


 indofarma	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 10, 11 & 12 (Hitachi / Chromaster / Ezchrom)	No : PPP032
		Revisi : 02
		Berlaku : 02 FEB 2022
		Paraf : 



- 1 **Tujuan**
Agar setiap pemakai menggunakan cara yang benar, sehingga dapat mencegah kerusakan alat akibat salah pengoperasian.
- 2 **Cakupan**
Protap ini sebagai panduan untuk melakukan pengoperasian alat HPLC Hitachi 10, 11 dan 12.
- 3 **Penanggung Jawab**
Penanggung jawab protap ini adalah Supervisor Pengujian Produk.
- 4 **Prosedur**
 - 4.1 Pastikan label kalibrasi masih berlaku, bila sudah kadaluwarsa laporkan kepada petugas kalibrasi untuk di kalibrasi.
 - 4.2 Turn ON PC, monitor dan printer
 - 4.3 Turn ON organizer, pump, auto sampler, column oven dan detector
 - 4.4 Double klik icon "*Chromaster Maintenance*"
 - 4.5 Klik tombol *connect*.
 - 4.6 Klik tombol *maintenance*.
 - 4.7 Setting *Pump*, Set Flowrate, Klik *Apply* lalu *Turn ON*, tunggu hingga *pressure* stabil lakukan *Purge ON (A/B/C/D)* pastikan tidak ada gelembung udara
 - 4.8 Pengkondisian Autosampler, Set dan klik *Wash* pada *Needle Wash*, lalu klik *Wash* pada *Rinse Port Wash*
 - 4.9 Alirkan metanol selama 10 menit dengan flow rate 1 ml/menit (perhatikan tekanan yang ditunjukkan di pump tidak melebihi 2500 psi).
 - 4.10 Atur 0.0 *flow rate* 1 ml/menit
 - 4.11 Alirkan air selama 10 menit dengan *flow rate* 1 ml/menit (perhatikan tekanan yang ditunjukkan di pump tidak melebihi 2500 psi).
 - 4.12 Atur 0,0 *flow rate* 1 ml/menit.
 - 4.13 Alirkan fase gerak dengan flow rate sesuai dengan metode analisis.
 - 4.14 Pastikan system bekerja dalam kondisi tekanan stabil dan siap untuk analisa
 - 4.15 Klik *Close (X)*. lalu klik *Close*.
 - 4.16 Aktifkan program *Ezchrom* untuk melakukan analisa sampel dan akuisisi data, sebagai berikut:
 - 4.16.1 Login *Ezchrom Elite*
 - 4.16.1.1. Double klik icon "Openlab Panel" pada desktop
 - 4.16.1.2. Klik tab **Instrument** pada navigation pane. Pilih project analisa (misal : vitamin), lalu klik **Launch**.
 - 4.16.2 Buat Metode
 - 4.16.2.1. Muncul jendela instrumen wizard-HPLC. Klik *Create or Modify Method*. Jika ingin membuat jendela baru atau modifikasi metoda. Atau tutup dengan klik close (x).
 - 4.16.2.2. Klik *Instrument Setup*. Setting parameter pompa, detector dan auto sampler sesuai metode analisa.
Pump : Isi nama solvent, set flow rate (misal : 1.000 ml/min), set time (min), % A/B/C/D
Auto sampler : set default (no setting)
Column Oven : set temperature oven
Detektor : set stop time (min), set Wavelength, set panjang gelombang (Ch 1 : WL (nm)).

 indofarma	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 10, 11 & 12 (Hitachi / Chromaster / Ezchrom)	No : PPP032
		Revisi : 02
		Berlaku : 02 FEB 2022
		Paraf : 


Set Aux Traces, Baseline Check, dan Trigger sebagai Default nya.

Klik *File* → *Method* → *save as*, beri nama *Method File*.

- 4.16.3 **Membuat Sequence**
 - 4.16.3.1 Klik *Instrument Wizard* atau icon, muncul window: Pilih *Create a sequence*.
 - 4.16.3.2 Pilih metode analisa yang sudah dibuat, Pilih *For Acquisition*, lalu klik *Next*.
 - 4.16.3.3 Masukkan *Sample ID* dan nama *Date File*, jumlah sample dan pengulangannya. Lalu *Next*
 - 4.16.3.4 Masukkan Nomor vial sampel dan standar kalibrasi, Isi Volume injeksi, Lalu *Next*.
 - 4.16.3.5 Masukkan *Calibration ID* dan nama *Calibration File*, Isi jumlah deret standar.
 - 4.16.3.6 Periksa dan edit table sequence jika diperlukan. Lalu simpan sequence *File* → *Save As* → *Sequence*.
- 4.16.4 **Menjalankan Sequence**
 - 4.16.4.1 Klik *Control* → *Sequence Run*
 - 4.16.4.2 Klik *Start*.
 - 4.16.4.3 Tunggu hingga proses analisa (sequence) selesai (completed).
- 4.16.5 **Identifikasi Peak**
 - 4.16.5.1 Buka salah satu data standard sampel lalu Identifikasi *peak* yang diperoleh. Klik icon *Define Single peak* (pada bagian bawah layar kromatogram) atau klik kanan pada kromatogram, pilih *graphical programming* → *Define Single Peak*
 - 4.16.5.2 Tentukan / pilih peak utama dari standard / sampel yang dimaksud, dengan menekan tombol *Next* sesuai dengan *Retention Time* nya. Isi nama peak (mis : paracetamol), *Conc* (mis : 10), *Units* (mis : % atau ppm), *Window relative* (5%).
 - 4.16.5.3 Setelah semua *peak* teridentifikasi, klik *Done*
 - 4.16.5.4 Klik icon *Analyze* atau klik *Analysis* → *Analyze*
 - 4.16.5.5 Isi data konsentrasi deret standard (level 1, Level 2, dst). Klik *Method* → *Peaks/Groups*
 - 4.16.5.6 Simpan hasil identifikasi dengan klik icon *Save* pilih *Save Method* atau *File* → *Method* → *Save*
- 4.16.6 **Menghitung Linearitas Deret Standar**
 - 4.16.6.1 Buka file sequence (yang berisi standard sampel – langkah 12), pilih semua run sequence kalibrasi lalu klik kanan pilih *Process sequence*. Klik *Start*
 - 4.16.6.2 Tunggu hingga proses perhitungan selesai
 - 4.16.6.3 Klik *Review Calibration*, untuk melihat hasil linearitas
- 4.16.7 **Menghitung Kadar Sample Unknown**
 - 4.16.7.1 Buka data sample unknown. Pilih *Method = current*. Klik *Open*
 - 4.16.7.2 Klik *Analyze*, lalu klik *Report* → *View* → *External Standard* (di table pada report akan muncul konsentrasi sampel yang merupakan kadar sampel)
- 4.17 **Setelah selsai pengerjaan, Klik Instrumen Status untuk melakukan pencucian kolom sebagai berikut :**
 - 4.17.1 Untuk fase gerak : Methanol

 Indofarma	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 10, 11 & 12 (Hitachi / Chromaster / Ezchrom)	No : PPP032
		Revisi : 02
		Berlaku : 02 FEB 2022
		Paraf : 

- 4.17.1.1 Klik *UV-Vis 1* pada window *Instrument Status*, lalu matikan lampu UV-Vis dengan cara klik *Turn Off*
- 4.17.1.2 Atur *flow rate* pompa 0.0 ml/menit
- 4.17.1.3 Alirkan 30 ml DIW dengan *flow rate* 1 ml/menit, perhatikan tekanan yang ditunjukkan pompa tidak melebihi 2500 psi. setelah 5 menit, klik *Autosampler* untuk melakukan pencucian injector pada autosampler klik *Autowashing*
- 4.17.1.4 Tunggu sampai sistem teraliri methanol kira-kira 30 ml
- 4.17.1.5 Klik *pump*, atur *flow rate* 0.0 ml/menit
- 4.17.1.6 Klik *Turn Off* untuk memntikan pompa
- 4.17.2 Untuk fase gerak : larutan dapar, larutan garam. Perbedaan pada poin,
- 4.17.2.1 DIW yang dialirkan sebanyak 60 ml dengan *flow rate* 1 ml/menit.
- 4.18 Tutup semua window kemudian exit
- 4.19 Shut down HPLC, PC, printer
- 4.20 Rapikan kembali alat dan lepaskan stop kontak
- 4.21 Bersihkan alat bila telah selesai penggunaan dan isi Buku Catatan Harian Penggunaan Alat HPLC
- 4.22 Catat pemakaian alat pada Formulir FQS005 logbook mesin / peralatan / instrument.
- 5 **Pustaka**
- 5.1 *Operational Manual Book Sotax AT Xtend.*
- 6 **Catatan Perubahan**
- | Revisi | Berlaku | Perubahan |
|--------|--------------------|---|
| 00 | 28 Juli 2017 | Protap ini adalah pengganti protap PPB100 Revisi 00, dengan perubahan pada nomor protap dan isi protap. |
| 01 | 12 November 2019 | Perubahan pada <i>header</i> dan logo perusahaan. |
| 02 | 02 FEB 2022 | Perubahan judul karena ada penambahan alat baru yaitu HPLC 12 |
- 7 **Tinjauan Ulang**
Protap ini akan ditinjau ulang setiap 2 tahun sekali atau kurang jika diperlukan oleh Manajer Pengawasan Mutu dan Manajer Pemastian Mutu.
- 8 **Distribusi**
Laboratorium Pengawasan Mutu.

	PROTAP Cara Pengoperasian Alat HPLC 10, 11 & 12 (Hitachi / Chromaster / Ezchrom)	No : PPP032
		Revisi : 02
		Berlaku : 02 FEB 2022
		Paraf : <i>J.</i>

9 Pengesahan

Keterangan	Jabatan	Kode Bidang	Tanda tangan	Tanggal
Disusun oleh	Supervisor Pengujian Produk	AM	<i>Petias</i>	28 Jan 2022
Diperiksa oleh	Asman Pengujian Bahan Awal dan Produk	AM	<i>JMS</i>	28 Jan 2022
Disetujui oleh	Manajer Pengawasan Mutu	AM	<i>[Signature]</i>	28 Jan 2022
	Manajer Pemastian Mutu	PM	<i>[Signature]</i>	28 Jan 2022

10 Tinjauan

No.	Peninjau	Tgl. Tinjauan	Tanda tangan	Rekomendasi
1	Manajer Pengawasan Mutu			
	Manajer Pemastian Mutu			
2	Manajer Pengawasan Mutu			
	Manajer Pemastian Mutu			