

	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series	No : PPB084
		Revisi : 02
		Berlaku : 01 OCT 2019
		Paraf : 

1 Tujuan

Agar setiap pemakaian menggunakan cara yang benar, sehingga didapatkan hasil analisa yang akurat dan kerusakan alat karena salah pengoperasian dapat dihindari.

2 Cakupan

Protap ini sebagai panduan untuk melakukan pengoperasian alat HPLC Agilent 6 di laboratorium pengawasan mutu.

3 Penanggung Jawab

Penanggung jawab protap ini adalah Supervisor Pengujian Bahan Awal dan Bahan Kemas.

4 Prosedur

4.1 Pastikan label kalibrasi masih berlaku, bila sudah kadaluwarsa laporan kepada petugas kalibrasi untuk di kalibrasi.

4.2 Menghidupkan HPLC

4.2.1 Hidupkan UPS (*Uninteruptible Power Supply*).

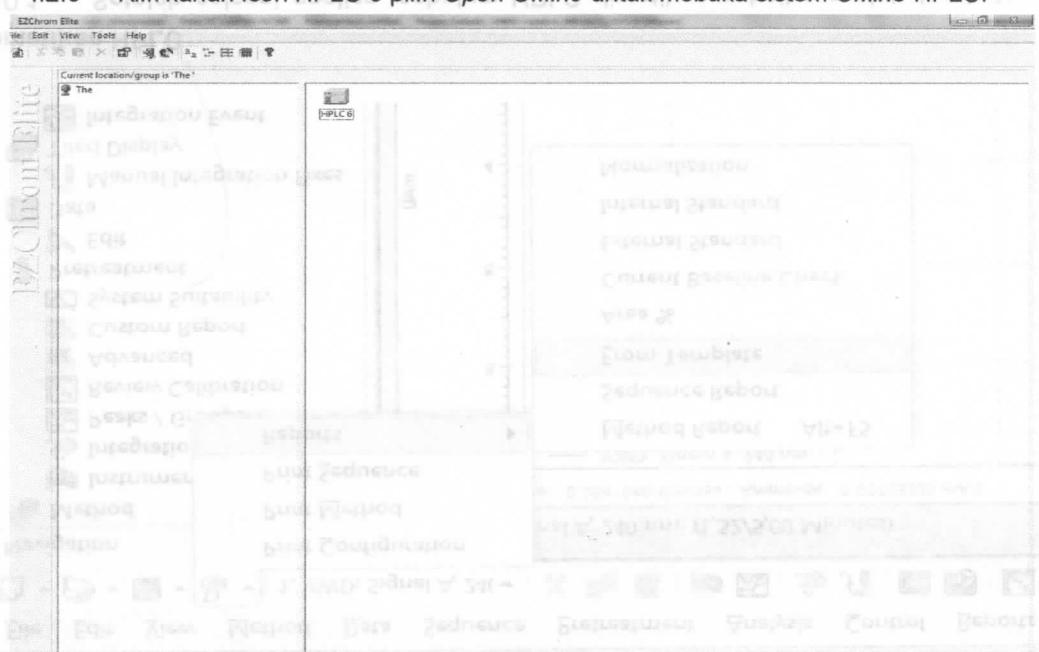
4.2.2 Hidupkan komputer dan monitor komputer.

4.2.3 Hidupkan alat HPLC dengan cara menekan tombol power pada kiri bawah HPLC.

4.2.4 Klik 2 kali icon Ezchrom Elite pada tampilan layar desktop.

4.2.5 Klik kanan icon HPLC 6 pilih *Open* untuk membuka sistem *Online UHPLC*.

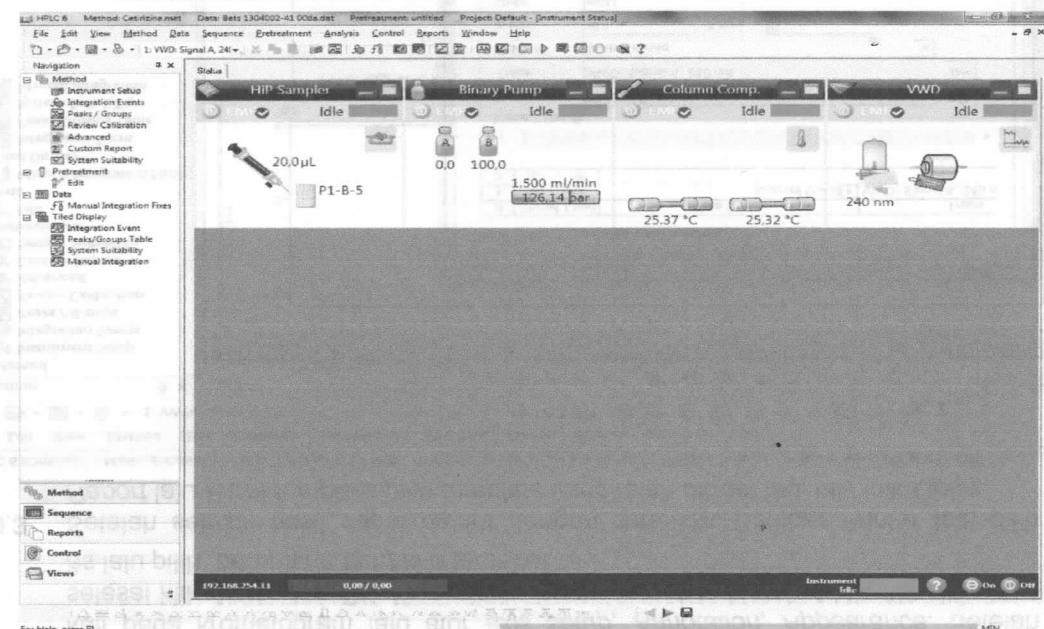
4.2.6 Klik kanan icon HPLC 6 pilih *Open Offline* untuk membuka sistem *Offline HPLC*.

**4.3 Mengkondisikan HPLC**

4.3.1 Buka Instrument status dari panel *Control*, hidupkan semua modul alat yang terkoneksi kekomputer dengan mengklik tombol ON.

	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series	No : PPB084 Revisi : 02 Berlaku : 01 OCT 2019 Paraf :
---	--	--

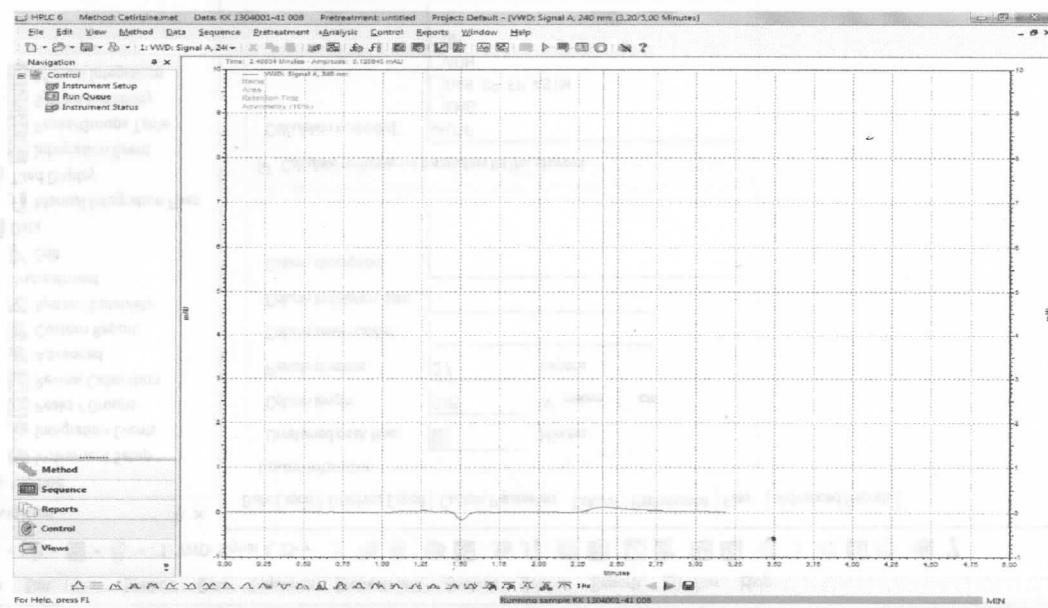
- 4.3.2 Semua modul alat yang terhubung akan ditandai dengan lampu warna hijau bertuliskan *Idle* dan bila ada masalah koneksi akan ditandai lampu warna merah bertuliskan *Error*.



- 4.3.3 Buka *Purge Valve* dengan memutarnya kekiri, nyalakan pompa dengan cara klik kanan pada *binary pump* lalu pilih *Method*, klik pada tulisan *flow*, naikan secara bertahap (0.00; 0.10; 0.25; 0.50; 0.75; 1.00; 1.25; 1.50; 1.75; 2.00 ml/min).
- 4.3.4 Biarkan mengalir selama lebih kurang 5 menit, kemudian turunkan *flow* sampai 0.2, kemudian tutup kembali *Purge Valve* (tekanan akan naik).
- 4.3.5 Naikkan *flow* secara bertahap hingga tercapai *flow* sesuai dengan metode.
- 4.3.6 Apabila akan menambah atau mengganti fase gerak, turunkan *flow* secara bertahap.
- 4.3.7 Ubah tampilan isi botol solven dengan cara klik 2 kali pada botol A atau botol B
- 4.3.8 Biarkan sistem berjalan hingga stabil. Untuk dapat melihat sistem telah stabil dapat dilihat pada *Online signal*. Pilih *view* kemudian klik *Online Signal*.

	seanses D037 menggantikan setia CATOPIA	Set Untuk Bahan Bahan DIN : 000899
---	---	--

	indofarma	PROTAP	No : PPB084
	Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series	Revisi : 02	Berlaku : 01 OCT 2019
		Paraf :	



- 4.3.9 Kemudian nyalakan pompa tambahan untuk membilas *Seal* pada piston pompa.
- 4.3.10 Sebelumnya pastikan dahulu botol pencuci berisi air yang diberi 10 % methanol.
- 4.3.11 Kemudian nyalakan pencuci *Seal Wash* yaitu dengan cara klik kanan pada *Instrument Status* yang *Binary Pump* kemudian pilih *Control* kemudian pilih opsi yang ada sesuai dengan kebutuhan. Kemudian klik OK.
- 4.3.12 Bila telah selesai matikan kembali pompa tambahan ini dengan cara yang sama pada saat membuka tadi.

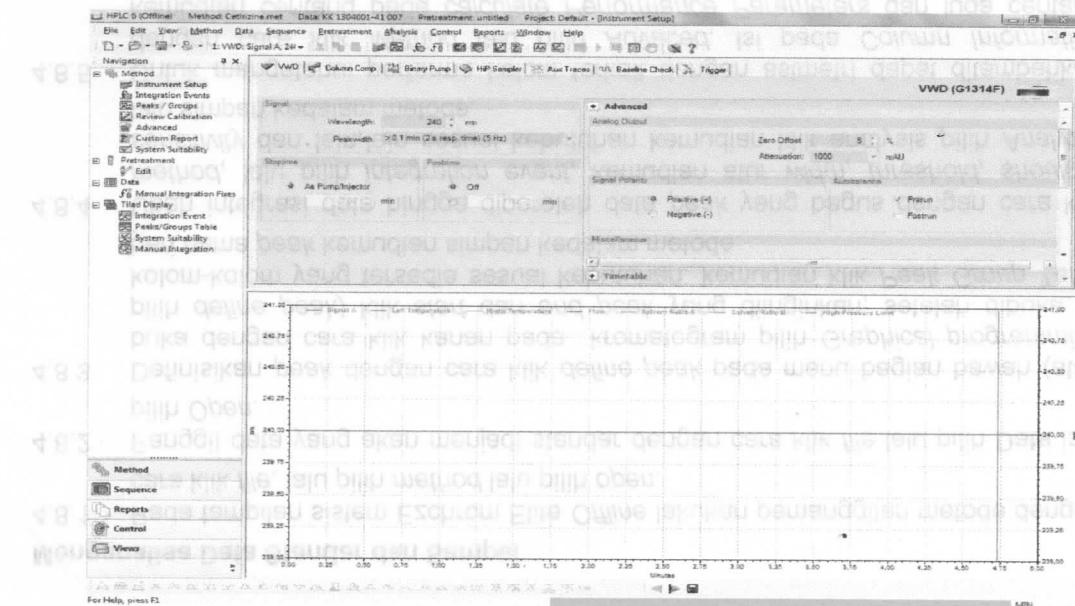
4.4 Membuat Metode Baru

- 4.4.1 Klik *file* kemudian klik *New* kemudian pilih *Method*.
- 4.4.2 Kemudian isikan parameter yang sesuai dengan kebutuhan.
- 4.4.3 Pada panel VWD : isi kolom *Wavelength*

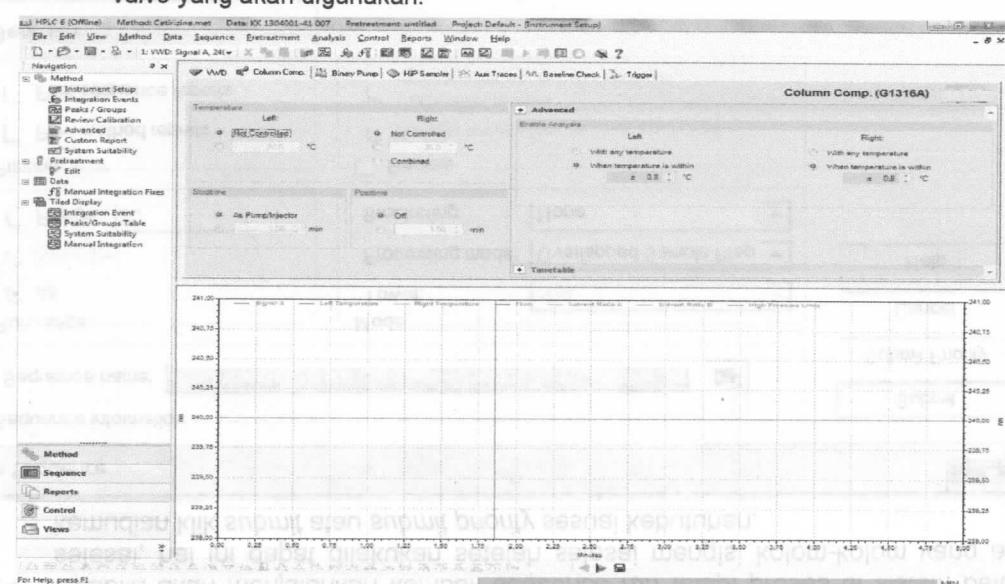


	gintingtoboni	test 9
	sehingga Dosis	ukurah
	seligap a JZH JELA nislesedogagai siaga	isiva9
	ATORG	SO : 0
		NI : 980899
		EN : 980899
		STRE.MIH

	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series	No : PPB084 Revisi : 02 Berlaku : 01 OCT 2019 Paraf :
---	--	--



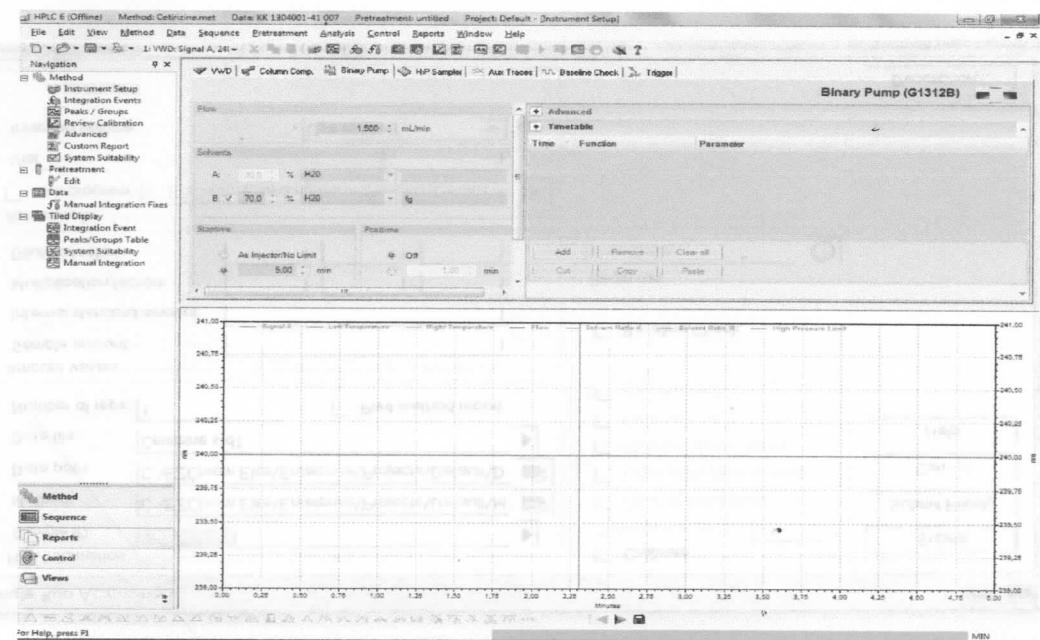
4.4.4 Pada panel Column Comp : isi kolom temperatur *Left* dan *Right*, kemudian pilih valve yang akan digunakan.



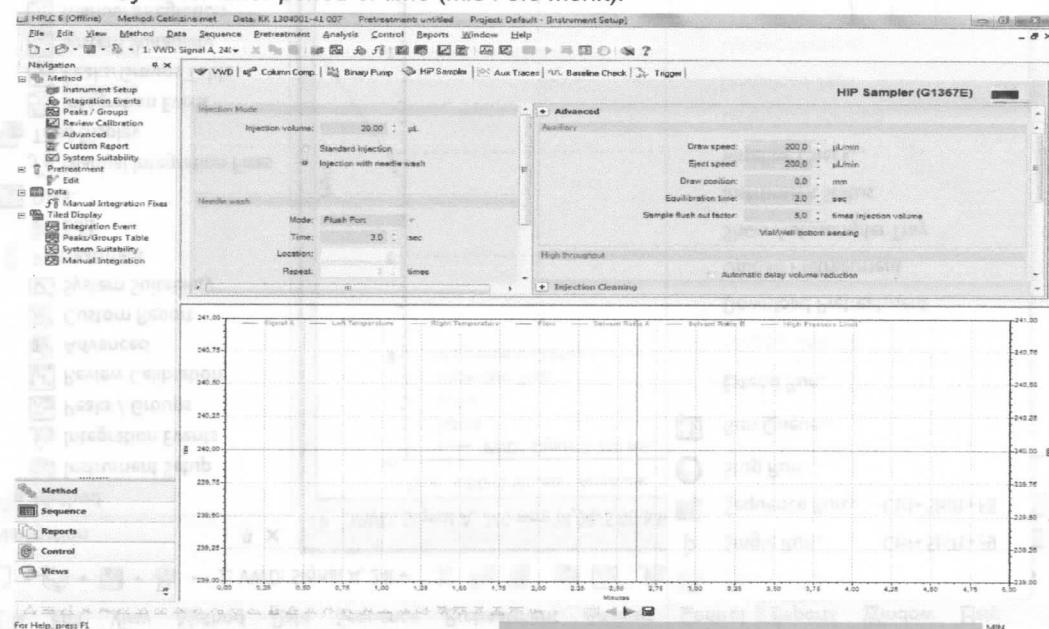
4.4.5 Pada panel Binary Pump : isi kolom *flow*, *solvent*, *pressure limits*, isi *timetable* bila akan menggunakan metode gradien.



 <p>PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series</p>	No	: PPB084
	Revisi	: 02
	Berlaku	: 01 OCT 2019
	Paraf	: 



4.4.6 Pada panel Sampler : isi kolom *Injection volume*, *Neddle wash*, dan *stop time*. Tambahan Advanced isi *Enable Optimization*. Pilih *Enable Overlapped Injection Cycle* isi *after period of time* (mis : 0.5 menit).



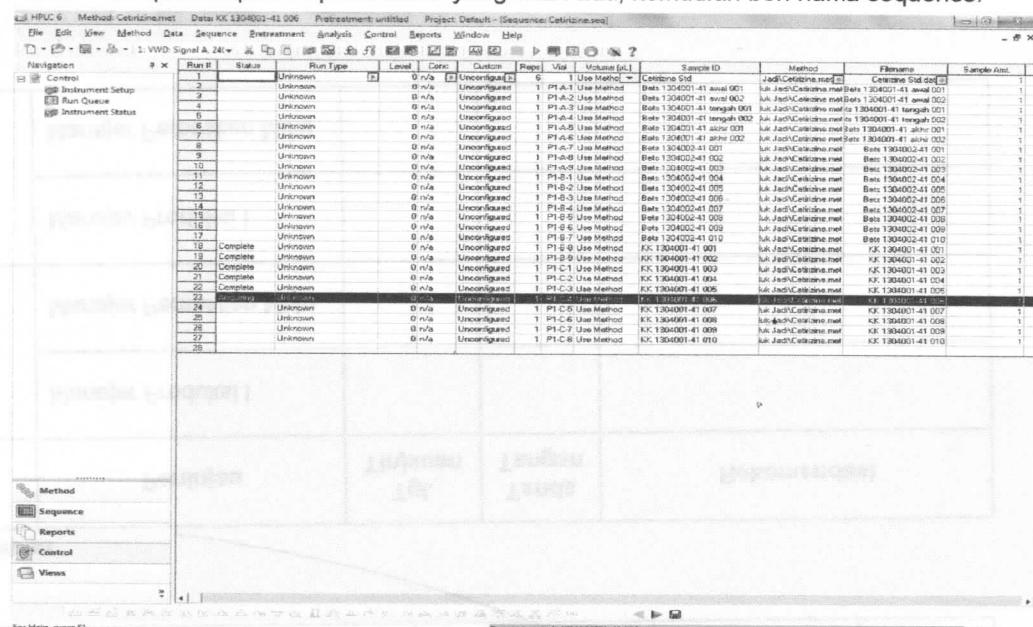
4.4.7 Bila telah semua parameter terisi simpan pada folder *method* kemudian berikan nama metode.



	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series	No : PPB084 Revisi : 02 Berlaku : 01 OCT 2019 Paraf :
---	--	---

4.5 Membuat Sequence

- 4.5.1 Klik *file* kemudian *Sequence*, lalu pilih *New*. Akan tampil kolom Sequence baru.
- 4.5.2 Isikan kolom sequence yaitu *Run type*, *Level*, *Reps*, *Vial*, *Volume*, *Sample ID*, *Method*, *File Name*, sesuai kebutuhan.
- 4.5.3 Tambahkan baris sequence sesuai kebutuhan.
- 4.5.4 Simpan sequence pada folder yang telah ada, kemudian beri nama sequence.



4.6 Menggunakan Metode yang Telah Ada

- 4.6.1 Pilih menu *file*, lalu pilih *Open* lalu klik *method*.
- 4.6.2 Pilih metode yang akan digunakan pada folder yang ada.
- 4.6.3 Bila perlu ada yang ditambahkan atau dirubah dari metode tersebut lakukan revisi kemudian simpan kembali metode tersebut.
- 4.6.4 Setelah disimpan klik *control* pilih *Download Method*. Metode siap untuk digunakan.

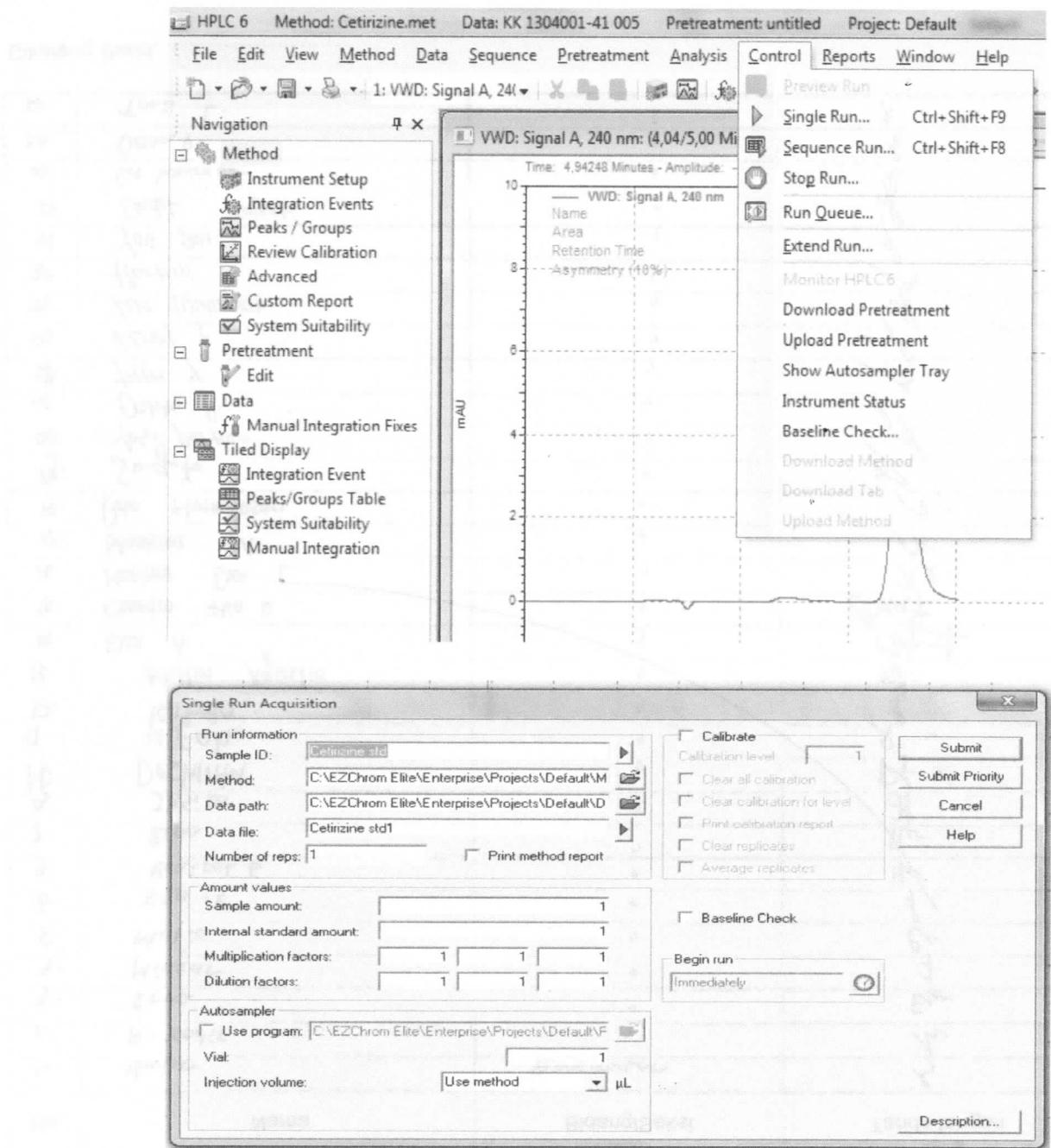
4.7 Menginjeksi Sample (*Single Run*)

- 4.7.1 Sebelum menginjeksi sampel pastikan tray telah terisi *vial* khusus yang berisi larutan standar dan sampel yang akan dianalisa.
- 4.7.2 Klik tanda *single run*  atau klik *control* pada *menu bar*, kemudian pilih *single run*  kemudian isi kolom-kolom yang ada pada tampilan *Single run*, yaitu *Sample ID*, *Method file*, *Data File*, *Result Path*, *Result Name*, *Number of Reps*, *Vial*, *Calibrate* (jika diperlukan), sesuai dengan kebutuhan.
- 4.7.3 Kemudian klik *start*. Maka sistem HPLC akan berjalan sesuai dengan metode yang di *download* sebelumnya.
- 4.7.4 Apabila akan menjalankan kembali *single run* tetapi proses di sistem belum selesai, hal ini dapat dilakukan setelah selesai mengisi kolom-kolom yang ada kemudian klik *submit* atau *submit priority* sesuai kebutuhan.



PROTAP
Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent
1260 Series

No	: PPB084
Revisi	: 02
Berlaku	: 01 OCT 2019
Paraf	:

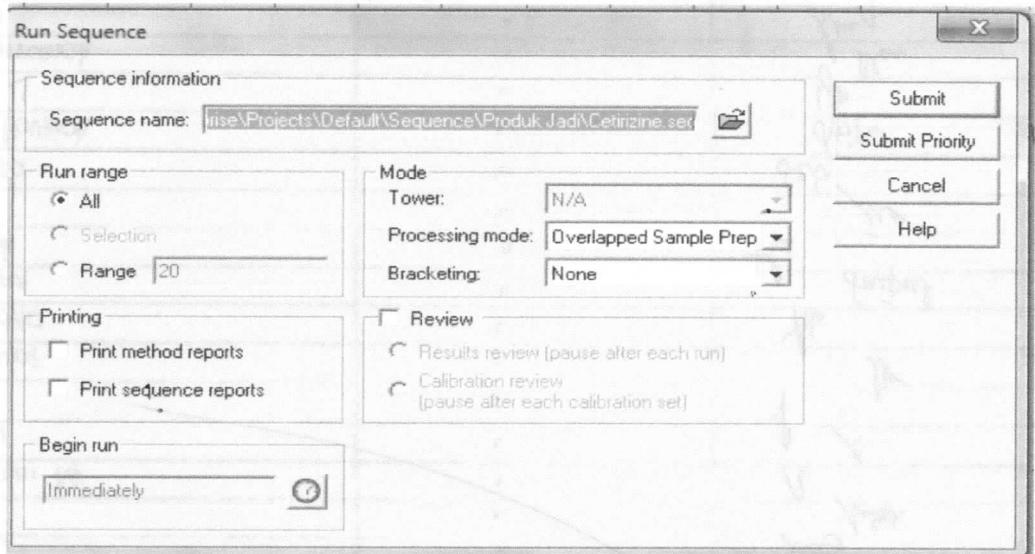


4.8 Menginjeksi Sample (Sequence run)

4.8.1 Sebelum menginjeksi sampel pastikan tray telah terisi vial khusus yang berisi larutan standar dan sampel yang akan dianalisa.

 indofarma	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series	No : PPB084
		Revisi : 02
		Berlaku : 01 OCT 2019
		Paraf : 

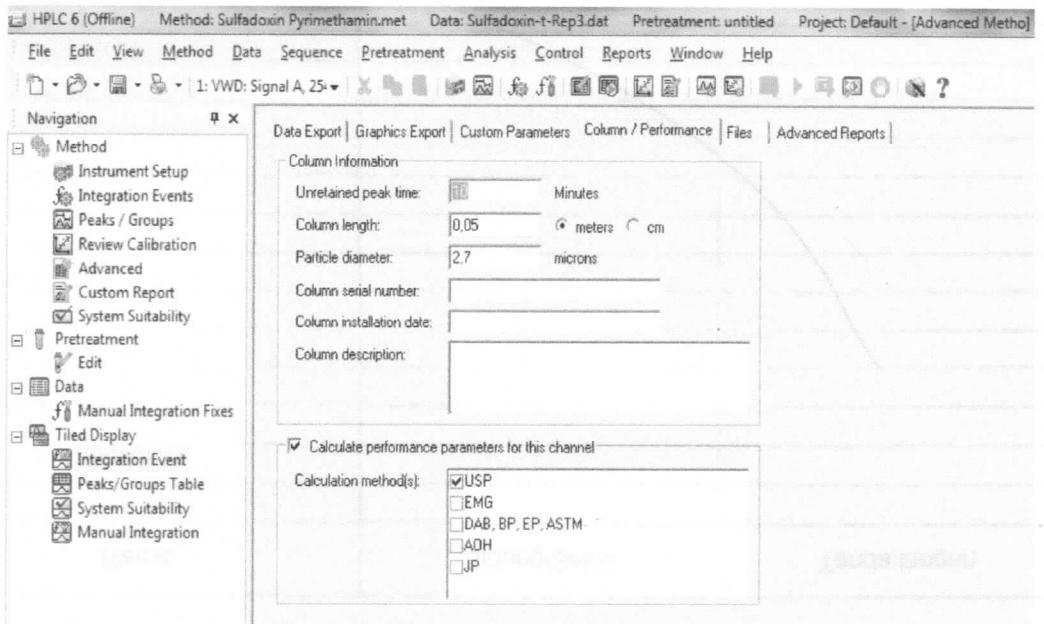
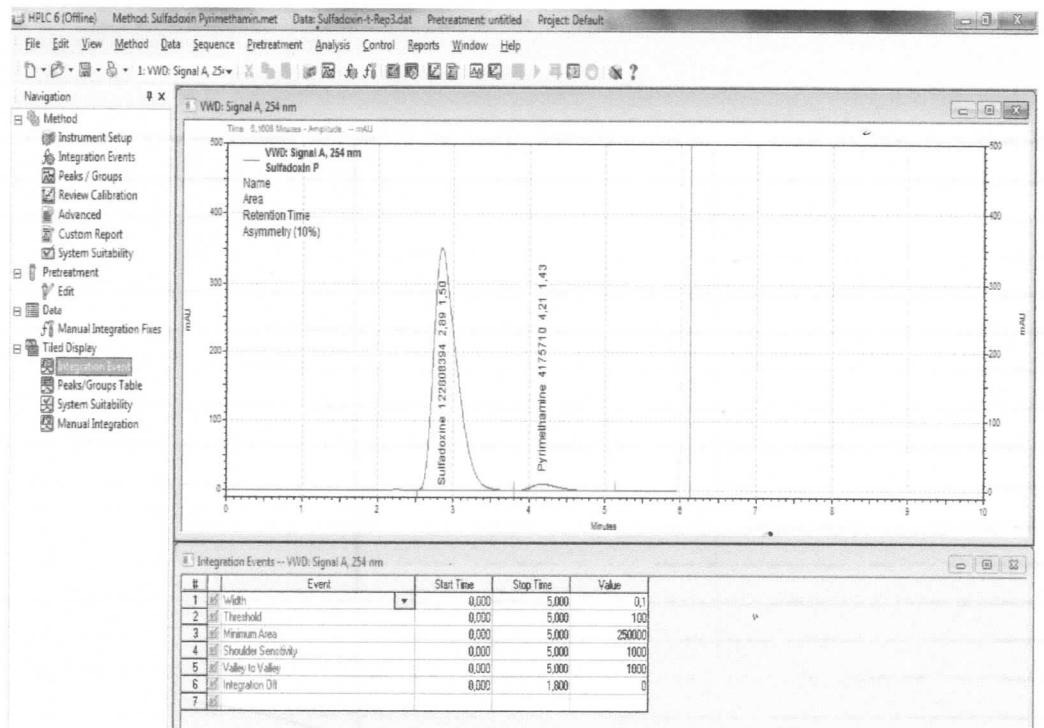
- 4.8.2 Klik tanda *sequence run*  atau klik *control* pada *menu bar*, kemudian pilih *sequence run*  kemudian isi kolom-kolom yang ada pada tampilan *Sequence run*. yaitu *Sequence name*, *Result Path*, *Result Name*, kemudian pilihan *Run range (All, Selection atau range)* sesuai dengan kebutuhan.
- 4.8.3 Kemudian klik *start*. Maka sistem HPLC akan berjalan sesuai dengan metode yang di *download* sebelumnya.
- 4.8.4 Apabila akan menjalankan kembali *sequence run* tetapi proses di sistem belum selesai, hal ini dapat dilakukan setelah selesai mengisi kolom-kolom yang ada kemudian klik *submit* atau *submit priority* sesuai kebutuhan.



4.9 Menganalisa Data Standar dan Sampel

- 4.9.1 Pada tampilan sistem Ezchrom Elite *Offline* lakukan pemanggilan metode dengan cara klik *file*, lalu pilih *method* lalu pilih *open*.
- 4.9.2 Panggil data yang akan menjadi standar dengan cara klik *file* lalu pilih *Data* lalu pilih *Open*.
- 4.9.3 Definisikan *peak* dengan cara klik *define peak* pada menu bagian bawah (atau buka dengan cara klik kanan pada kromatogram pilih *Graphical programming* pilih *define peak*) klik *start* dan *end peak* yang diinginkan, setelah dibuka isi kolom-kolom yang tersedia sesuai kebutuhan. kemudian klik *Peak Group Table* beri nama *peak* kemudian simpan kedalam metode.
- 4.9.4 Ubah integrasi data hingga diperoleh data *peak* yang bagus dengan cara klik *method*, lalu pilih *integration event*, kemudian atur *width*, *threshold*, *shoulder sensitivity* dan lain-lain sesuai kebutuhan kemudian klik *analysis* pilih *Analyze*, lalu simpan kedalam metode.
- 4.9.5 Untuk mengetahui performa kolom terkait dengan asimetri dapat ditambahkan dengan cara klik *Method* lalu pilih *Advaced*. Isi pada *Column Information* kemudian centang pada *calculate Performance Parameters* dan juga centang pada *Calculation Method* pilih *USP / EMG / BP / JP*, simpan kedalam metode.

 indofarma PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series	No	: PPB084
	Revisi	: 02
	Berlaku	: 01 OCT 2019
	Paraf	: 

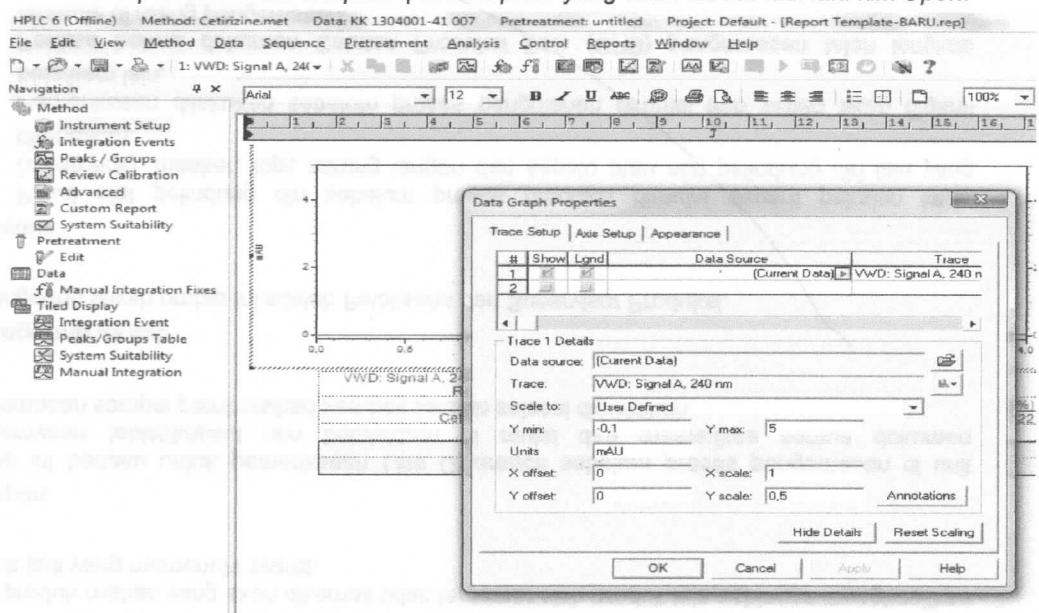


4.9.6 Untuk data standar yang akan digunakan sebagai data kalibrasi (cara membuka data standar sama seperti di jelaskan sebelumnya). Setelah peak diberi nama, masukkan konsentrasi standar di kolom level.

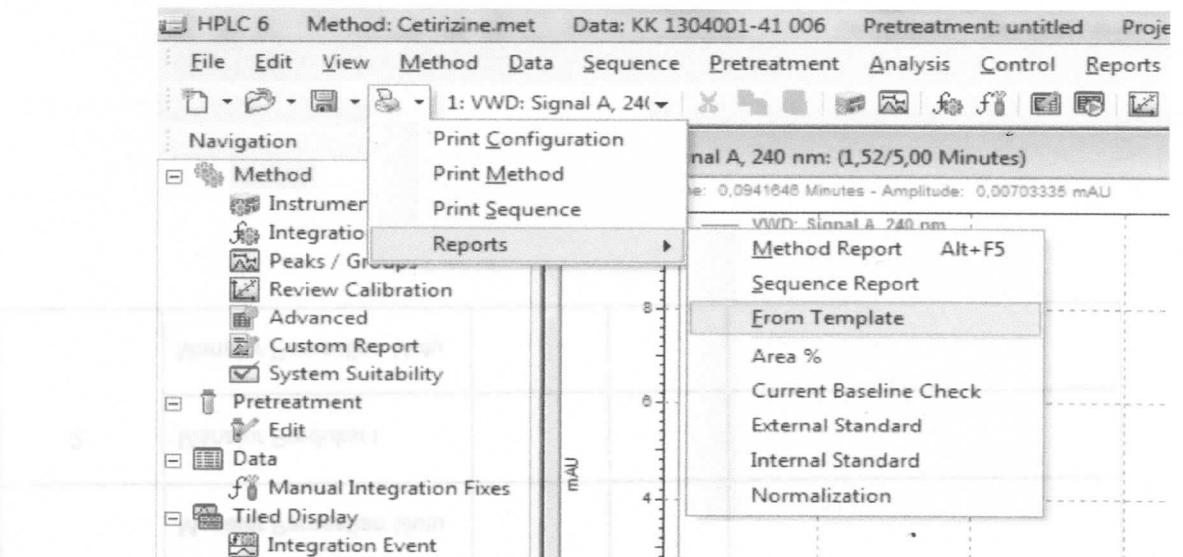
4.9.7 Klik Analysis lalu Analysis / Single Level Calibration isi kolom data :

 <p style="text-align: center;">PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series</p>	No : PPB084
	Revisi : 02
	Berlaku : 01 OCT 2019
	Paraf : 

- a. *Method* (pilih method yang ingin di kalibrasi)
 - b. *Data path* (pilih *data path* tempat data standar)
 - c. *Data file* (pilih *data file* standar yang ingin di kalibrasi)
 - d. Centang *Calibrate*
 - e. Tulis *Calibration level 1*
 - f. Centang *Clear all calibration*
- 4.9.8 Untuk level selanjutnya ulangi perlakuan no 4.8.2 hanya pada *calibartion level* no.2 dan seterusnya *Clear all Calibration* tidak perlu di centang lagi.
- 4.9.9 Lihat *review calibration* untuk melihat linearitas standar.
- 4.9.10 Simpan metode dengan cara klik file lalu pilih *method* dan save .
- 4.9.11 Untuk melihat data sampel sama dengan data standar yaitu dengan cara klik file lalu pilih *open* lalu pilih data sampel.
- 4.9.12 Klik *Report* lalu *view* untuk melihat perhitungan berdasarkan ESTD, ISTD atau yang lainnya.
- 4.10 Mencetak Hasil Data Standar dan Sampel**
- 4.10.1 Setelah semua data selesai dianalisa, buka *report* kemudian pilih *File* lalu *Report Template* pilih *Open*. Klik *template* yang diinginkan klik *Open*.
- 4.10.2 Setelah terbuka *report* dapat diedit sesuai dengan keinginan dengan cara klik 2 kali pada kromatogram lalu atur *axis setup*, *Annotation*, *Appearance*. Setelah selesai klik *Apply* dan *OK*. Kemudian simpan *template* tersebut klik *file* pilih *save as* lalu pilih beri nama *template* tersebut.
- 4.10.3 Setelah selesai hasil dapat diprint dengan cara klik *Gambar Printer* lalu pilih *Report* lalu *From template* pilih *template* yang telah dibuat tadi lalu klik *Open*.



 <p>PROTAP</p> <p>Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series</p>	No : PPB084
	Revisi : 02
	Berlaku : 01 OCT 2019
	Paraf : 



4.11 Mematikan HPLC

- 4.11.1 Setelah selesai analisa, sebelum HPLC dimatikan sebaiknya alat dan kolom dicuci dengan cara dialiri dengan air dan Methanol / Acetonitril selama lebih kurang 15 menit untuk kolom yang panjangnya 5 cm. Dan lebih kurang 45 menit untuk kolom yang panjangnya 15 cm, dengan flow 1 ml / menit.
- 4.11.2 Turunkan *flow* sampai dengan 0.0 ml/ menit secara bertahap.
- 4.11.3 Pindahkan selang pompa ke botol yang berisi air dan campuran Methanol / Acetonitril buka *Purge Valve* dengan memutarnya kekiri, nyalakan pompa dengan cara klik kanan pada *binary pump* lalu pilih *Method*, klik pada tulisan *flow*, naikkan secara bertahap (0.00; 0.10; 0.25; 0.50; 0.75; 1.00; 1.25; 1.50; 1.75; 2.00 ml/min).
- 4.11.4 Biarkan mengalir selama lebih kurang 5 menit, kemudian turunkan *flow* sampai 0.0, kemudian tutup kembali *Purge Valve*.
- 4.11.5 Naikkan *flow* secara bertahap hingga tercapai *flow* 1.0 ml / menit
- 4.11.6 Biarkan alat tersebut dibilas hingga selesai sampai waktu yang ditentukan.
- 4.11.7 Kemudian setelah selesai klik tombol OFF pada tampilan Instrument status, semua modul alat akan mati, kemudian tutup program EzChrom Elite.
- 4.11.8 Matikan semua tombol alat dengan cara menekan tombol power pada kiri bawah HPLC.
- 4.11.9 Matikan (*Shut Down*) komputer dan monitor.
- 4.11.10 Keluarkan semua vial yang terdapat dalam *tray* kemudian cuci hingga bersih.
- 4.11.11 Bersihkan dan rapikan alat, catat semua kegiatan pemakaian alat dalam buku Catatan Harian Pemakaian Alat HPLC Agilent 6.

5 Pustaka

Buku panduan penggunaan Alat HPLC Agilent 1260 Infinity.

 indofarma	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 6 Agilent 1260 Series	No	:	PPB084
		Revisi	:	02
		Berlaku	:	01 OCT 2019
		Paraf	:	X

6 Catatan Perubahan

Revisi	Berlaku	Perubahan
01	20 Juli 2017	1. Perubahan pada format dokumen sesuai dengan Ketentuan Umum Penyusunan Dokumen.
02	01 OCT 2019	1. Perubahan pada header dan logo perusahaan

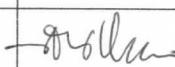
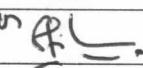
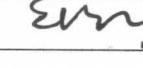
7 Tinjauan Ulang

Metode Analisis ini akan ditinjau ulang setiap 2 tahun (atau kurang jika perlu) oleh Manajer Pengawasan Mutu dan Manajer Pemastian Mutu.

8 Distribusi

- 8.1 Bidang Pengawasan Mutu
- 8.2 Bidang Pemastian Mutu

9 Pengesahan

Keterangan	Jabatan	Kode Bidang	Tanda tangan	Tanggal
Disusun oleh	Supervisor Pengujian Bahan Awal dan Bahan Kemas	AM		01 OKT 2019
Diperiksa oleh	Asman Pengujian Bahan Awal dan Produk	AM		01 OKT 2019
Disetujui oleh	Manajer Pengawasan Mutu	PM		01 OKT 2019
	Manajer Pemastian Mutu	AM		01 OKT 2019

10 Tinjauan

No.	Peninjau	Tgl. Tinjauan	Tanda tangan	Rekomendasi
1.	Manajer Pengawasan Mutu	06 SEP 2019		Protap masih Sesuai
	Manajer Pemastian Mutu	6 SEP 2019		Manih Sesuai
2.	Manajer Pengawasan Mutu			
	Manajer Pemastian Mutu			