi 1,25 sampai 2 kali LoD.
- 3) Presisi ripitabilitas : Sampel dibuat sebanyak 5 replika untuk presisi *intra-day* (hari sama)
Presisi reprodusibilitas : 5 replika untuk presisi *inter-day* (hari berbeda) dan/atau dilakukan oleh analis yang berbeda pada hari yang sama sebanyak 5 replika.



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU- IKM 16.5**

**Validasi Metode
GCMS untuk Identifikasi
Metamfetamina dalam urin**

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 03

Hal : 3 dari 7

- 4) 4 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi yang sudah disiapkan.
- 5) Selanjutnya dikocok perlahan selama 5 menit. Kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga terpisah menjadi 2 lapisan. Lapisan atas (organik) disaring dengan *syringe filter* kemudian dimasukkan ke dalam vial, selanjutnya siap digunakan untuk injeksi GC-MS (preparasi sesuai dengan LU-IKS 01.1 identifikasi metamfetamina dalam sampel urin).

b. Analisis dengan GC-MS

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

c. Pengolahan data

- 1) Pada kromatogram terbentuk *peak*/puncak pada waktu retensi metamfetamina.
- 2) Nilai rata-rata, standar deviasi (SD) dan *Relative Standar Deviation* (RSD) waktu retensi dihitung dan dibandingkan dengan kriteria penerimaan untuk uji presisi.

d. Keberterimaan

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

e. Tabel data uji presisi

Konsentrasi	Replika	Waktu Retensi (Rt)			
		<i>Intra-day</i>	<i>Inter-day</i>	Analisis 1	Analisis 2
	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
Rata - rata					
Keberterimaan		$\leq 20\% \text{ false negative ; RSD Rt } \leq 2\%$.			

Simpulan :



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU- IKM 16.5**

**Validasi Metode
GCMS untuk Identifikasi
Metamfetamina dalam urin**

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 03

Hal : 4 dari 7

3. Spesifisitas/selektivitas

a. Sampel uji metamfetamina pada parameter spesifisitas meliputi kondisi sebagai berikut :

- 1) Sampel uji berupa larutan standar dari analit dan/atau metabolit pada satu golongan yang sama.
- 2) Sampel uji berupa seluruh blanko spesimen yang di-*spike* dengan analit dan/atau metabolit pada satu golongan yang sama.
- 3) Sampel uji berupa larutan standar dari analit beda golongan. Contoh : morfina, dan senyawa lainnya yang bukan merupakan golongan ATS.
- 4) Blanko matriks dari 5 sumber yang berbeda.
- 5) Sampel uji berupa senyawa yang memiliki waktu retensi mirip dengan analit uji (jika ada).

b. Preparasi

- 1) Disiapkan tabung ekstraksi berisikan padatan pengekstrak (500 mg Na_2SO_4 dan 100 mg NaCl), 3 mL larutan pengekstrak (diklorometana, dikloroetana dan n-heptana dengan perbandingan 1:1:1) dan 100 μL Amoniak 25%.
- 2) Larutan sampel uji disiapkan pada beberapa kondisi tertentu, diantaranya adalah :
 - a. Dibuat larutan standar metamfetamina pada konsentrasi 1-10xLOD ditambahkan analit amfetamina konsentrasi 5 ppm dengan pelarut air dengan volume akhir menjadi 10 mL. Dibuat sebanyak 4 replika.
 - b. Dibuat larutan standar metamfetamina pada konsentrasi 1-10xLOD ditambahkan analit MDMA konsentrasi 5 ppm dengan pelarut air dengan volume akhir menjadi 10 mL. Dibuat sebanyak 4 replika.
 - c. Dibuat larutan standar metamfetamina pada konsentrasi 1-10xLOD ditambahkan analit MDA konsentrasi 5 ppm dengan pelarut air dengan volume akhir menjadi 10 mL. Dibuat sebanyak 4 replika.
 - d. Dibuat sampel uji berupa blanko spesimen (urin) yang di-*spike* dengan standar metamfetamina pada konsentrasi 1-10xLOD ditambahkan analit amfetamina konsentrasi 5 ppm dengan volume akhir menjadi 10 mL. Dibuat sebanyak 4 replika.
 - e. Dibuat sampel uji berupa blanko spesimen (urin) yang di-*spike* dengan standar metamfetamina pada konsentrasi 1-10xLOD ditambahkan analit MDMA konsentrasi 5 ppm dengan volume akhir menjadi 10 mL. Dibuat sebanyak 4 replika.
 - f. Dibuat sampel uji berupa blanko spesimen (urin) yang di-*spike* dengan standar metamfetamina pada konsentrasi 1-10xLOD ditambahkan analit MDA konsentrasi 5 ppm dengan volume akhir menjadi 10 mL. Dibuat sebanyak 4 replika.
 - g. Dibuat sampel uji berupa larutan standar dari karisoprodol (senyawa lain yang bukan merupakan golongan ATS) pada konsentrasi 5 ppm sebanyak 10 mL. Dibuat sebanyak 4 replika.
 - h. Disiapkan blanko matriks (urin) dari 5 sumber yang berbeda sebanyak 10 mL. Disiapkan masing-masing 4 replika.
- 3) Masing-masing larutan sampel butir 2) a, b, c, dan d sebanyak 4 mL dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi yang sudah disiapkan. Selanjutnya dikocok perlahan selama 5 menit. Kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga terpisah menjadi 2 lapisan. Lapisan atas (organik) disaring dengan *syringe filter* kemudian dimasukkan ke dalam vial, selanjutnya siap digunakan untuk injeksi GC-MS (preparasi sesuai dengan LU-IKS 01 identifikasi metamfetamina dalam sampel urin).



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU- IKM 16.5**

Validasi Metode
GCMS untuk Identifikasi
Metamfetamina dalam urin

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 03

Hal : 5 dari 7

c. Analisis dengan GC-MS

Sampel hasil preparasi yang telah disiapkan (Jumlah sampel uji harus sebesar mungkin dalam batas praktis, tetapi jumlah minimum yang disarankan adalah 20). kemudian diinjeksikan ke GC-MS, dengan ulangan injeksi sebanyak 3 kali pada tiap replika.

d. Pengolahan data

- 1) Pada kromatogram terbentuk *peak*/puncak pada waktu retensi metamfetamina dan senyawa/matriks lain yang mungkin terbentuk dan dapat mengintervensi/mengganggu proses deteksi metamfetamina.
- 2) Nilai resolusi (daya pisah) dihitung terhadap *peak*/puncak metamfetamina dan senyawa lain yang mungkin terbentuk/terdeteksi.

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

e. Keberterimaan

- 1) Tidak ditemukan reaksi silang pada sampel uji, sampel mengandung analit uji memberikan hasil positif dan sampel tidak mengandung analit uji memberikan hasil negatif.
- 2) Resolusi > 1,5 (jika terdapat senyawa lain yang memberikan respon).

f. Tabel data uji spesifisitas (menghitung nilai resolusi)

Replika	Analit 1		Analit 2	
	Rt	Width	Rt	Width
1				
2				
3				
Resolusi				
Keberterimaan	Resolusi > 1,5			

Simpulan :

4. Stabilitas

a. Preparasi

- 1) Stabilitas dilakukan pada waktu 0 jam, 24 jam, 48 jam dan 72 jam dengan pengaturan suhu pada suhu ruang dan pada suhu lemari pendingin (2 – 8 °C).
- 2) Tabung ekstraksi yang berisi padatan pengekstrak, 3 mL larutan pengekstrak dan 100 µL Amoniak 25% disiapkan (sesuai dengan LU-IKM 13 tentang penyiapan larutan ekstraksi).
- 3) Larutan sampel metamfetamina dalam urin disiapkan sebanyak 3 replika pada konsentrasi 1-10x LOD, dan sesuai dengan pengaturan waktu dan suhu (Tabel uji stabilitas).



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU- IKM 16.5**

**Validasi Metode
GCMS untuk Identifikasi
Metamfetamina dalam urin**

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 03

Hal : 6 dari 7

4) 4 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi yang sudah disiapkan. Selanjutnya dikocok perlahan selama 5 menit. Kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga terpisah menjadi 2 lapisan. Lapisan atas (organik) disaring dengan *syringe filter* kemudian dimasukkan ke dalam vial, selanjutnya siap digunakan untuk injeksi GC-MS (preparasi sesuai dengan LU-IKS 01 identifikasi metamfetamina dalam sampel urin).

b. Analisis dengan GC-MS

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

c. Pengolahan data

- 1) Waktu retensi dan area yang diperoleh kemudian diolah menggunakan uji t pada LU-FRM 60b Formulir Uji Stabilitas Validasi Metode/Verifikasi Baku Pembanding Berpasangan (*Paired*).
- 2) Penentuan stabilitas berdasar pada hasil hitung menggunakan uji t yang menyatakan bahwa data stabil pada kondisi waktu dan suhu yang diujikan.

d. Keberterimaan

- 1) 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	Suhu ruang				Suhu (2 – 8) °C			
	0 jam	24 jam	48 jam	72 jam	0 jam	24 jam	48 jam	72 jam
1								
2								
3								

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.



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU- IKM 16.5**

**Validasi Metode
GCMS untuk Identifikasi
Metamfetamina dalam urin**

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 03

Hal : 7 dari 7

E. DOKUMEN TERKAIT

1. LU-PSD 7.2 Pemilihan, Verifikasi, dan Validasi Metode Uji
2. LU-IKM 13 Penyiapan Larutan Ekstraksip
3. LU-IKS 01.1 Identifikasi metamfetamina dalam sampel urin
4. LU-IKM 17 Metode Identifikasi GC-MS
5. LU-FRM 60a Formulir Uji Stabilitas Validasi Metode/Verifikasi Baku Pembanding Berpasangan (*Paired*)
6. LU-FRM 66 Lembar Kerja Kegiatan
7. Laporan Hasil Validasi Metode (6.7.2/LU/BULAN/TAHUN/REVxx/PL/metamfetamina/urin).