

## Preparasi Sampel Urine Dalam Analisis Amfetamin Dengan Metode Gas Kromatografi

Ni Kadek Defyantari<sup>1</sup>, Lale Budi Kusuma Dewi<sup>2</sup>, Ida Bagus Rai Wiadnya<sup>3</sup>, Wayan Getas<sup>4</sup>  
Zaenal Fikri<sup>5</sup>

<sup>12345</sup>Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Mataram, Indonesia  
Jl.Praburangkasari Dasan Cermen, Sandubaya, Mataram  
Email:antaridefy@gmail.com

### ABSTRACT

Amphetamine is one of the anesthetics that can be found in pill, capsule, or powder form. Amphetamine is one of the psychotropic substances classified in drugs, for examination the specimen that is often used is urine because it is available in large quantities and contains high drug levels so that easy to detect. The use of amphetamines is very prevalent among addicts because of its affordable price and is also used as doping in sports. The price is cheap and easier to get. In the analysis of amphetamine with urine, there are several methods used, namely screening test, thin layer chromatography, spectrophotometry and gas chromatography. Gas chromatography requires several stages of pre-analysis with sample preparation. Chromatography is often used for drug analysis, both for toxicological analysis and for the analysis of drug compounds themselves. Preparation is carried out to determine the most precise, fast, and accurate sample preparation, to achieve this goal it is necessary to carry out various types of sample preparation methods before being analyzed using gas chromatography. To determine the preparation of urine samples in the analysis of amphetamines using the gas chromatography method. Some data were obtained that were related to the preparation of urine samples in the analysis of deep amphetamines using the gas chromatography method. There were differences in treatment to determine amphetamines in urine by gas chromatography method. In the analysis of amphetamine, several methods or methods of urine sample preparation were used, namely the LPME, SPME, SPE, and DLLME methods which aim to quantify amphetamines, extract drugs in an unchanging form and to eliminate potential experimental errors.

### Article Info

#### Article history:

Received October 24, 2022

Revised October 25, 2022

Accepted October 25, 2022

**Keyword:** Amphetamine, Extraction, Gas Chromatography.

### ABSTRAK

amfetamin merupakan salah satu obat bius yang dapat ditemukan dalam bentuk pil, kapsul, ataupun bubuk. Amfetamin adalah salah satu dari zat psikotropika yang digolongkan dalam narkoba, untuk pemeriksaannya spesimen yang sering digunakan adalah urine karena tersedia dalam jumlah besar dan mengandung kadar obat yang tinggi sehingga mudah terdeteksi. Penggunaan amfetamin sangat marak di kalangan pecandu karena harganya yang terjangkau dan juga digunakan sebagai doping di bidang olahraga. Harganya yang murah dan lebih mudah didapat. Dalam analisis amfetamin dengan urine ada beberapa metode yang digunakan yaitu screening test, kromatografi lapis tipis, spektrofotometri dan gas kromatografi. Gas kromatografi membutuhkan beberapa tahapan pra analisis dengan preparasi sampel. Kromatografi sering digunakan untuk analisis obat, baik untuk analisis toksikologi maupun analisis senyawa obat itu sendiri. Preparasi dilakukan untuk mengetahui persiapan sampel yang paling tepat, cepat, dan akurat, untuk mencapai tujuan tersebut perlu dilakukan berbagai jenis metode preparasi sampel sebelum

---

dianalisis menggunakan gas kromatografi. Untuk mengetahui preparasi sampel urine dalam analisis amfetamin dengan metode gas kromatografi. Didapatkan beberapa data yang berhubungan dengan preparasi sampel urine dalam analisis amfetamin dalam dengan metode gas kromatografi. Ditemukan perbedaan perlakuan untuk menentukan amfetamin dalam urine dengan metode gas kromatografi. Dalam analisis amfetamin digunakan beberapa metode atau cara preparasi sampel urine yaitu metode LPME, SPME, SPE, dan DLLME yang bertujuan untuk kuantitasi amfetamin, mengekstraksi obat-obatan dalam bentuk yang tidak berubah dan untuk menghilangkan potensi kesalahan eksperimen.

Kata Kunci : Amfetamin, Ekstraksi, Gas Kromatografi.

---

## **Pendahuluan**

Menurut Undang-undang psikotropika nomor 5 tahun 1997, Psikotropika adalah zat atau obat, baik alamiah maupun sintesis, bukan narkotika yang berkhasiat psikoaktif melalui pengaruh selektif pada susunan saraf pusat yang menyebabkan perubahan khas pada aktivitas mental dan perilaku, digunakan untuk mengobati gangguan jiwa. Amfetamin termasuk psikotropika golongan II merupakan salah satu obat bius yang dapat ditemukan dalam bentuk pil, kapsul, ataupun bubuk (Muji & Firman, 2018).

Penggunaan amfetamin di kalangan pecandu semakin marak yang dikarenakan harganya yang terjangkau dan juga sebagai doping di bidang olahraga. Bahkan beberapa kasus pasien pecandu yang berobat rutin di klinik, dalam beberapa tahun ada yang berubah mengkonsumsi amfetamin sebagai bentuk pelampiasan lain dalam kecanduannya (Wiraagni et al., 2019).

Dalam pemeriksaan amfetamin, specimen yang sering digunakan adalah urine karena tersedia dalam jumlah besar dan mengandung kadar obat yang tinggi sehingga mudah terdeteksi. Namun pada pemeriksaan urine seringkali dilakukan pemalsuan dengan cara substitusi dengan bahan lain maupun diencerkan sehingga mengacaukan hasil pemeriksaan (Indriati, 2015).

Dalam analisis amfetamin dengan urine ada beberapa metode yang digunakan yaitu screening test, kromatografi lapis tipis, spektrofotometri dan gas kromatografi. Gas kromatografi membutuhkan beberapa tahapan pra analisis dengan preparasi sampel seperti presipitasi protein, ekstraksi cair-cair, ekstraksi padat-cair atau padat, ekstraksi mikro fase padat namun dalam analisis menggunakan gas kromatografi lebih sering menggunakan ekstraksi cair-cair (Muji & Firman, 2018). Analisis kromatografi biasanya didahului dengan preparasi sampel yang bertujuan untuk mengekstraksi senyawa yang akan dianalisis dari sampel kompleks, misalnya tanah, bahan tanaman, dan makanan (Ganzler et al., 1986).

Kromatografi sering digunakan dalam analisis obat, baik secara analisis toksikologi maupun analisis senyawa obat itu sendiri, kromatografi gas memiliki keunggulan yang dapat memisahkan senyawa dan secara langsung dapat melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif memiliki reproduktibilitas yang tinggi pada penggunaan rutin. Kromatografi gas terutama digunakan untuk analisis kuantitatif campuran senyawa, tetapi kromatogram yang dihasilkan juga mengandung informasi yang memungkinkan untuk melakukan analisis kuantitatif (Agus Gelgel Wirasuta, 2008).

Preparasi dilakukan untuk mengetahui persiapan sampel yang paling tepat, cepat, dan akurat, untuk mencapai tujuan tersebut perlu dilakukan berbagai jenis metode preparasi sampel sebelum dianalisis menggunakan gas

kromatografi (Rizalina et al., 2018). Berdasarkan hal tersebut penelitian ini untuk mengetahui bagaimana preparasi sampel urine dalam analisis amfetamin dengan metode gas kromatografi.

### Metode Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan merupakan penelitian studi kepustakaan atau literatur view. Sumber data menggunakan sumber Pustaka primer yaitu hasil penelitian berupa jurnal hasil penelitian yang masuk dalam kriteria inkulisi yang telah dibuat.

### Hasil Penelitian dan Pembahasan

No	Metode preparasi	Pelarut	Cara preparasi	Tujuan preparasi	Hasil	Pustaka
1	Metode headspace-SPME method (Sholid-Phase Micro Extraction atau ekstraksi mikro fase padat	Etanol	a. 1ml urine dan 50 $\mu$ L standar internal yang mengandung amfetamin pada 10mg/mL di tempatkan dalam botol headspace 5mL. b. Sampel dialkalinisasi dengan 50 $\mu$ L dari 2N NaOH, dan 0,5 g NaCl kemudian ditambahkan untuk ditingkatkan penguapan senyawa amfetamin		R.T= 7,5 menit  Presisi = 0,02-1,91%  Ketepatan= 96,76 - 98,36%  Pemulihan= 70%  LOD= 3 ng/mL  LOQ= 10ng/mL	(Jurado et al., 2000)
2	LPME (liquid-phase microextraction / ekstraksi mikro fase cair)	Di etil-eter	a. Dalam tabung gelas 5 ml, 50 mL larutan IS ditambahkan ke 1,0 mL urin. b. PH-nya disesuaikan menggunakan 200 mL larutan NaOH pada konsentrasi 1 mol / L (pH> 12) dan kemudian dipindahkan ke Eppendorf tube mengandung 10 mg NaCl. c. Lumen dari serat berlubang diisi dengan 30 ml larutan HCl pada konsentrasi 0,01 mol / L (akseptor fase) melalui mikropipet d. Proses ekstraksi dilakukan di kamar	untuk kuantifikasi amfetamin, karena rendahnya biaya unit ekstraksi (serat) yang membuat mereka hanya dapat digunakan sekali, menghindari masalah carry-over.	LOD= 10ng/mL  LOQ= 20ng/mL  Pemulihan= 59,9-70,2%  Ketepatan= 81,9-107,6%  Presisi= 1,9-19,2%	(Oliveira & Yonamine, 2016)

				suhu (20-24 8C), menghindari pembentukan gelembung dan penguapan pelarut organik		
3	DLLME (dispersive liquid-liquid microextracti on atau ekstraksi cair-cair dispersif)	Dikloromet ana	a. 5 mL urin dipindahkan ke tabung Falcon dan pH 11 b. 300 µL pelarut ekstraktor (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ) dicampur dengan 1 mL pelarut (MeOH) dan campuran cepat disuntikkan c. Setelah lembut agitasi manual (15 detik) dan sentrifugasi (3000 rpm, 5 menit), final drop (50 µL) d. fase organik sedimen telah dihapus dari bagian bawah tabung ekstraksi, dengan jarum suntik mikro, ke gelas 1,5 mL memasukkan dan 1 µL diinjeksikan dalam sistem GC- MS	mengekstraks i dan memprioritas kan obat- obatan ini, dalam bentuk yang tidak berubah terbentuk, pada konsentrasi rendah dalam sampel urin. Analisis dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas ditambah untuk spektrometri massa	LOD DIE= 10ng/mL LOD SIB= 20ng/mL Pemulihan = 93-96% Presisi=3,7- 4,1%	(Cunha et al., 2015)
4	SPE (solid- phase extraction atau ekstraksi fase padat)	Heksana- etil asetat	a. sampel urine dalam tabung di lapis dengan masing- masing 25ng AM,MDMA dan 10ng MDA dan DHBA sebagai standar internal b. campurkan 200µl SMBS dan 200µl EDTA ditambahkan untuk mengawetkan senyawa terhidrosilasi,sampel kemudian di sesuaikan dengan pH C. tambahkan larutan heksana-etil asetat, , sampel di vortex selama 1 menit, sampel di centrifuge	Menghilangk an potensi kesalahan eksperimen serta secara signifikan mempersingk at waktu	Ketepatan = -0,63 - 3,83% Pemulihan= >80% Presisi = 0,96-4,61%	(Raihana et al., 2010)

---

pada 3000rpm  
selama 5menit

---

Ekstraksi mikro fase padat (SPME) adalah teknik adsorpsi dan desorpsi yang sederhana dan efektif, yang menghilangkannya kebutuhan untuk pelarut atau peralatan yang rumit, untuk memekatkan senyawa yang mudah menguap atau tidak mudah menguap dalam sampel cairan. SPME kompatibel dengan pemisahan analit dan deteksi dengan kromatografi gas dan cairan kinerja tinggi kromatografi, dan memberikan hasil linier untuk konsentrasi analit yang luas (Alpendurada, 2000).

Secara umum ekstraksi dengan teknik SPME mempunyai dua cara yaitu dengan cara ekstraksi langsung (Direct Immersion, DI) dan ekstraksi headspace. Pada cara headspace, serat SPME diletakkan dalam fase uap di atas sampel kemudian diberi pemanasan, dan langsung diinjeksikan ke alat GC/MS. Pada cara ini kesetimbangan partisi yang terjadi adalah antara analit pada lapisan serat dan headspace.

Teknik preparasi mempunyai keunggulan yaitu pengoperasian yang cepat, kemudahan otomatis, pengurangan penggunaan pelarut dan biaya yang rendah. Metode ini sederhana, cepat, selektif, dan sensitif untuk analisis stimulan dan dapat diterapkan dan dapat diterapkan secara langsung pada analisis sampel urine setelah penyaringan saja (Kataoka et al., 2000). Namun kelemahan dari teknik ini adalah terbatas pada sampel air, tidak dapat digunakan pada analit konsentrasi tinggi (LIGOR et al., 2004).

Pada analisis obat-obatan dalam sampel urine teknik yang paling umum digunakan untuk ekstraksi adalah ekstraksi cair-cair dan ekstraksi fase padat. Namun dalam sebuah metode disarankan menggunakan volume sampel dan pelarut yang lebih kecil maka dari dua metode ini satu metode yaitu metode LPME (liquid-phase microextraction / ekstraksi mikro fase cair). Analisis amfetamin dalam urine metode LPME dengan gas kromatografi ini lebih praktis, hemat waktu, biaya rendah dan ketidakberhasilan metode ini sekitar 10% .

Metode DLLME (dispersive liquid-liquid microextraction atau ekstraksi cair-cair dispersif) telah di gunakan untuk menentukan obat, ketika digabungkan dengan analisis GC-MS yang didasarkan pada campuran pelarut dan melibatkan injeksi cepat ke dalam sampel berair dari campuran yang tepat dari pelarut ekstraktor dan pelarut disperser, keuntungan utama dari metode ini adalah faktor pengayaan tinggi dan pemulihan, kecepatan, tinggi, selain penggunaan pelarut rendah dan pembuangan akhir, dengan metode yang sangat sensitif memungkinkan analisis dengan GC-MS yang menentukan obat-obatan dalam urine tidak berubah bentuk, pada konsentrasi yang sangat rendah (Cunha et al., 2015). Kelemahan utama dari metode ini adalah volume tinggi dari pelarut polar tidak sepenuhnya cocok untuk analisis analit dalam matriks kompleks, sentrifugasi harus memiliki kepadatan tinggi dan kelarutan rendah dalam air (Saraji & Boroujeni, 2014).

SPE (solid phase extraction atau ekstraksi fase padat) ekstraksi ini melibatkan partisi antara dua fase yaitu fase cair (matrik sampel) dan fase padat (sorben). Teknik perlakuan sampel ini memungkinkan konsentrasi dan pemurnian analit dari larutan dengan penyerapan pada sorben padat. Keunggulan dari metode ini yaitu ovasi spesies yang sesuai, faktor pra konsentrasi yang baik sehingga memungkinkan pencapaian batas deteksi yang sangat rendah, kemudian otomatisasi. Analisis SPE dengan gas kromatografi memungkinkan analisis yang cepat, sensitive pada sampel urine yang secara signifikan mempersingkat waktu dan analisis di perlukan karena metabolit amfetamin dieliminasi dalam bentuk konjugat glukoranat atau asam sulfat (Raihana et al., 2010).

---

## Kesimpulan

Preparasi sampel dalam analisis amfetamin bertujuan untuk kuantitasi amfetamin, mengekstraksi obat-obatan dalam bentuk yang tidak berubah dan untuk menghilangkan potensi kesalahan eksperimen. Dalam analisis amfetamin menggunakan beberapa metode atau cara preparasi sampel urine yaitu dengan metode LPME, SPME, SPE, dan DLLME dengan cara sampel urine yang di tambahkan dengan larutan standar amfetamin dan disesuaikan dengan pHnya di alkalisasi dan di lakukan penguapan.

## Daftar Pustaka

- Agus Gelgel Wirasuta, M. (2008). Analisis Toksikologi Forensik Dan Interpretasi Temuan Analisis. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences*.
- Alpendurada, M. F. (2000). Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography. A*.
- Cunha, R. L., Lopes, W. A., & Pereira, P. A. P. (2015). Determination of free (unconjugated) amphetamine-type stimulants in urine samples by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography coupled to mass spectrometry (DLLME-GC-MS). *Microchemical Journal*, 125, 230–235. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.11.017>
- Ganzler, K., Salgó, A., & Valkó, K. (1986). Microwave extraction. A novel sample preparation method for chromatography. *Journal of Chromatography A*. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)94714-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)94714-4)
- Indriati, A. R. (2015). Pemeriksaan Laboratorium Patologi Klinik Narkoba “ Urinary Drugs Testing .” *Dept. Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/ RS Hasan Sadikin Bandung*, 5–6.
- Jurado, C., Gimenez, M. P., Soriano, T., Menendez, M., & Repetto, M. (2000). Rapid analysis of amphetamine, methamphetamine, MDA, and MDMA in urine using solid-phase microextraction, direct on-fiber derivatization, and analysis by GC-MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 24(1), 11–16. <https://doi.org/10.1093/jat/24.1.11>
- Kataoka, H., Lord, H. L., & Pawliszyn, J. (2000). Simple and rapid determination of amphetamine, methamphetamine, and their methylenedioxy derivatives in urine by automated in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*. <https://doi.org/10.1093/jat/24.4.257>
- LIGOR, M., WOJCIK, J., & BUSZEWSKI, B. (2004). Application of the solid phase microextraction (SPME) and gas chromatography (GC, GC/MS) in food analysis. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*.
- Muji, R., & Firman, S. M. (2018). Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Toksikologi Klinik. In *Buku*.
- Oliveira, S. C. W. de S. E. F. de, & Yonamine, M. (2016). Measurement uncertainty for the determination of amphetamines in urine by liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Science International*, 265, 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.01.012>
- Raihana, W. A. W., Gan, S. H., & Tan, S. C. (2010). Stereoselective method development and validation for

- determination of concentrations of amphetamine-type stimulants and metabolites in human urine using a simultaneous extraction-chiral derivatization approach. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 879(1), 8–16.  
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.10.037>
- Rizalina, H., Cahyono, E., Mursiti, S., & Nurcahyo, B. (2018). Optimasi Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan Gas Chromatography. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3), 254–261.
- Saraji, M., & Boroujeni, M. K. (2014). Recent developments in dispersive liquid-liquid microextraction Microextraction Techniques. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(8), 2027–2066.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-013-7467-z>
- Wiraagni, I. A., Mohd, M. A., Rashid, R. A., Erwandi, D., & Ramadhani, E. Z. (2019). Amphetamine Detection in Human Blood Plasma With LC \_ MS / MS. *Journal of Indonesia Forensic and Legal Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta*, 1(1), 1–5.