

 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 laporan 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 ditunjukan 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 ditunjukan 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 sistem 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 Wavelenght, 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 ikon *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 ikon *Analyze* atau klik *Analysis* → *Analyze*

4.16.5.5 Isi data konsentrasi deret standard (level 1, Level 2, dst). Klik *Methode* → *Peaks/Groups*

4.16.5.6 Simpan hasil identifikasi dengan klik ikon *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 selesai pengeraaan, 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 : J.
--	---	---

- 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 mematikan 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 da nisi 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 header dan logo perusahaan.
02	02 FEB 2022	Perubahan judul karena ada penambahan alat baru yaitu HPLC 12

7 Tinjauan Ulang

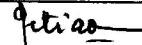
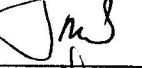
Protap ini akan ditinjau ulang setiap 2 tahun sekali atau kurang jika diperlukan oleh Manajer Pengawasan Mutu dan Manajer Pemastian Mutu.

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 :

9 Pengesahan

Keterangan	Jabatan	Kode Bidang	Tanda tangan	Tanggal
Disusun oleh	Supervisor Pengujian Produk	AM		28 Jan 2022
Diperiksa oleh	Asman Pengujian Bahan Awal dan Produk	AM		28 Jan 2022
Disetujui oleh	Manajer Pengawasan Mutu	AM		28 Jan 2022
	Manajer Pemastian Mutu	PM		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			