

 indofarma	PROTAP Cara Kalibrasi HPLC Hitachi	No : PKVK023
		Revisi : 02
		Berlaku : 25 SEP 2019
		Paraf : <i>X</i>

1 Tujuan

Untuk memastikan ketelitian dan ketepatan hasil pengukuran alat

2 Cakupan

Protap ini sebagai panduan untuk melakukan cara kalibrasi HPLC Hitachi L-7000 series (Pompa L-7100 dan Detektor L-7400) di Bidang Pengawasan Mutu dan Bidang Litbang

3 Penanggung Jawab / Responsibility

- 3.1 Pelaksana Kalibrasi
- 3.2 QA Spesialis Kalibrasi-Kualifikasi.

4 Alat dan Bahan

- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| 4.1 Methanol HPLC grade | 4.6 Plug stopper |
| 4.2 Metil paraben | 4.7 Labu ukur 5 ml |
| 4.3 Propil paraben | 4.8 Neraca analitik |
| 4.4 Aquadest | 4.9 Stopwatch terkalibrasi |
| 4.5 Kolom C-18 | |

5 Prosedur

- 5.1 Pastikan kalibrator terkalibrasi dan masih berlaku.
- 5.2 Ukur suhu dan kelembaban ruangan pada saat kalibrasi, catat dalam Formulir Catatan Hasil Kalibrasi Internal HPLC
- 5.3 Kalibrasi pompa type L-7100
 - 5.3.1 Tes batas tekanan maksimum 400 bar.
 - 5.3.1.1 Nyalakan pompa dengan menekan tombol On
 - 5.3.1.2 Pilih parameter pengujian sebagai berikut :
 - Fase gerak : Air
 - Flow : 0.2 ml/min
 - Tekanan pompa : Maksimum 400 bar
 - 5.3.1.3 Tutup *drain valve* dan tempatkan *plug stopper* pada *outlet* pompa.
 - 5.3.1.4 Jalankan aliran pada pompa dengan menekan tombol *pump on/off*.
 - 5.3.1.5 Tekanan akan naik secara perlahan-lahan, dan harus berhenti dengan sendirinya pada tekanan 400 bar.
 - 5.3.1.6 Catat hasil tes pada Formulir Catatan Hasil Kalibrasi Internal HPLC.
 - 5.3.2 Tes kebocoran pompa (*leak rate*)
 - 5.3.2.1 Setelah pompa berhenti dengan sendirinya pada tes 5.2.1, segera tekan tombol CL (*clear*) bersamaan dengan tombol start pada *stopwatch*.
 - 5.3.2.2 Tekanan akan turun perlahan-lahan dan baca tekanan pompa pada *display* pompa 5 menit setelah pompa berhenti.
 - 5.3.2.3 Catat hasil tes pada Formulir Catatan Hasil Kalibrasi Internal HPLC.
 - 5.3.3 Tes ketepatan aliran (*Flow Accuracy*)
 - 5.3.3.1 Pilih parameter pengujian sebagai berikut :
 - Fase gerak : Air
 - Flow : 1.0 ml/min
 - Flow resistance : Tubing

 indofarma	PROTAP Cara Kalibrasi HPLC Hitachi	No : PKVK023
		Revisi : 02
		Berlaku : 25 SEP 2019
		Paraf : 

- 5.3.3.2 Hubungkan tubing pada *outlet* pompa.
- 5.3.3.3 Jalankan aliran pada pompa dengan menekan tombol *pump on/off* dan tunggu hingga tidak ada gelembung udara keluar dari sistem dan pastikan juga tidak ada gelembung udara pada saluran inlet.
- 5.3.3.4 Timbang berat kosong labu ukur 5 ml (a gram).
- 5.3.3.5 Tempatkan *outlet* (ujung tubing) pada labu ukur 5 ml bersamaan dengan menekan tombol *start* pada *stopwatch*.
- 5.3.3.6 Setelah tepat 5 menit hentikan aliran yang masuk ke labu ukur tersebut.
- 5.3.3.7 Timbang kembali labu ukur yang telah berisi air tersebut (b gram).
- 5.3.3.8 Hitung bobot air yang didapat yaitu (b – a) gram.
- 5.3.3.9 Catat hasil yang didapat pada Formulir Catatan Hasil Kalibrasi Internal HPLC
- 5.4 Kalibrasi detector UV tipe L-7400 (Test *the wavelength adjustment* pada 656 nm).
- 5.4.1 Nyalakan detektor L-7400 dengan menekan tombol *power on*
- 5.4.2 Tekan tombol *confidence* pada detektor, maka pada display muncul menu :
- CONFIDENCE : KEY LOCK = 1, CHECK = 2
 (1 - 4) 1 LOG BOOK = 3, LAMP CHANGE = 4
- 5.4.3 Tekan tombol 2 lalu tekan *enter*, maka pada *display* muncul keterangan :
- CHEKING LAMP ENERGY AND WILL ACCURACY
- 5.4.4 Setelah beberapa saat akan muncul keterangan pada display yang menunjukkan kondisi detektor (selama 60 detik) yaitu :
- Jika deviasi < ± 1 nm maka hasilnya GOOD
- Jika deviasi > ± 1 nm maka hasilnya FAIL
- 5.5 Tes System Performance KCKT dengan Detektor UV/Vis.
- 5.5.1 Penyiapan Fasa Gerak
- Untuk membuat 1000 ml fasa Gerak Metanol/Air 60/40, tambahkan 600 ml metanol ke dalam 400 ml air. Aduk sampai rata dan saring dengan penyaring organik 0.22 μ m, kemudian lakukan *degassing*.
- 5.5.2 Penyiapan Sampel
- 5.5.2.1 Buat Larutan Stok Metil paraben dan Propil paraben (dicampur), sehingga konsentrasinya 1.0 mg/ml.
- 5.5.2.2 Untuk membuat larutan Metil Paraben dan Propil Paraben 0.05 mg/ml, pipet 5 ml Larutan Stok dan masukkan ke dalam labu tentukur 100 ml.
- 5.5.2.3 Tambahkan sampai tanda dengan menggunakan fasa gerak.
- 5.5.2.4 Aduk sampai rata dan saring dengan penyaring organik 0.2 μ m/0,45 μ m.
- 5.5.3 Pengujian Sampel
- 5.5.3.1 Alirkan fasa gerak dengan *flow rate* 1 - 2 ml/min selama 0,5 -1 jam sampai detektor stabil.
- 5.5.3.2 Lakukan Injeksi 20 μ l sampel sebanyak 6 kali.
- 5.5.3.3 Catat area, waktu retensi untuk tiap peak dan resolusi dari setiap kali suntikan.
- 5.5.3.4 Hitung % RSD waktu retensi, peak area dan resolusi.

	PROTAP Cara Kalibrasi HPLC Hitachi	No : PKVK023
		Revisi : 02
		Berlaku : 25 SEP 2019
		Paraf : 

Parameter Pengujian

Kolom	: Kolom C-18
Fasa Gerak	: 60/40 metanol/air
Flow rate	: 1 – 2 ml/min
Panjang gelombang	: 254 nm
Sampel	: 0.05 mg/ml metil dan propil paraben (dari larutan stok 1 mg/ml)
Volume injeksi	: 20 µl

5.6 Catat kegiatan kalibrasi pada Log Book Pemakaian Alat.

5.7 Persyaratan :

5.7.1 Untuk pompa L-7100

5.7.1.1 Pompa harus berhenti dengan sendirinya pada tekanan 400 bar.

5.7.1.2 Tekanan pompa setelah 5 menit berhenti harus ≥ 300 bar.

5.7.1.3 Bobot air yang ada di labu ukur 5 ml harus 5.0 ± 0.1 gram.

5.7.2 Untuk detektor L-7400

Tes *wavelength adjustment* hasilnya harus **GOOD**.

5.7.3 Untuk *system performance*

5.7.3.1 Presisi untuk Waktu Retensi, % RSD harus $< 1,0\%$.

5.7.3.2 Presisi untuk Peak Area, % RSD harus $< 1,0\%$.

5.7.3.3 Resolusi ≥ 1.5

6 **Tindak Lanjut** Jika ada penyimpangan hasil pengukuran:

6.1 Lakukan *adjustment* pada alat jika memungkinkan, atau

6.2 Tempelkan label TMS/rusak pada alat dan ajukan WO perbaikan ke Bidang Teknik dan Pemeliharaan melalui Bidang Pemastian Mutu.

7 **Lampiran**

7.1 Formulir Catatan Hasil Kalibrasi Internal HPLC

8 **Pustaka**

8.1 Manual book HPLC Hitachi L-7100 & L-7400

9 **Catatan Perubahan**

Revisi	Berlaku	Perubahan
01	21 Jul 2017	Menghilangkan format penulisan dua bahasa dan cakupan pekerjaan
02	25 SEP 2019	1. Perbaikan format dokumen sesuai dengan Ketentuan Umum Penyusunan Dokumen 2. Penambahan pemastian status kalibrator pada butir 5.1 3. Penambahan pencatatan kegiatan kalibrasi pada butir 5.6

	PROTAP Cara Kalibrasi HPLC Hitachi	No : PKVK023
		Revisi : 02
		Berlaku : 25 SEP 2019
		Paraf : 

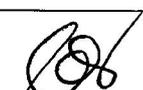
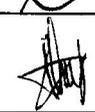
10 Tinjauan Ulang

Protap ini akan ditinjau ulang setiap 2 tahun atau kurang (jika perlu) oleh Manajer Pemastian Mutu.

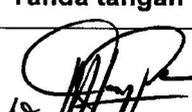
11 Distribusi

Secara umum salinan protap ini didistribusikan ke Bidang Pemastian Mutu

12 Pengesahan

Keterangan	Jabatan	Kode Bidang	Tanda tangan	Tanggal
Disusun oleh	QA Spesialis Kalibrasi-Kualifikasi	PM		25 SEP 2019
Diperiksa oleh	Asman Kalibrasi, Kualifikasi dan Validasi	PM		25 SEP 2019
Disetujui oleh	Manajer Pemastian Mutu	PM		25 SEP 2019

13 Tinjauan / Review

No.	Peninjau	Tgl. Tinjauan	Tanda tangan	Rekomendasi
1	Manajer Pemastian Mutu	13 Agv 2019		Protap masih sesuai &
2	Manajer Pemastian Mutu			