

LAPORAN PRAKTIKUM 8

PRAKTIKUM HPLC ANALISA TABLET VITAMIN C

HARI/ TANGGAL PRAKTIKUM : KAMIS/ 20 DESEMBER 2012

JAM : 08.00 – 11.00 WIB

Nama Praktikan : KAROLINA BR SURBAKTI (NIM: 20127008018)

LUCIA AKTALINA (NIM : 201217008002)

Tujuan :

1. Menentukan kadar berbagai tablet Vitamin C menggunakan metoda HPLC
2. Mampu menggunakan alat HPLC

Dasar teori

Kromatografi pertama kali diperkenalkan oleh TSWETT pada tahun 1903, ia menggunakannya untuk pemisahan senyawa-senyawa berwarna dan nama kromatografi diambil dari senyawa-senyawa yang berwarna. Senyawa berwarna yang digunakan TSWETT sebagai sampel adalah pigmen-pigmen daun, karena warnanya maka cepat terlihat lokasinya dalam kolom.

Saat ini kromatografi tidak lagi digunakan untuk pemisahan senyawa-senyawa berwarna saja. Senyawa-senyawa tidak berwarna dapat dilihat melalui floresensi dalam sinar ultraviolet.

Pada dasarnya semua teknik kromatografi menggunakan dua fasa, yaitu fasa diam (stationary) dan fasa gerak (mobile); pemisahan-pemisahan tergantung pada gerakan relative dari dua fasa ini. perlu diperhatikan bahwa fasa gerak yang digunakan tidak mempunyai efek terhadap fasa diam atau hanya sangat lemah diserap oleh fasa diam.

Dalam industri farmasi, HPLC secara rutin digunakan untuk menganalisis produk obat. Pabrik harus memastikan bahwa setiap produk memenuhi syarat yang ditentukan. Sebagai analisis QC, Anda akan menganalisis beberapa tablet C Vitamin (asam askorbat) untuk memastikan konsentrasi tablet Vitamin C tersebut sesuai label dan memiliki jumlah yang konsisten dari vitamin C dalam setiap tablet.

1. Instrumen

Alat High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) yang digunakan yaitu Alliance 2695, Detector UV/VIS 2489 dilengkapi dengan kolom C-18, diameter 5 ul, ukuran 4,6 x 150 mm dan Detektor UV-Vis yang terhubung.

2. Persiapan fase gerak dan alat HPLC

- Siapkan 500 mL larutan 55% air: metanol 45% dan tambahkan 6 tetes 6 M H₂SO₄.
- Hidupkan komputer dan alat HPLC, set sesuai dengan protokol alat HPLC tersebut dan
- sesuai dengan kondisi analisa yang digunakan.

3. Persiapan panjang gelombang Max Vitamin C

- Siapkan 0,05 mg / mL Vitamin C standar dan tentukan panjang gelombang absorbansi
- maksimum untuk Vitamin C menggunakan spektrofotometer UV / Vis dengan $\lambda = 200-400\text{nm}$.
- Gunakan panjang gelombang maksimum ini untuk detector HPLC yang digunakan

4. Persiapan Standar Vitamin C (asam askorbat)

- Siapkan 0,25 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air.
- Siapkan 0,20 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air.
- Siapkan 0,15 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air
- Siapkan 0,10 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air.
- Siapkan 0,05 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air.

5. Persiapan sampel

1. Sediakan beberapa tablet vitamin C berbeda, yaitu vit C dalam Pot 25 mg, Be-Ferce 1000 mg, vit C- IPI 50 mg, Xonce 500 mg, Vitacimin 500 mg, gerus halus masing-masing tablet tersebut
2. Larutkan 300 mg (massa terdekat 0,1 mg) dalam air dan encerkan sampai 100,0 mL
3. Ambil alikuot 10,00 mL larutan di atas dan encerkan sampai 100,0 mL dengan air

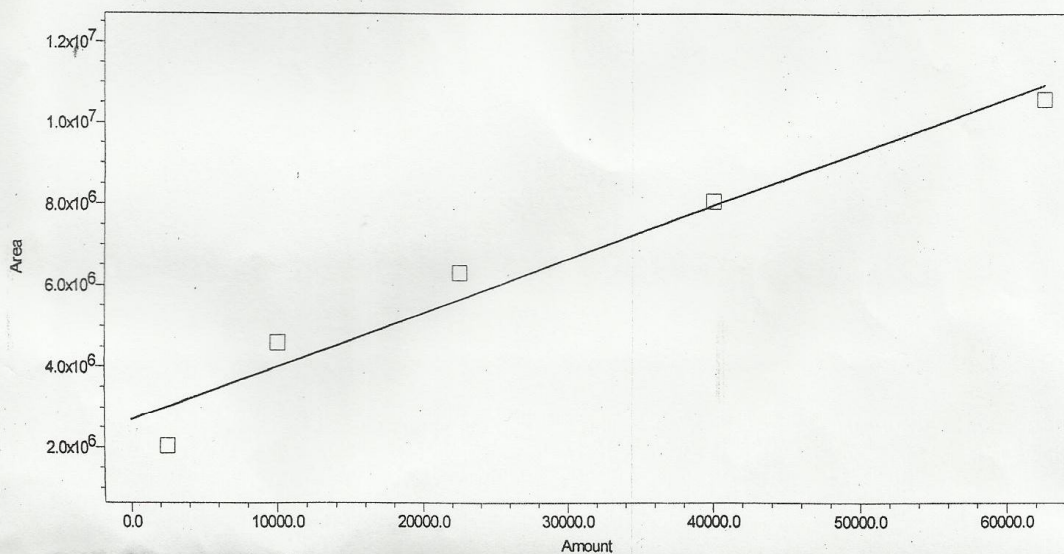
4. Ulangi untuk sampel vitamin C lainnya.

5. Analisa vitamin C

Gambar kurva kalibrasi vitamin C

Processing Method:	Multi St Biomedik Pagi	System:	2695_2489
Processing Method ID:	1087	Channel:	W2489 ChA
Calibration ID:	1088	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 254nm
Date Calibrated:	12/19/2012 2:54:38 PM WT		

Calibration Plot group contains no data.



Peak Name: Peak1; RT: 1.586; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1089; R: 0.977702; R²: 0.955902; Weighting: None; Equation: $Y = 1,32e+002 X + 2.69e+006$; Normalized Intercept/Slope: 0.627822; RSD(E): 12.515451

Peak: Peak1

	Sample Name	Result Id	Peak Name	Level	X Value	Response	Calc. Value	% Deviation
1	Standart 1	1090	Peak1	1	2500.000	2033196.598	-4974.901	-299.00
2	Standart 2	1091	Peak1	2	10000.000	4595027.769	14466.066	44.66
3	Standart 3	1092	Peak1	3	22500.000	6304546.595	27439.091	21.95
4	Standart 4	1093	Peak1	4	40000.000	8056170.973	40731.641	1.83
5	Standart 5	1094	Peak1	5	62500.000	10573922.670	59838.102	-4.26

Reported by User: System
 Report Method: LC Calibration Report
 Report Method ID: 1007
 Page: 1 of 2

Project Name: Biomedik 12 pagi
 Date Printed: 12/19/2012
 4:00:31 PM Asia/Jakarta

Hasil pemeriksaan vitamin C

Peak Summary with Statistics

Name: Peak1

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units
5	Sampel 5	10	1	Peak1	1.586	4029159	99.78	776211	33.9	ppm
Mean					1.589					
Std. Dev.					0.004					
% RSD					0.22					

Peak Summary with Statistics

Name:

	Sample Name	Vial	Inj	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	Sampel 1	6	1	1.342	5865	0.30	686
2	Sampel 2	7	1	1.307	17363	0.09	2617
3	Sampel 2	7	1	0.198	28141	0.15	2826
4	Sampel 2	7	1	4.352	19967	0.10	1116
5	Sampel 2	7	1	1.930	17592	0.09	2901
6	Sampel 2	7	1	2.038	19647	0.10	3140
7	Sampel 3	8	1	1.261	5172	0.03	519
8	Sampel 3	8	1	2.232	21858	0.12	2933
9	Sampel 3	8	1	3.392	28999	0.15	2871
10	Sampel 3	8	1	4.300	51673	0.28	2748
11	Sampel 4	9	1	0.839	74271	1.77	4511
12	Sampel 4	9	1	0.235	297417	7.08	30049
13	Sampel 4	9	1	1.341	7563	0.18	738
14	Sampel 5	10	1	2.417	3472	0.09	252
15	Sampel 5	10	1	1.338	5576	0.14	608
Mean				1.901			
Std. Dev.				1.279			
% RSD				67.25			

Tabel 1. Data hasil vitamin C yang diperoleh dengan alat HPLC:

NO	MERK VIT C	KONSENTRASI DALAM KEMASAN	KONSENTRASI DARI ALAT HPLC
1	Vit C dalam pot	25 mg	Tidak ada hasil
2	Be-ferce	1000 mg	410,8 ppm
3	Vit C IPI	50 mg	402,9 ppm
4	Xonce	500 mg	28,7 ppm
5	Vitacimin	500 mg	33,9 ppm

Dari data diatas diperoleh konsentrasi vitamin C yang tertera pada label, tidak sama dengan konsentrasi yang diperoleh dari pemeriksaan menggunakan alat HPLC. Akan tetapi paek vitamin C muncul pada waktu rata rata (retention time min) menit ke 1,589. Dan standart deviasi (SD) 0,004.

KESIMPULAN

1. Dari 5 sampel vitamin C yang diperiksa, konsentrasi vitamin C yang paling besar adalah be-ferce yang diukur dari alat HPLC
2. Dari data diatas diperoleh bahwa konsentrasi Vitamin C pada label tidak sama hasilnya dengan konsentrasi yang dari HPLC, hal ini dapat disebabkan pada pengenceran sampel terjadi kesalahan pada saat membersihkan dinding labu ukur , dimana dinding tabung tidak kering dibersihkan dan juga sampel terhisap pada saat membersihkan tabung.
3. Perbedaan hasil diatas juga dapat dipengaruhi pada saat penggerusan vitamin C, dimana alat penggerus yang digunakan bergantian, hal ini dapat menyebabkan vitamin C dari berbagai sampel bercampur sehingga konsentrasi vitamin C juga bisa berubah .
4. Dari gambar diatas dapat dapat dilihat peak atau puncak vitamin C muncul pada retention time min (menit) ke 1,589. Hal ini mendekati dengan literature bahwa peak vitamin C muncul rata-rata pada menit 2- 3.

SARAN

1. Dalam melakukan praktikum ini sebaiknya dalam menghitung dosis vitamin C harus benar-benar akurat sehingga dalam menghitung konsentrasi dengan HPLC bisa sesuai.
2. Dalam praktikum sebaiknya hati-hati dalam membersihkan labu ukur karena untuk menghitung konsentrasi vitamin C kebersihan dan kekeringan alat sangat besar pengaruhnya.
3. Pada saat membersihkan labu ukur, praktikan harus hati-hati karena bisa ikut terhisap sampel.
4. Alat untuk menggerus vitamin C sebaiknya benar-benar bersih, karena bisa bercampur dengan vitamin C merk lain.