



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.13**

Validasi Metode GCMS
untuk Identifikasi *11-nor-carboxy-delta*
9 tetrahydrocannabinol
(THC-COOH) dalam urin preparasi SPE

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 1 dari 6

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

Puslab_2

Metode ini digunakan untuk analisis *11-nor-carboxy-delta 9 tetrahydrocannabinol* (THC-COOH) dengan metode preparasi SPE pada GC-MS Shimadzu QP 2020NX-2030Nexis dan Agilent 7890B-5977B (GC-MS 05).

B. PARAMETER VALIDASI

1. Batas Deteksi / Limit of Detection (LoD)

a. Preparasi

- 1) Preparasi sampel : 2 mL sampel ditambahkan dengan 2 mL buffer CH_3COONa 0,1 N pH 4.
- 2) Pengkondisian kolom : 6 mL akuades, 6 mL metanol dan 2 mL larutan buffer CH_3COONa 0,1N pH 4 dilewatkan pada kolom SPE secara berturut-turut (*solvent* yang keluar dari SPE dibuang). Kemudian ditunggu hingga SPE mengering.
- 3) Sampel uji yang telah dipreparasi pada point 1. Dilewatkan pada kolom SPE, kemudian 2 mL asam asetat 0,1 M dan 4 mL campuran asetonitril : akuades dengan perbandingan 40 : 60 (sampel dan *solvent* yang keluar dari kolom dibuang). Kolom ditunggu hingga kering.
- 4) Elusi : 3,6 mL asetonitril dilewatkan pada kolom dan ditampung menggunakan tabung reaksi.
- 5) Derivatisasi : hasil elusi kemudian dikeringkan menggunakan gas nitrogen pada temperatur 40 °C. setelah kering ditambahkan dengan 50 μL MSTFA, di-*vorteks* dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit.
- 6) Sampel uji disiapkan pada konsentrasi tertentu dan diencerkan hingga tidak terdeteksi.

b. Analisis dengan GC-MS

- 1) Cairan hasil preparasi diinjeksikan ke GC-MS.
- 2) Untuk uji LoD, dilihat dari sinyal terkecil yang terdeteksi. Pengenceran terus dilakukan hingga sampel tidak dapat terdeteksi lagi (LoD). Penentuan konsentrasi LoD berdasarkan pada waktu retensi dan nilai rasio *Signal to Noise* (S/N) sesuai dengan keberterimaan yang ditetapkan.
- 3) Setelah didapat titik LoD, dibuat replika sebanyak 10 kali dan diinjek masing-masing 3 kali ulangan.

c. Pengolahan Data

Waktu retensi (R_t) dan nilai area yang diperoleh di dokumentasikan. LoD ditentukan berdasarkan syarat keberterimaan.

d. Keberterimaan :

- 1) Nilai *Signal to Noise* lebih dari dan/atau sama dengan 3 : 1 ($S/N \geq 3$).

MASTER

Pusat Laboratorium Narkotika BNN

Dibuat oleh :
Asisten Penata Laboratorium
Narkotika Mahir

Diperiksa oleh :
Penata Laboratorium
Narkotika Ahli Madya

Disahkan oleh :
Penata Laboratorium
Narkotika Ahli Madya



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.13**

Validasi Metode GCMS
untuk Identifikasi *11-nor-carboxy-delta*
9 tetrahydrocannabinol
(THC-COOH) dalam urin preparasi SPE

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 2 dari 6

e. Tabel data uji LoD

Konsentrasi	Replika	Waku Retensi (Rt)	Area	S/N
	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
Rata - rata				
Keberterimaan				

Simpulan :

2. Presisi (Ripitabilitas dan Reprodusibilitas)

a. Preparasi

- 1) Preparasi sampel : 2 mL sampel ditambahkan dengan 2 mL buffer CH_3COONa 0,1 N pH 4.
- 2) Pengkondisian kolom : 6 mL akuades, 6 mL metanol dan 2 mL larutan buffer CH_3COONa 0,1N pH 4 dilewatkan pada kolom SPE secara berturut-turut (solvent yang keluar dari SPE dibuang). Kemudian ditunggu hingga SPE mengering.
- 3) Sampel uji yang telah dipreparasi pada point 1. Dilewatkan pada kolom SPE, kemudian 2 mL asam asetat 0,1 M dan 4 mL campuran asetonitril : akuades dengan perbandingan 40 : 60 (sampel dan solvent yang keluar dari kolom dibuang). Kolom ditunggu hingga kering.
- 4) Elusi : 3,6 mL asetonitril dilewatkan pada kolom dan ditampung menggunakan tabung reaksi.
- 5) Derivatisasi : hasil elusi kemudian dikeringkan menggunakan gas nitrogen pada temperatur 40 °C. setelah kering ditambahkan dengan 50 μL MSTFA, di-vorteks dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit.

b. Analisis dengan GC-MS

- 1) Cairan hasil preparasi diinjeksikan ke GC-MS.
- 2) Untuk uji LoD, dilihat dari sinyal terkecil yang terdeteksi. Pengenceran terus dilakukan hingga sampel tidak dapat terdeteksi lagi (LoD). Penentuan konsentrasi LoD berdasarkan pada waktu retensi dan nilai rasio *Signal to Noise* (S/N) sesuai dengan keberterimaan yang ditetapkan.
- 3) Setelah didapat titik LoD, dibuat replika sebanyak 6 kali dan diinjek masing-masing 3 kali ulangan.

c. Pengolahan data

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



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.13**

Validasi Metode GCMS
untuk Identifikasi *11-nor-carboxy-delta
9 tetrahydrocannabinol*
(THC-COOH) dalam urin preparasi SPE

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 3 dari 6

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)			
		Intra-day	Inter-day	Analisis 1	Analisis 2
	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
Rata - rata					
Keberterimaan		$\leq 20\%$ <i>false negative</i> ; RSD Rt $\leq 2\%$.			

Simpulan :

3. Spesifisitas/selektivitas

a. Preparasi

- 1) Larutan sampel uji disiapkan pada beberapa kondisi tertentu, diantaranya adalah :
 - a) Sampel uji berupa larutan standar dari analit dan/atau metabolit pada satu golongan yang sama. Contoh : *cannabinol/ cannabidiol/ cannabichromene/* golongan cannabis lainnya.
 - b) Sampel uji berupa blanko spesimen yang di-spike dengan analit dan/atau metabolit pada satu golongan yang sama. Contoh : *cannabinol/ cannabidiol/ cannabichromene/* golongan cannabis lainnya.
 - c) Sampel uji berupa larutan standar dari analit beda golongan. Contoh : morfina/ metamfetamina/ senyawa lainnya yang bukan merupakan golongan cannabis.
 - d) Blanko matriks dari 5 sumber yang berbeda.
 - e) Sampel uji berupa senyawa yang memiliki waktu retensi mirip dengan analit uji (jika ada).
- 2) Sampel disiapkan sebanyak paling sedikit 4 replika untuk masing-masing kondisi.
- 3) Preparasi sampel (sesuai dengan LU-IKS 03 identifikasi *11-nor-9-carboxy-delta9-THC* (THC-COOH) dalam urin) : 2 mL sampel ditambahkan dengan 2 mL buffer CH_3COONa 0,1 N pH 4.
- 4) Pengkondisian kolom : 6 mL akuades, 6 mL metanol dan 2 mL larutan buffer CH_3COONa 0,1N pH 4 dilewatkan pada kolom SPE secara berturut-turut (*solvent* yang keluar dari SPE dibuang). Kemudian ditunggu hingga SPE mengering.
- 5) Sampel uji yang telah dipreparasi pada point a. Dilewatkan pada kolom SPE, kemudian 2 mL asam asetat 0,1 M dan 4 mL campuran asetonitril : akuades dengan perbandingan 40 : 60 (sampel dan *solvent* yang keluar dari kolom dibuang). Kolom ditunggu hingga kering.
- 6) Elusi : 3,6 mL asetonitril dilewatkan pada kolom dan ditampung menggunakan tabung reaksi. Derivatisasi : hasil elusi kemudian dikeringkan menggunakan gas nitrogen pada temperatur 40 °C. setelah kering ditambahkan dengan 50 μL MSTFA, di-vorteks dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit.



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.13**

Validasi Metode GCMS
untuk Identifikasi *11-nor-carboxy-delta
9 tetrahydrocannabinol*
(THC-COOH) dalam urin preparasi SPE

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 4 dari 6

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 THC-COOH dan senyawa/matriks lain yang mungkin terbentuk dan dapat mengintervensi/mengganggu proses deteksi (THC-COOH).
- 2) Nilai resolusi (daya pisah) dihitung terhadap *peak*/puncak THC-COOH dan senyawa lain yang mungkin terbentuk/terdeteksi.

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

d. Keberterimaan

- 1) Hasil uji positif terhadap sampel uji mengandung THC-COOH tanpa ada *peak* lain mengganggu pada waktu retensi THC-COOH.
- 2) Hasil negatif pada sampel uji tidak mengandung THC-COOH (tidak memberikan positif palsu).
- 3) Resolusi > 1,5 (jika terdapat senyawa lain yang memberikan respon *peak*/ berdekatan dengan *peak* THC-COOH).

e. 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) Larutan sampel THC-COOH dalam urin disiapkan sebanyak 3 replika pada konsentrasi tertentu, dan sesuai dengan pengaturan waktu dan suhu (Tabel uji stabilitas).
- 3) Preparasi sampel (sesuai dengan LU-IKS 03 identifikasi *11-nor-9-carboxy-delta9-THC* (THC-COOH) dalam urin) : 2 mL sampel ditambahkan dengan 2 mL buffer CH₃COONa 0,1 N pH 4.



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.13**

Validasi Metode GCMS
untuk Identifikasi *11-nor-carboxy-delta*
9 tetrahydrocannabinol
(THC-COOH) dalam urin preparasi SPE

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 5 dari 6

- 4) Pengkondisian kolom : 6 mL akuades, 6 mL metanol dan 2 mL larutan buffer CH_3COONa 0,1N pH 4 dilewatkan pada kolom SPE secara berturut-turut (solvent yang keluar dari SPE dibuang). Kemudian ditunggu hingga SPE mengering.
- 5) Sampel uji yang telah dipreparasi pada point 3. Dilewatkan pada kolom SPE, kemudian 2 mL asam asetat 0,1 M dan 4 mL campuran asetonitril : akuades dengan perbandingan 40 : 60 (sampel dan solvent yang keluar dari kolom dibuang). Kolom ditunggu hingga kering.
- 6) Elusi : 3,6 mL asetonitril dilewatkan pada kolom dan ditampung menggunakan tabung reaksi. Derivatisasi : hasil elusi kemudian dikeringkan menggunakan gas nitrogen pada temperatur 40 °C. setelah kering ditambahkan dengan 50 μL MSTFA, di-vorteks dan didiamkan pada temperatur ruang selama 30 menit.

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 60a 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. C. Moore et al., "Detection of the marijuana metabolite 11-nor- Δ^9 - tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in oral fluid specimens and its contribution to positive results in screening assays," J. Anal. Toxicol., vol. 30, no. 7, pp. 413–418, 2006, doi: 10.1093/jat/30.7.413.
2. *Guidance and Validation of Analytical Methodology Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens* – UNODC 2009.



**BADAN NARKOTIKA NASIONAL
PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA**

**INSTRUKSI KERJA
LU-IKM 16.13**

Validasi Metode GCMS
untuk Identifikasi *11-nor-carboxy-delta
9 tetrahydrocannabinol*
(THC-COOH) dalam urin preparasi SPE

Tgl : 22-05-2026

Ed : 03

Rev : 02

Hal : 6 dari 6

3. Korać, N.a,b, Vidic, D.b,*, Sutlović, D.c, "Modified QuEChERS extraction and GC-MS analysis of selected cannabinoids from human urine," 2020, doi: 10.35666/ghtbh.2020.54.07.
4. M. A. Huestis, "REVIEW Human Cannabinoid Pharmacokinetics," vol. 4, pp. 1770–1804, 2007.
5. *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-IKS 03 Identifikasi *11-nor-9-carboxy-delta9-THC (THC-COOH)* dalam urin .
3. LU-IKM 17 Metode Instrumentasi GC-MS.
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.