

Identification of 11-Nor- δ 9-Tetrahydrocannabinol-9-Carboxylic acid (THC-COOH) In Urine Samples Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Instrument

Identifikasi Nor- δ 9-Tetrahydrocannabinol-9-Carboxylic acid (THC-COOH) Dalam Sampel Urin Menggunakan Instrumen Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Muhammad Fadhil Abdushshobir¹, Tanti², Maisari Utami^{1*}

¹*Program Studi Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang KM.14,5, Sleman, D.I. Yogyakarta 55584, Indonesia*

²*Pusat Laboratorium Narkotika, Badan Narkotika Nasional, Jl. BNN Lido No. 15, Bogor, Jawa Barat 16110, Indonesia*

*Corresponding author: maisariutami@uii.ac.id

Diterima: 27 Agustus 2024, Direvisi: 25 Oktober 2024, Diterbitkan: 09 Desember 2024

ABSTRACT

“Narkoba” is known as an narcotics, psychotropics, and other addictive substances. Drugs are substances that can affect brain function and often cause dependence. One type of drug that is common in Indonesia is marijuana. Marijuana is a psychotropic that contains tetrahydrocannabinol (THC). When THC enters the human body, it will undergo a metabolic process and produce metabolites in the form of 11-nor- δ 9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THC-COOH) which are then excreted in the urine. Urine identification can be used to prove the use of marijuana. Identification is carried out using urine from the National Narcotics Agency's Narcotics Laboratory Center to confirm the presence of THC-COOH using a gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS). Urine identification is carried out with a preliminary rapid test and a confirmation test using a GC-MS instrument. The identification results showed that the urine was positive for THC-COOH.

Keywords: *Drugs, Marijuana, Tetrahydrocannabinol (THC), 11-nor- δ 9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THC-COOH), Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS).*

ABSTRAK

“Narkoba” adalah singkatan dari narkotika, psikotropika, dan zat adiktif lainnya. Narkoba merupakan bahan yang dapat mempengaruhi kerja otak dan sering menyebabkan ketergantungan. Salah satu jenis narkotika yang umum di Indonesia adalah ganja. Ganja merupakan psikotropika yang mengandung tetrahydrocannabinol (THC). Ketika THC masuk ke dalam tubuh manusia, ia akan mengalami proses metabolisme dan menghasilkan metabolit berupa 11-nor- δ 9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THC-COOH) kemudian diekskresikan didalam urin. Identifikasi urin dapat digunakan untuk membuktikan penggunaan ganja. Identifikasi dilakukan menggunakan urin dari Pusat Laboratorium Narkotika Badan Narkotika Nasional untuk mengonfirmasi keberadaan THC-COOH menggunakan *gas chromatography-mass spectrometer* (GC-MS). Identifikasi urin dilakukan dengan uji pendahuluan *rapid test* dan uji konfirmasi menggunakan instrumen GC-MS. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa urin tersebut positif mengandung THC-COOH.

Kata kunci: *Narkoba, Ganja, Tetrahydrocannabinol (THC), 11-nor- δ 9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid (THC-COOH), Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS).*

PENDAHULUAN

Menurut UU No. 35 Tahun 2009 tentang narkotika, narkotika merupakan zat atau obat yang berasal dari tanaman atau bukan tanaman, baik sintetis maupun semi sintetis, yang dapat menyebabkan hilangnya rasa, penurunan atau perubahan kesadaran, mengurangi sampai menghilangkan rasa nyeri, dan dapat menyebabkan ketergantungan (Elisabet dkk., 2022). Sedangkan menurut Jackobus (2005), narkotika merupakan zat atau obat yang dapat mengakibatkan ketidaksadaran, digunakan untuk menenangkan syaraf, atau pembiusan, menimbulkan rasa mengantuk atau merangsang, menghilangkan rasa nyeri dan sakit, serta dapat menimbulkan adiksi atau kecanduan, dan obat atau zat yang telah ditetapkan oleh Menteri kesehatan sebagai narkotika. Psikotropika adalah zat atau obat bukan narkotika, baik alami maupun sintetis, yang memiliki efek psikoaktif melalui pengaruh selektif pada struktur saraf pusat, menyebabkan perubahan khusus pada perilaku dan aktivitas mental.

Fakta membuktikan bahwa kondisi negara Indonesia saat ini sedang mengalami keadaan darurat narkoba, salah satu hal yang menjadi penyebabnya adalah meningkatnya kasus narkoba pada setiap tahunnya. Tanpa disadari berkembangnya teknologi yang meningkat secara pesat pada berbagai bidang memberikan dampak

negatif terhadap penyebaran narkoba di Indonesia, karena semakin mudah akses terutama pada bidang informasi menjadikan tantangan tersendiri bagi aparat hukum untuk melakukan usaha dan upaya pencegahan terhadap masuknya zat-zat narkotika yang berbahaya dan terlarang di Indonesia (Lukman dkk., 2021).

Badan Narkotika Nasional (BNN) adalah sebuah lembaga Nonkementerian yang berada di bawah dan bertanggung jawab langsung kepada Presiden. Tugas utamanya adalah melakukan koordinasi, membuatnya menjadi Lembaga Pemerintah Nonkementerian (LPNK) dengan kewenangan untuk melakukan penyelidikan dan penyidikan (Yono, 2020). Dalam mendukung aspek teknis kerja laboratorium BNN, satuan kerja yang disebut Pusat Laboratorium Narkotika Badan Narkotika Nasional Republik Indonesia (Puslab Narkotika BNN) dibentuk. Sesuai dengan Undang-Undang No. 35 Tahun 2009 tentang Narkotika, BNN bertanggung jawab atas pembinaan Laboratorium Narkotika dan Prekursor Narkotika.

Pemeriksaan atas barang bukti mati terkait Tindak Pidana Penyalahgunaan Narkotika dilakukan oleh Laboratorium Narkotika yang merupakan bagian dari BNN, sebagai bagian integral dari teknik penyidikan dengan fokus pada aspek

teknologi atau *scientific crime investigation*. Barang bukti narkotika yang diterima oleh Laboratorium Narkotika BNN diselidiki secara ilmiah untuk menegakkan kebenaran. Proses ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang dikonsumsi oleh individu dalam kasus penyalahgunaan narkotika. Dalam konteks pemeriksaan jenis narkotika ini, penting untuk mencari metode-metode yang telah teruji dan dapat menghasilkan analisis yang optimal terhadap narkotika tersebut. Salah satu lembaga resmi pemerintah yang memiliki kewenangan dalam melakukan pemeriksaan narkotika adalah BNN (Taufik & Marpaung, 2017).

Identifikasi senyawa narkotika, psikotropika, dan bahan adiktif (Narkoba) dapat dilakukan dengan menggunakan sampel spesimen biologi, salah satu diantaranya adalah urin. Urin adalah larutan kompleks yang terdiri dari air (sekitar 96%) serta berbagai bahan organik dan anorganik. Komponen organik yang signifikan meliputi urea, asam urat, kreatinin, sementara komponen anorganiknya antara lain NaCl, sulfat, fosfat, dan ammonia. Zat-zat yang tidak diperlukan oleh tubuh dalam kondisi normal cenderung ditemukan dalam kadar yang lebih tinggi dalam urin dibandingkan dengan darah, sedangkan hal ini tidak berlaku untuk zat-zat yang masih

diperlukan oleh tubuh. Kondisi lingkungan tubuh dan peran organ-organ dalam proses metabolik zat-zat tersebut dapat teridentifikasi melalui analisis urin (Guyton & Hall, 2006). Oleh karena itu, urin memiliki peran penting dalam konteks penegakan hukum dan peradilan, terutama dalam memberikan informasi mengenai riwayat penyalahgunaan narkotika (Taufik & Marpaung, 2017).

Salah satu jenis narkotika yang kerap disalahgunakan ialah ganja. Ganja telah lama dikenal di seluruh dunia, dan di beberapa tempat, tanaman ini dibudidayakan untuk menghasilkan serat kanabis yang memiliki sifat psikoaktif (Hariaji, 2017). Ganja menjadi salah satu zat yang paling sering terdeteksi dalam tes narkoba melalui urin. Senyawa δ 9-*tetrahydrocannabinol* (Δ 9-THC) adalah komponen psikoaktif utama dalam ganja dan cepat termetabolisme menjadi metabolit *11-nor- δ 9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid* (THC-COOH) dalam urin (Goodwin dkk., 2008). Identifikasi sebelumnya mengungkapkan bahwa Δ 9-THC merupakan senyawa psikoaktif utama dalam ganja yang bertanggung jawab atas efek utama yang terkait dengan penggunaan tanaman ini (Crippa dkk., 2018).

Komponen utama yang bersifat psikoaktif dalam tanaman ganja adalah Δ 9-THC, yang bertindak sebagai agonis parsial pada reseptor *cannabinoid* yang biasanya berperan dalam menjaga keseimbangan neuron dan fungsi kekebalan tubuh (Leni dkk., 2021). Sampai saat ini, sampel ganja telah teridentifikasi mengandung sekitar 60 zat aktif *cannabinoid*, termasuk Δ 9-THC, CBD (*canabidiol*), CBN (*canabinol*), CBG (*cannabigerol*), CBC (*cannabichromene*), dan lain-lain (Tayyab & Shahwar, 2015). Sejumlah senyawa kimia telah ditemukan dalam *C. sativa*, termasuk *cannabinoids*, *terpenes*, dan senyawa fenolik. Lebih dari 120 *cannabinoids* dan 120 terpen (terutama mono dan seskuiterpen) telah diidentifikasi di *C. sativa*. Δ 9-THC dianggap sebagai *cannabinoid* psikoaktif utama, sedangkan terpen diproduksi di dalam trikoma ganja bersama dengan *cannabinoids*, dan bertanggung jawab atas aroma khas dari tanaman Ganja (Ibrahim dkk., 2018).

Dalam teknik pemeriksaan secara kimiawi, instrumen yang dimiliki oleh Laboratorium Narkotika BNN diantaranya adalah *gas chromatography-mass spectrometer* (GC-MS). Keunggulan metode GC-MS antara lain adalah: efisien, memiliki resolusi yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk menganalisis partikel sampel dalam jumlah yang kecil, menganalisis puluhan bahkan ratusan

sampel dalam jangka waktu yang relatif cepat, selain itu metode ini tidak merusak sampel karena fase gerak yang digunakan sangat terkontrol baik kecepatan maupun tekanannya dan memiliki sensitivitas yang tinggi (Wiraagni dkk., 2021).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan pada identifikasi ini yaitu pot urin 40 mL, pipet tetes 3 mL, *tube extraction screw cap* 10 mL *multi rapid test Biocare 7 test*, rak tabung reaksi, *turbomax*, *centrifuge spectrafuge 6c lab net*, *hairdyer SHD 750*, lemari asam, *micropipette socorex 100 μ L*, vial 1,5 mL *agilent*, GC-MS Shimadzu QP-2020 NX Nexis, *cups/aluminium cups*, tatakan aluminium *cups toxi-lab*.

Bahan

Bahan yang digunakan pada identifikasi ini, yaitu urin diduga mengandung THC-COOH 5 mL, urin kontrol positif THC 5 mL, KOH 10 M 7 tetes, *extraction solvent* THC \pm 3 mL, Asam asetat glasial 1 mL, dan 100 μ L MSTFA (*N-methyltrimethylsilyltri-fluoroacetamide*).

Prosedur Identifikasi

Metode yang digunakan pada identifikasi THC-COOH dalam sampel urin menggunakan instrumen GC-MS

merupakan metode standar yang biasanya digunakan untuk identifikasi THC-COOH pada sampel urin di Pusat Laboratorium Narkotika BNN. Metode ini memiliki tahapan sebagai berikut:

1. Teknik *Immunoassay*

Multi rapid test dicelupkan kedalam pot yang berisi sampel urin diduga mengandung senyawa THC-COOH hingga tanda batas maksimal pencelupan. Kemudian ditunggu selama beberapa menit hingga hasil keluar dan terbaca. Apabila hasil positif maka tampak garis pada huruf C (zona kontrol validitas) dan tidak tampak garis pada huruf T (zona tes/uji). Sedangkan apabila hasil negatif maka tampak dua garis berwarna *pink* pada huruf C dan huruf T.

2. Uji Konfirmasi dengan GC-MS

Sampel urin yang diduga mengandung THC-COOH dan kontrol positif urin yang mengandung THC-COOH, masing-masing dimasukkan 5 mL ke dalam tabung ekstraksi. Kemudian ditambahkan KOH sebanyak 0,7 mL, lalu dikocok selama 5 menit. Setelah dikocok, tabung ekstraksi dipanaskan menggunakan *thermostatic* dengan suhu 60 °C selama 30 menit lalu didinginkan hingga suhu ruang. Cairan yang sudah dingin, ditambahkan asam asetat glasial sebanyak 1 mL dan

dikocok kembali selama 5 menit, kemudian ditambahkan *extraction solvent* THC-COOH sebanyak ± 3 mL diekstraksi dengan dilakukan pengocokan selama 5 menit. Setelah diekstraksi, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit.

Cairan akan terpisah antara fase air dan organik. Diambil fase organik dengan pipet tetes dan dimasukkan ke dalam *concentration cup* lalu dikeringkan menggunakan *hairdryer*. Setelah fase organik mengering, ditambahkan *N-methyltrimethylsilyltrifluoroacetamide*

MSTFA sebanyak 100 μ L dan dipindahkan cairan ke dalam vial. Larutan dalam vial dipanaskan dengan suhu 60 °C selama 30 menit menggunakan *turbomax* lalu didinginkan hingga suhu kamar. Larutan siap diinjeksikan ke dalam GC-MS.

3. Kriteria Penerimaan Sampel

a. Waktu retensi

Apabila waktu retensi kontrol positif THC-COOH dan sampel urin sama yaitu 16,00 sampai $\pm 0,5$ menit dengan GC-MS Shimadzu QP2020 NX maka dapat disimpulkan bahwa urin mengandung THC-COOH.

b. Fragmentasi

Apabila fragmen kontrol positif THC-COOH dan sampel urin yang

diperoleh yaitu m/z 371, m/z 473, m/z 488, m/z 474, dan m/z 489 dengan GC-MS Shimadzu QP2020 NX maka dapat disimpulkan bahwa urin mengandung THC.

c. Kesamaan dengan *Library*

Apabila *similarity index* kontrol positif THC-COOH dan sampel urin yang diperoleh sebesar 90-100% maka dapat disimpulkan bahwa sampel urin mengandung THC. *Library* yang digunakan yaitu NIST17.LIB.

Apabila kriteria sampel urin sudah sesuai dengan kriteria penerimaan seperti yang diatas, maka sampel tersebut positif mengandung THC.

PEMBAHASAN

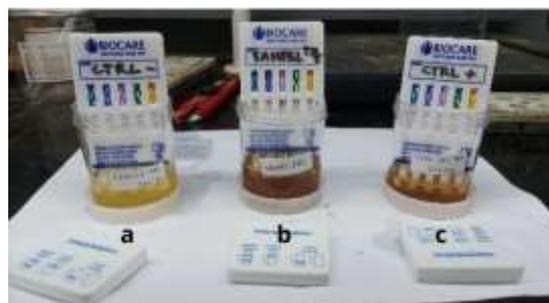
Identifikasi Sampel Urin

Uji Skrining

Uji skrining atau pendahuluan merupakan langkah awal yang harus dilakukan saat sampel tiba di laboratorium pengujian. Tujuan dari uji pendahuluan ini adalah agar dapat menentukan metode yang tepat untuk uji konfirmasi.

Uji pendahuluan dilakukan pada sampel urin diduga mengandung THC (urin uji), urin kontrol positif THC (kontrol positif THC-COOH), dan urin kontrol negatif THC (kontrol negatif THC-COOH). THC pada urin merujuk pada THC-COOH yang merupakan metabolit dari Δ^9 -THC

salah satu senyawa yang terkandung dalam ganja. Sampel urin uji, kontrol positif, dan kontrol negatif dalam wadah *pot plastic* ditunjukkan pada Gambar 1.



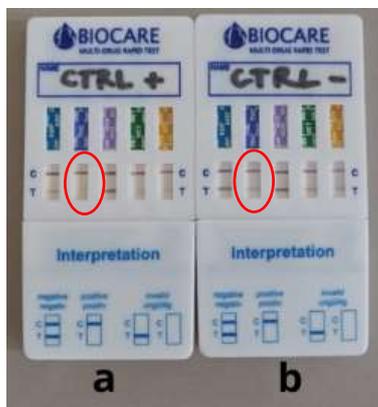
Gambar 1. Proses uji pendahuluan pada urin uji (a), kontrol positif THC-COOH (b), dan kontrol negatif THC-COOH (c) menggunakan *multi rapid test*.

Jenis *immunoassay* yang digunakan di Puslab Narkotika BNN adalah *multi rapid test*. *Multi rapid test* merupakan suatu teknik pemeriksaan yang cepat dan dirancang untuk mendeteksi lebih dari satu jenis zat atau bahan dalam sampel yang sedang dilakukan analisis. Proses uji pendahuluan pada sampel urin uji, kontrol positif, dan kontrol negatif ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Proses uji pendahuluan pada (a) urin uji, (b) kontrol positif THC-COOH, (c) kontrol negatif THC-COOH.

dan (c) kontrol negatif THC-COOH menggunakan *multi rapid test*.



Gambar 3. Hasil *multi rapid test* pada kontrol positif THC-COOH (kiri), dan kontrol negatif THC-COOH (kanan).

Urin kontrol positif THC-COOH dan kontrol negatif THC-COOH digunakan sebagai pembanding terhadap sampel yang diduga mengandung THC-COOH (urin uji). Selain itu, penggunaan kontrol positif THC-COOH bertujuan untuk menilai sejauh mana hasil yang diperoleh sesuai dengan standar yang telah ditetapkan sebelumnya. Hal ini membantu meningkatkan validitas dan kepercayaan terhadap hasil yang diperoleh dalam proses identifikasi. Hasil *multi rapid test* pada kontrol positif THC-COOH dan kontrol negatif THC-COOH seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.

Multi rapid test pada kontrol positif THC-COOH terdapat satu garis merah pada huruf C (indikator THC-COOH), menunjukkan keberadaan THC-COOH

dalam urin. Sedangkan pada kontrol negatif THC-COOH terdapat dua garis merah pada huruf C dan T (indikator THC-COOH dan senyawa lainnya), menunjukkan ketiadaan THC-COOH maupun senyawa lainnya dalam urin tersebut. Kemudian pada urin uji dilakukan *rapid test* menggunakan *multi rapid test* seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil *rapid test* pada urin uji menggunakan *multi rapid test*.

Hasil menunjukkan bahwa sampel urin tersebut mengandung THC-COOH, ditandai dengan munculnya satu garis pada huruf C (zona kontrol validitas) pada *multi rapid test*. Hasil ini konsisten dengan hasil kontrol positif (urin yang mengandung THC-COOH).

Uji Konfirmasi dengan GC-MS

Uji konfirmasi dengan GC-MS merupakan tahapan uji yang dilakukan setelah uji pendahuluan (*screening test*). Uji konfirmasi ini penting karena memberikan kepastian yang lebih tinggi

pada saat analisis keberadaan THC-COOH dalam sampel urin.

Sebelum dilakukan uji konfirmasi GC-MS terhadap sampel urin, diperlukan preparasi sampel terlebih dahulu. Dimulai dengan mempersiapkan 3 tabung ekstraksi, tabung pertama diisi dengan 5 mL sampel urin kontrol positif THC-COOH, tabung kedua diisi dengan 5 mL kontrol negatif THC-COOH, dan tabung ketiga diisi dengan sampel urin yang diduga mengandung THC-COOH (urin uji). Kemudian ditambahkan KOH 10 M sebanyak 0,7 mL ke dalam masing-masing tabung reaksi. Penambahan KOH ke dalam urin bertujuan untuk menginduksi proses hidrolisis. Hidrolisis adalah reaksi kimia di mana sebuah senyawa terurai menjadi dua atau lebih senyawa lainnya karena intervensi air (Rohmah dan Fickri, 2020).

Selanjutnya dilakukan pemanasan pada suhu 60 °C selama 30 menit menggunakan *turbomax*. Pemanasan ini bertujuan untuk mempercepat reaksi hidrolisis, dengan meningkatkan suhu sampel, energi termal yang dihasilkan dari pemanasan dapat meningkatkan kecepatan reaksi hidrolisis. Kemudian sampel didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Setelah sampel dingin, ditambahkan asam asetat glasial sebanyak 1 mL dan dikocok selama 5 menit. Penambahan asam asetat glasial sebanyak 1 mL bertujuan untuk

menciptakan suasana asam yang diperlukan untuk tahap ekstraksi berikutnya. Asam asetat glasial, yang merupakan bentuk murni dari asam asetat, bertindak sebagai agen pengasam yang penting.

Dalam suasana asam, dilakukan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair, atau yang lebih dikenal sebagai ekstraksi *solvent*, adalah suatu metode pemisahan fasa cair yang memanfaatkan perbedaan dalam kelarutan zat terlarut di antara larutan asal dan pelarut pengeksrak (*solvent*). Prinsip dasar dari proses ekstraksi cair-cair ini melibatkan pencampuran suatu larutan dengan pelarut lain yang tidak dapat melarutkan satu sama lain (*immisible*) dengan pelarut asal, yang memiliki densitas yang berbeda, sehingga terjadi pembentukan dua fasa setelah pelarut ditambahkan (Mirwan, 2013).



Gambar 5. Lapisan atas (a) berupa fase organik yang mengandung metabolit THC yaitu THC-COOH dan lapisan bawah (b) berupa urin.

Proses ekstraksi cair-cair pada identifikasi ini menggunakan *extraction solvent* THC \pm 3 mL dan diikuti dengan pengadukan untuk memastikan ekstraksi yang optimal. Campuran pelarut ini dipilih karena kemampuannya untuk menguap dengan mudah, sehingga mempermudah proses penghilangan pelarut karena senyawa THC-COOH memiliki gugus yang bersifat polar dan non-polar.

Selanjutnya dilakukan proses sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Sentrifugasi dilakukan setelah proses ekstraksi bertujuan untuk mengendapkan protein dalam urin yang dapat mengganggu proses analisis. Prinsip kerja sentrifugasi adalah memisahkan partikel berdasarkan densitas atau bobot jenisnya dengan menerapkan gaya sentrifugal melalui pemusingan. Dengan melakukan sentrifugasi, protein-protein tersebut dapat dipisahkan dan diendapkan sehingga tidak ikut serta dalam analisis yang akan dilakukan (Hawa dkk., 2019). Dari proses ini, dihasilkan dua lapisan, lapisan atas berupa fase organik yang mengandung metabolit THC yaitu THC-COOH dan lapisan bawah berupa urin.

Pada identifikasi ini, reagen penderivat yang digunakan adalah MSTFA, sehingga derivatisasi terjadi secara sililasi. Sililasi adalah sebuah proses derivatisasi yang menghasilkan produk berupa silil

derivatif yang sangat mudah menguap dan lebih stabil saat terpapar suhu tinggi. Mekanisme kerja dari penderivat tipe silil ini terjadi dengan menggantikan gugus hidrogen (H) pada molekul dengan trimetilsilil atau TMS (Ari dkk., 2016). Untuk mendapatkan *TMS-11-nor-delta-9-carboxy-tetrahydrocannabinol* (TMS THC-COOH) yang merupakan hasil derivatisasi dari THC-COOH, pemanasan diperlukan sebagai tahap penting dalam proses tersebut. Pemanasan ini bertujuan untuk meningkatkan kecepatan proses derivatisasi. Setelah melalui tahap derivatisasi dengan menggunakan MSTFA, THC-COOH akan berubah menjadi TMS THC-COOH. Senyawa inilah yang kemudian dapat dideteksi oleh instrumen GC-MS.

Setelah dilakukan derivatisasi menggunakan MSTFA, urin uji, kontrol positif, dan kontrol negatif THC-COOH diinjeksikan ke dalam instrumen GC-MS QP2020 NX dengan merk *Shimadzu Nexis* yang menggunakan kolom HP-5MS 5% *Phenyl Methyl Silox* dengan gas pembawa yang digunakan, yaitu helium (He). Sampel diinjeksikan sebanyak 100 μ L menggunakan metode *splitless*. Pada metode ini, sampel diinjeksikan langsung ke dalam kolom kromatografi gas tanpa adanya pemisahan awal dengan penggunaan splitter, sehingga semua

komponen sampel diarahkan ke dalam kolom untuk dipisahkan secara efisien sebelum masuk ke detektor massa, sehingga meningkatkan sensitivitas dan kepekaan deteksi. Suhu pada inlet kolom GC, yaitu 250 °C. Pengaturan suhu oven pada instrumen GC-MS untuk analisis sampel pada suhu 150 °C dan dipertahankan pada suhu tersebut selama 1 menit. Pemanasan awal ini bertujuan untuk mengkondisikan kolom kromatografi gas dan memastikan bahwa kondisi awal sistem stabil sebelum injeksi sampel dilakukan. Setelah pemanasan awal, suhu oven dinaikkan secara bertahap dengan laju pemanasan pertama sebesar 9 °C per menit hingga suhu 260 °C dan kedua 30 °C per menit hingga suhu 300 °C. Ini berarti suhu oven mengalami kenaikan dua kali, pertama sebesar 5 °C setiap menitnya hingga mencapai suhu 260 °C kemudian 30 °C setiap menitnya hingga mencapai suhu 300 °C. Kenaikan suhu secara bertahap ini membantu dalam pemisahan komponen-komponen yang kompleks dalam sampel, karena suhu yang lebih tinggi dapat meningkatkan efisiensi pemisahan di dalam kolom kromatografi gas. Oven akhirnya diprogram untuk mencapai suhu maksimum 300 °C dan dipertahankan pada suhu tersebut selama 5 menit. Pemanasan pada suhu maksimum ini bertujuan untuk meningkatkan kemampuan pemisahan

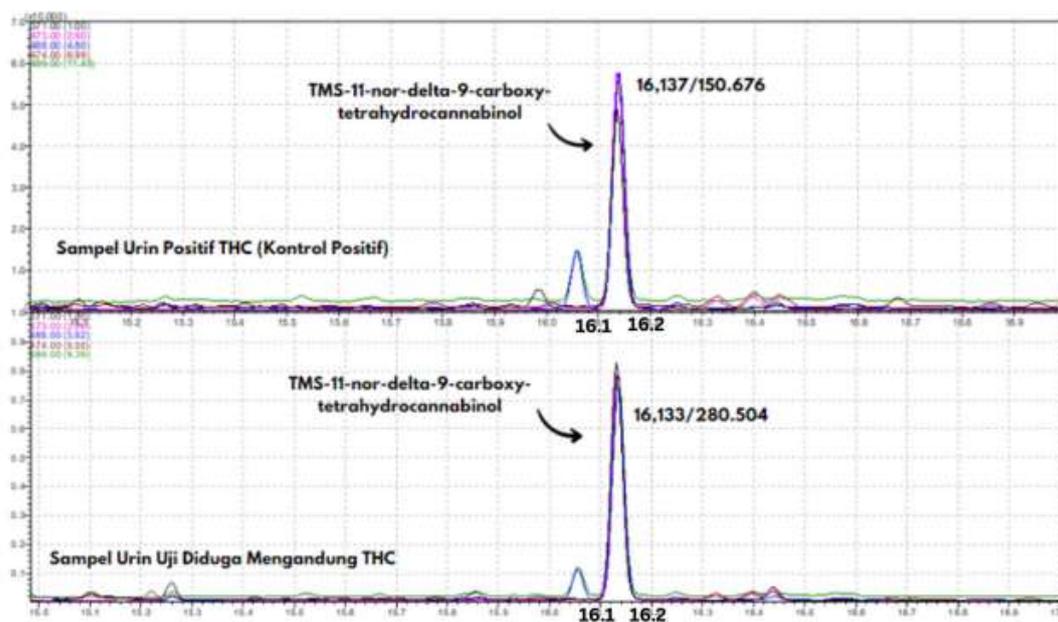
komponen-komponen dalam sampel dengan cara yang lebih efisien, serta meningkatkan sensitivitas deteksi. Periode waktu yang cukup panjang pada suhu maksimum juga memungkinkan untuk analisis yang lebih mendalam terhadap komponen-komponen yang kompleks dalam sampel.

Selanjutnya, sampel akan melewati kolom GC. Suhu pada antarmuka antara kolom GC dan spektrometer massa, yaitu 280 °C. Suhu ini membantu dalam transfer yang efisien dari komponen-komponen gas hasil kromatografi menuju spektrometer massa untuk analisis lebih lanjut sedangkan suhu pada sumber ion, yaitu 230 °C. Suhu ini mengontrol proses ionisasi molekul sampel menjadi ion-ion yang terdeteksi oleh detektor massa. *Solvent delay* atau waktu yang digunakan sebelum *solvent* (pelarut) dilewatkan dari kolom GC ke spektrometer massa adalah 4,5 menit. Hal ini membantu dalam menghindari pengiriman *solvent* ke detektor massa, yang dapat mengganggu analisis dan memperpendek umur detektor.

Setelah selesai dianalisis dengan instrumen GC-MS, akan diperoleh dua data yaitu kromatogram hasil analisis kromatografi gas (GC) dan spektra massa hasil analisis spektroskopi massa (MS). Kemudian dilakukan identifikasi sampel dengan membandingkan hasil waktu retensi

dan spektrum massa sampel yang telah dianalisis dengan data pustaka/library pada

jika konsentrasinya rendah (Ari dkk., 2016).



Gambar 6. Hasil kromatogram kontrol positif THC-COOH dan urin uji.

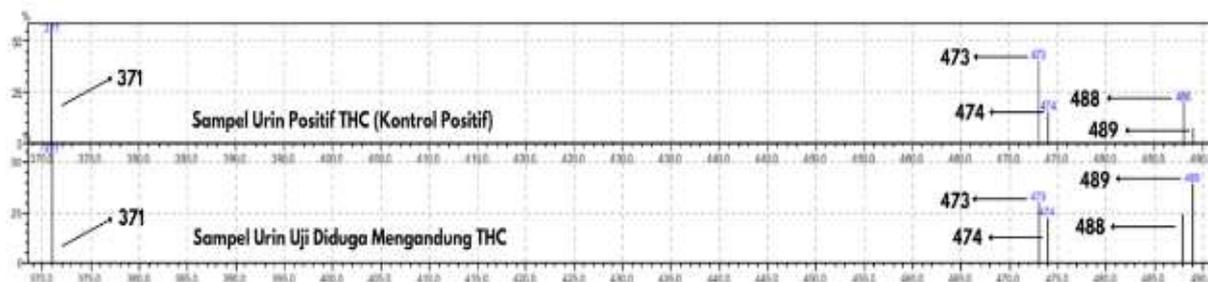
komputer. *Library* atau data pustaka yang digunakan pada Identifikasi ini yaitu NIST17.lib.

Pada instrumen GC-MS terdapat dua macam mode analisis, yaitu scan mode dan SIM (*Selected Ion Monitoring*) mode. Perbedaan dari kedua mode ini adalah dari kepekaan detektor membaca sampel, scan mode mendeteksi senyawa pada m/z tertentu dalam waktu tertentu sedangkan SIM mode mendeteksi senyawa tertentu yang sudah dipilih melalui m/z dan waktu retensinya dan mengabaikan senyawa di luar kriteria. Mode SIM lebih sensitif karena dengan menggunakan mode ini, senyawa-senyawa dengan ion-ion yang diinginkan atau yang memiliki kelimpahan yang tinggi saja akan terdeteksi, bahkan

Metode yang digunakan dalam Identifikasi identifikasi TMS THC-COOH adalah metode SIM. Untuk identifikasi TMS THC-COOH, diperlukan running yang berjalan hingga 19,56 menit. Metode SIM dipilih untuk mengurangi peak dari senyawa lain yang berada dalam sampel uji selain senyawa target. Dalam metode ini, *software* akan mengidentifikasi kromatogram dan fragmen-fragmen untuk senyawa TMS THC-COOH, yang merupakan senyawa hasil derivatisasi. Fragmen-fragmen ion m/z yang digunakan adalah m/z 371, m/z 473, m/z 488, m/z 474, dan m/z 489. Penggunaan fragmen-fragmen ion tersebut dipilih karena kelimpahan relatifnya lebih tinggi dan spesifik terhadap senyawa TMS THC-COOH.

Hasil kromatogram pada sampel akan dibandingkan dengan standar TMS THC-COOH pada database menggunakan *similarity index* (SI) dari *library* NIST17.lib untuk memastikan adanya TMS THC-COOH pada urin uji. GC-MS akan

menandakan adanya konsentrasi yang lebih tinggi dari THC-COOH dalam urin tersebut. Pada kromatogram masing-masing kontrol positif THC-COOH dan urin uji, terlihat adanya puncak selain puncak TMS THC-COOH. Hal ini



Gambar 7. Fragmentasi ion THC-COOH pada kontrol positif THC-COOH dan urin uji.

memberikan hasil berupa kromatogram *peak* dan fragmen-fragmen TMS THC-COOH. Hasil kromatogram kontrol positif THC-COOH dan urin uji dapat dilihat pada Gambar 6.

disebabkan karena senyawa lain dalam sampel urin yang memiliki gugus yang dapat mengalami ionisasi serupa dengan THC atau metabolitnya sehingga ikut terekstraksi dan terdeteksi dalam analisis.

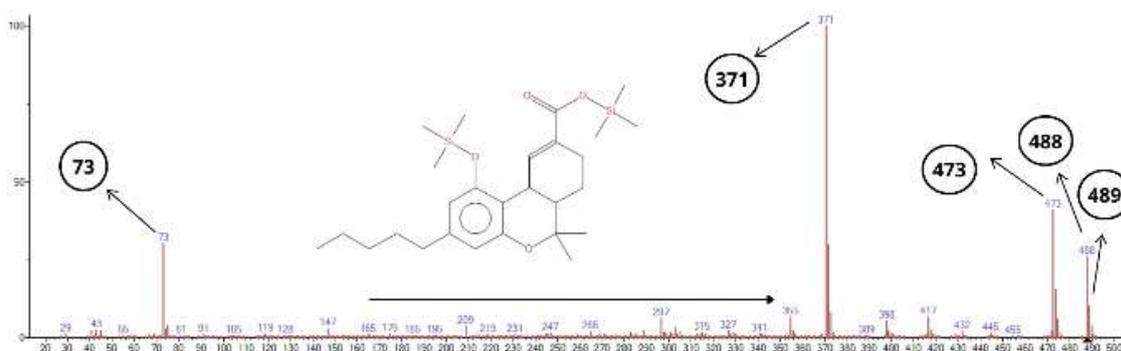
Hasil kromatogram identifikasi THC-COOH dalam urin menunjukkan bahwa nilai waktu retensi untuk kontrol positif THC-COOH adalah 16,137 menit, dengan luas area puncak sebesar 150.676 mAU. Sedangkan untuk sampel uji, nilai waktu retensi adalah 16,133 menit dengan luas area puncak sebesar 280.504 mAU. Perbedaan waktu retensi yang sangat kecil antara kontrol positif THC-COOH dan sampel uji menunjukkan adanya kemungkinan keberadaan THC-COOH dalam urin. Selain itu, luas area puncak yang lebih besar pada sampel uji

Selanjutnya, senyawa yang sudah terpisah kemudian akan ditembak dengan elektron dan menjadi molekul yang terionisasi sehingga terbentuk pola fragmentasi. Pola fragmentasi yang dihasilkan dari TMS THC-COOH kontrol positif THC-COOH dan urin uji dapat dilihat pada Gambar 7.

Berdasarkan *spectra* MS yang telah didapatkan, terlihat bahwa senyawa TMS THC-COOH memberikan puncak ion molekul pada m/z 371 dengan puncak fragmentasi pada m/z 473, 474, 488, dan 489. Hasil fragmentasi ini sesuai dengan

Identifikasi Lowe dkk, (2007). Pada MS, molekul-molekul organik ditembak dengan berkas elektron dan diubah menjadi ion-ion bermuatan positif bertenaga tinggi (ion-ion molekular atau ion-ion induk) yang dapat pecah menjadi ion-ion yang lebih kecil (ion-ion pecahan). Lepasnya elektron dari molekul menghasilkan radikal kation dan proses ini dapat dinyatakan sebagai $M \rightarrow M^+$. Ion molekular M^+ biasanya terurai menjadi sepasang pecahan fragmen yang dapat berupa radikal atau ion atau molekul yang kecil dan radikal kation. Pada MS, hanya fragmen yang bermuatan positif yang dapat terdeteksi.

Data MS menunjukkan bahwa setiap fragmen akan muncul sebagai garis sesuai dengan massanya dan tinggi garis menunjukkan kelimpahannya. Melalui massa fragmen dapat ditentukan struktur fragmen tersebut dan dengan merangkaikan berbagai struktur fragmen yang terdapat dalam spektrum massa dan fragmen yang hilang, struktur molekul induk dapat ditentukan.



Gambar 8. Spektrum massa standard senyawa TMS THC-COOH *library* NIST17.lib.

Komponen penyusun pada sampel TMS THC-COOH dapat juga ditentukan dari hasil perbandingan dengan melihat nilai hasil spektrum MS sampel uji dengan spektrum senyawa standar (Gambar 8). Semakin mirip nilai spektrum MS dengan spektrum standar, maka senyawa itu akan mirip dengan senyawa yang dianalisis.

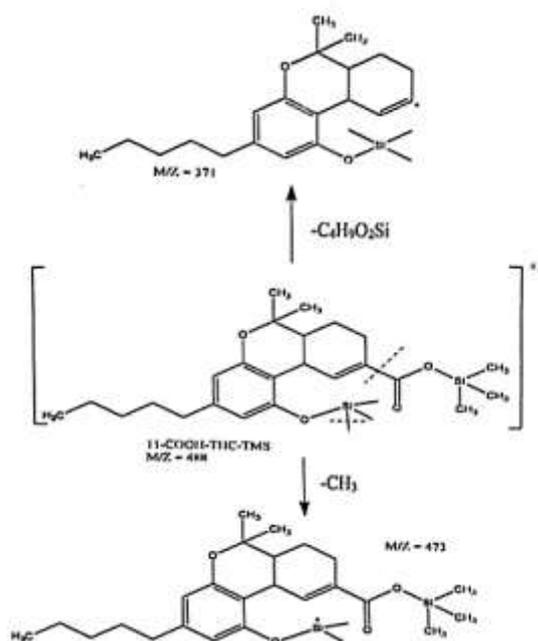
Hit	Similar	Regi	
1	91	<input checked="" type="checkbox"/>	TMS-11-COOH-tetrahydrocannabinol
2	83	<input type="checkbox"/>	(+/-)-11-nor-9-Carboxy-delta.9-THC
3	83	<input type="checkbox"/>	(+/-)-11-nor-9-Carboxy-delta.9-THC

Gambar 9. Hasil *similarity index* urin uji dengan *library* NIST17.lib.

Berdasarkan ketiga spektrum massa pada kontrol positif THC-COOH dan urin uji memiliki pola fragmentasi yang identik dengan pola fragmentasi senyawa TMS THC-COOH dengan *similarity index* sebesar 91% (Gambar 9) yang menunjukkan bahwa senyawa pada sampel urin uji mengandung senyawa THC-COOH.

Base peak atau puncak utama merupakan pecahan molekul dengan massa lebih kecil dari berat molekul senyawa aslinya dan merupakan fragmen yang paling melimpah dinyatakan mempunyai kelimpahan relatif 100%, dimana *base peak* yang didapatkan dari spektrum massa sampel urin uji adalah m/z 371.

Adanya detektor MS, senyawa yang terpisah akan dicocokkan dengan pengolahan data yang menyimpan data analisis standar SRM (*Standard Reference Material*), sebagai pembanding terhadap data analisis analit hasil penentuan. Identifikasi analit terhadap *Standard Library Spectra* dinyatakan dengan persen kemiripan.



Gambar 10. Pola fragmentasi THC-COOH (Lin & Lin, 2005).

Senyawa dinyatakan identik jika komputer menilai persen keduanya diatas 90%. Untuk lebih memastikan senyawa yang terkandung dalam sampel adalah THC-COOH maka dapat dilihat dari spektrum massa senyawa THC-COOH. Spektrum massa setiap senyawa berbeda-beda, sesuai dengan pola fragmentasi yang dialami senyawa pada saat terjadinya ionisasi (Taufik & Marpaung, 2017).

Puncak tertinggi (*base peak*) dari spektrum massa dapat dijadikan sebagai *finger print* senyawa tersebut. TMS THC-COOH berdasarkan NIST (*National Institute of Standards and Technology*) *finger print* dari TMS THC-COOH adalah 371 (didapat setelah terjadi pemutusan ion *dimethylacetoxysilane* ($\text{C}_4\text{H}_9\text{O}_2\text{Si}$), sedangkan nilai ion molekul m/z 473 adalah fragmen dengan puncak tertinggi kedua pada spektrum massa, yang terjadi karena pemutusan ion *methyl* CH_3 dan untuk memastikan spektrum massa TMS THC-COOH dipilih 4 puncak yaitu m/z 371, 473, 488, dan 489. Dari hasil pengamatan urin uji menunjukkan adanya fragmen utama pada m/z 371, 473, 488 dan 489 sehingga menunjukkan bahwa senyawa pada urin uji mengandung senyawa THC-COOH yang merupakan metabolit dari Δ^9 -THC pada ganja.

KESIMPULAN

Dari aktivitas yang telah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa proses pelayanan pengujian sampel di Pusat Laboratorium Narkotika BNN meliputi tahapan Penerimaan, Penimbangan, Pengujian, Pembuatan Hasil Pemeriksaan Laboratorium dan Pemberkasan, serta Pengembalian. Penerimaan mencakup pelayanan penerimaan berkas dan sampel atau barang bukti narkotika, pemeriksaan kesesuaian sampel, dokumentasi barang bukti/sampel, serta pengembalian sisa barang bukti beserta hasil uji laboratorium.

Pada identifikasi sampel urin yang diduga mengandung hasil metabolit dari Δ^9 -THC berupa THC-COOH di Pusat Laboratorium Narkotika Badan Narkotika Nasional, metode identifikasi terdiri dari uji pendahuluan/skrining dan uji konfirmasi. Uji skrining menggunakan jenis *immunoassay multi rapid test*, yang menunjukkan hasil positif THC-COOH dengan munculnya garis merah pada huruf C (zona kontrol validitas). Pada uji konfirmasi dengan GC-MS, didapati hasil bahwa sampel urin diduga mengandung THC-COOH. Hal ini dibuktikan dengan kesesuaian data hasil GC-MS berupa waktu retensi, luas area, fragmentasi, dan *similarity index* TMS THC-COOH. Pada urin uji didapatkan *peak* pada waktu retensi 16,133 menit dengan luas area sebesar

280.504 mAU, pada kontrol positif didapatkan *peak* pada waktu retensi 16,137 menit dengan luas area sebesar 150.676 mAU. Masing-masing terdapat *fragmentasi ion* pada m/z 371, m/z 473, m/z 488, 474 dan m/z 489 dengan *similarity index* sebesar 91% menggunakan *library* NIST17.lib. Dengan demikian, berdasarkan uji skrining dan konfirmasi, dapat disimpulkan bahwa urin uji dan control positif mengandung THC-COOH.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Bukhaiti, W. Q., Noman, A., Qasim, A. S., & Al-Farga, A. (2017). Gas Chromatography: Principles, Advantages and Applications in Food Analysis. In *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 6(1).
- Andrenyak, D. M., Moody, D. E., Slawson, M. H., O'Leary, D. S., & Haney, M. (2017). Determination of Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), 11-hydroxy-THC, 11-nor-9-carboxy-THC and cannabidiol in human plasma using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*, 41(4), 277–288.
- Ari, K., Darmapatni, G., Basori, A., Ni, D., & Suaniti, M. (2016a). Pengembangan Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Spesimen Rambut Manusia. In *Jurnal Biosains Pascasarjana* (Vol. 18, Issue 3).
- Ari, K., Darmapatni, G., Basori, A., Ni, D., & Suaniti, M. (2016b). Pengembangan Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Spesimen Rambut Manusia. In *Jurnal Biosains Pascasarjana* 18(3).
- Ari, K., Darmapatni, G., Basori, A., Ni, D.,

- & Suaniti, M. (2016c). Pengembangan Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Spesimen Rambut Manusia. In *Jurnal Biosains Pascasarjana* 18(3).
- Badan Narkotika Nasional. (n.d.). Alur Pelayanan Pusat Laboratorium Narkotika Bnn. Badan Narkotika Nasional. Diakses pada 20 Oktober 2024, dari <https://laboratorium.bnn.go.id/>
- Blau, K., & King, G. (1979). Handbook of Derivatives for Chromatography. In *Heyden & Sons Ltd.*
- BNN, P. (2022). *Indonesia Drugs Report 2022 (Puslitdatin BNN)*. <https://puslitdatin.bnn.go.id/>
- Borges, R. S., Batista, J., Viana, R. B., Baetas, A. C., Orestes, E., Andrade, M. A., Honório, K. M., & Da Silva, A. B. F. (2013). Understanding the molecular aspects of tetrahydrocannabinol and cannabidiol as antioxidants. *Molecules*, 18(10), 12663–12674.
- Darmapatni, K. A. G. (2016). Pengembangan Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Spesimen Rambut Manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(3).
- de Oliveira, K. O., Scanferla, D. T. P., da Silva, J. Q. P., Madia, M. A. O., Bando, E., Junior, M. M., Marchioni, C., & Mossini, S. A. G. (2021). Quantitative analysis of Δ^9 -THC-COOH in human urine by the liquid-liquid extraction technique and gas chromatography-mass spectrometry: Adaptation, optimization and validation. *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*, 8(30).
- Elisabet, A., Rosmaida, A., Pratama, A., Jonatan, J., Teresia, S., Yunita, S., & Kunci, K. (2022). Penyalahgunaan Narkoba di kalangan Remaja: Bahaya, Penyebab, dan Pencegahannya. *Jurnal Multidisiplin Indonesia*, 1(3), 877–886.
- Ganjar, I. G., & Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis Cetakan I (Pertama)*. Pustaka Pelajar.
- Grantica, I. P. P. T., Widyastuti, M. D., Santika, A. A. G. J., & Dewi, N. P. A. K. (2020). Blind Test Screening And Determination of Benzodiazepine using Strip Test and TLC-Spectrophotodensitometry. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences*, 10(1), 1–15. <http://ojs.unud.ac.id/index.php/ijlfs>
- Hadland, S. E., & Levy, S. (2016). Objective Testing: Urine and Other Drug Tests. In *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America* 25(3), 549–565.
- Harun, F., Dasrul, Sugito, Zuhrawaty, Nazaruddin, & Rahmi, E. (2017). Pengaruh Paparan Asap Ganja (*Cannabis sativa*) terhadap Patologi Anatomi Testis Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Strain Wistar. *Jimvet*, 1(2), 226–234.
- Hawa, L. C., Lastriyanto, A., & Ervantri, A. A. (2019). Analisa Sifat Fisik dan Kandungan Gizi Produk Krim Susu menggunakan Teknologi Sentrifugasi. *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian Dan Biosistem*, 7(2), 196–206. <https://doi.org/10.29303/jrpb.v7i2.130>
- Isnaeni, E. (2017). Penggunaan Ganja dalam Ilmu Pengobatan Menurut Undang-Undang Nomor 35 Tahun 2009 Tentang Narkotika. *Jurnal Independent*, 5(2), 46–54.
- Lin, D.-L., & Lin, R.-T. (2005). Distribution of 11-Nor-9-Carboxy-Ag-tetrahydrocannabinol in Traffic Fatality Cases. *Journal of Analytical Toxicology*, 29, 58–61.
- Lukman, G. A., Alifah, A. P., Divarianti, A., & Humaedi, S. (2021). Kasus Narkoba di Indonesia dan Upaya Pencegahannya di Kalangan Remaja. *Jurnal Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (JPPM)*, 2(3), 405–417.
- Mirwan, A. (2013). *Keberlakuan Model Hb-Gft Sistem n-heksana-mek-air pada Ekstraksi Cair-Cair Kolom*

- Isian*. 2(1), 32–39.
- Orata, F. (2012). *5 Derivatization Reactions and Reagents for Gas Chromatography Analysis*.
www.intechopen.com
- Priyasana, P. I., Mayagita, G. A. D., Rahmadinha, V., Megi Limba, K., & Made Nova Armita Sari, P. (2020). Screening and Determination of Codein in Urine Sample. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences*, 10(1), 30–37.
- Rohmah, M. K., & Fickri, D. Z. (2020). *Petunjuk Praktikum Biokimia untuk Program Studi S1 Farmasi*.
- Scheidweiler, K. B., Schwope, D. M., Karschner, E. L., Desrosiers, N. A., Gorelick, D. A., & Huestis, M. A. (2013). In Vitro Stability of Free and Glucuronidated Cannabinoids in Blood and Plasma Following Controlled Smoked Cannabis. *Clinical Chemistry*, 59(7), 1108–1117.
- Sharma, P., Bharath, S., & Murthy, P. (2010). Analisis kualitatif Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (HPTLC) cannabinoid Dalam Sampel Urine Ganja Pelaku Kekerasan. In *Indian J Med Res*, 132.
- Wu, S., Lv, G., & Lou, R. (2012). Applications of Chromatography Hyphenated Techniques in the Field of Lignin Pyrolysis. In *Applications of Gas Chromatography*. IntechOpen.
- Soetrisno, Didon, M., & Slamet, R. (2014). Hubungan Pembelajaran Kesehatan Reproduksi Remaja dengan Pengetahuan Tentang NAPZA Siswa SMU di Surakarta. *Jurnal Kesehatan Reproduksi*, 1(3), 196–202.
- Sparkman, D. O. P. Z. E. K. F. G. (2011). *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide* (2nd ed.). Library of Congress Cataloging in Publication data.
- Taufik, M., & Marpaung, H. (2017). Pemeriksaan Narkotika Menggunakan Sampel Urine. *Jurnal Stikna*, 1(1).
- Wahyudiono, J., Adlan, R., Permadewi, S., & Gibran, A. K. (2018). Karakteristik Minyak Bumi di Blok Bula dan Blok Oseil, Pulau Seram, Maluku Oil Characteristics in Bula and Oseil Blocks, Seram Island Maluku. *Jurnal Geologi dan Sumberdaya Mineral*, 19(4), 233–241.