

Laporan praktikum 8.

PRAKTIUM HPLC; ANALISA TABLET VITAMIN C

Hari / tanggal : Rabu, 19 Desember 2012

Pukul : 08.00 wib

Praktikan : Sari Hutagaol, Yulia Fitri (A), Nunung Sri mulyani

Tujuan :

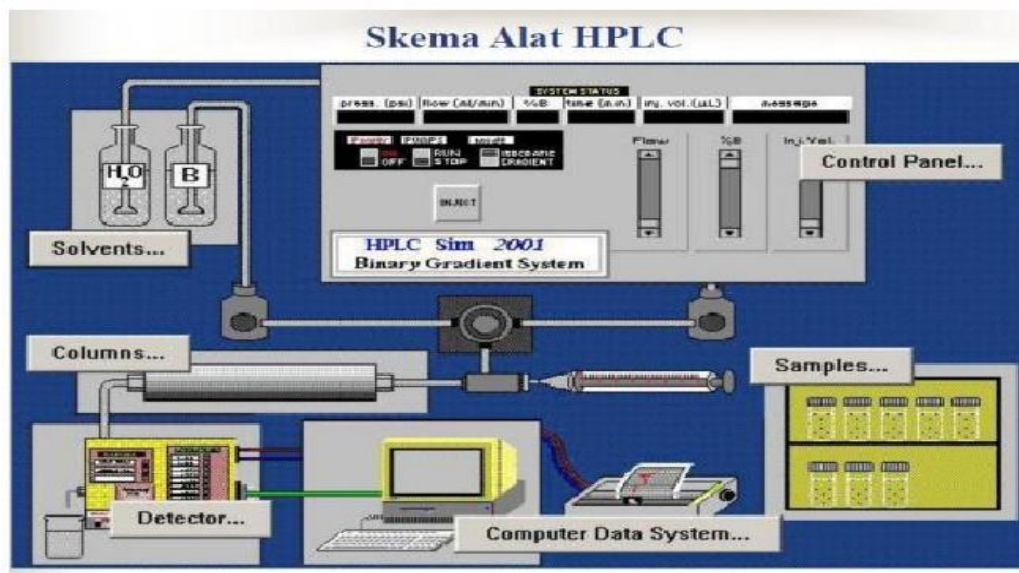
1. Mampu melakukan langkah-langkah analisa tablet vitamin C
2. **Mampu** menentukan kadar berbagai tablet Vitamin C menggunakan metoda HPLC
3. **Mampu menghitung nilai rata-rata (assay) dala 10 % klaim label dan standar deviasi relative (keseragaman content) kurang 5%.**

1. 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 di gunakan 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.

Kromatografi merupakan salah satu metode pemisahan komponen-komponen campuran dimana cuplikan berkesetimbangan diantara dua fasa,yaitu fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak yang membawa cuplikan dan fasadiam yang menahan cuplikan secara selektif. High Performance LiquidChromatography (HPLC) atau kromatografi cair kinerja tinggi menggunakan cairan sebagai fasa gerak dan fasa diamnya.Kromatografi didasarkan atas distribusi partisi sampel (komponen)diantara fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak yaitu fasa yang bergerak denganarah yang telah ditentukan. Fasa gerak bergerak melalui fasa diam. Sedangkanfasa diam adalah fasa yang secara tetap tidak bergerak.Prinsip kerja HPLC adalah pemisahan

komponen analit berdasarkan kepolarannya, artinya komponen pada suatu analit (sampel) akan terpisah berdasarkan sifat kepolaran masing-masing komponen dalam sampel, apakah kepolarannya lebih mirip dengan fasa diam, maka dia akan tertinggal di fasa diam atau bergerak lebih lambat, ataukah kepolarannya lebih mirip dengan fasa gerak sehingga dia akan bergerak terdistribusi lebih jauh dan lebih cepat. Dengan bantuan pompa, fasa gerak cair dialirkan melalui kolom detector. Cuplikan (sampel) dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran. Karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut-solut terhadap fasa diam. Solut-solut yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam, maka komponen tersebut akan keluar lebih lama. Setiap campuran (komponennya) yang keluar kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram.



2. Alat dan bahan

1 Perangkat alat HPLC	aquadres
Gelas ukur	Padatan Vitamin C : xonce, vitacimin, B-force, C-IPI, vit C-Pot
Labu	Pipet tetes
Alat vortex	Lumping dan alu
Milipore filter 0,22 cm	metanol
Tissue	Asam oksalat
Timbangan digital	

3. Cara kerja

a. **Persiapan Alat**

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

b. **Persiapan panjang gelombang Max Vitamin C**

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

c. **Persiapan Standar Vitamin C (asam askorbat)**

1. Siapkan 0,25 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air.
2. Siapkan 0,20 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air.
3. Siapkan 0,15 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air
4. Siapkan 0,10 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air.
5. Siapkan 0,05 mg / mL Vitamin C standar diencerkan dengan air.

d. **Persiapan sampel**

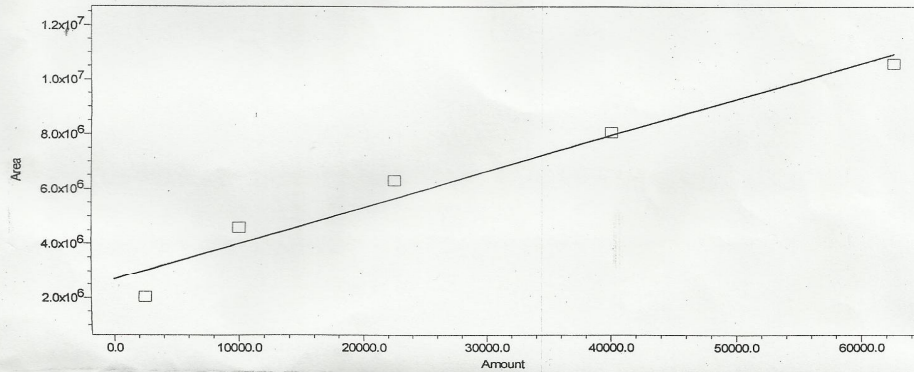
1. Sediakan beberapa tablet vitamin C berbeda, gerus halus masing-masing tablet tersebut (yang disediakan Vit c pot 25 mg , Bi-ferce 1000 mg, C-IPI 50 mg, Xon-ce 500 mg, Vitacimin 500 mg)
2. Larutkan 300 mg (massa terdekat 0,1 mg) dalam air dan encerkan sampai 100,0 mL air tapi jangan dipanaskan
3. Ambil alikuot 10,00 mL larutan di atas dan encerkan sampai 100,0 mL dengan air
4. Ulangi untuk sampel vitamin C lainnya.

e. **Analisis Vitamin C**

1. Kurva kalibrasi dan tentukan konsentrasi vitamin C setiap sampel

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 WIT	

Calibration Plot group contains no data.



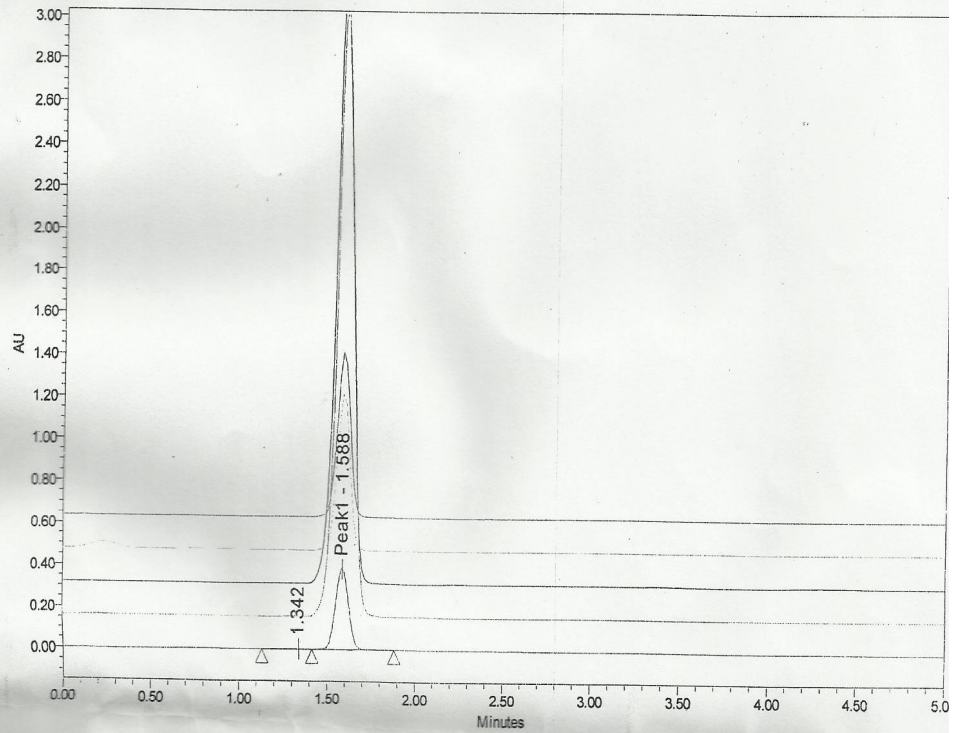
Peak Name: Peak1; RT: 1.586; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1089; R: 0.977702; R²: 0.955902; Weighting: None; Equation: $Y = 1,32e+002 X + 2.69e+006$; Normalized Intercept/Slope: 0.627822; RSD(E): 12.515451

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

Konsentrasi sampel tidak perlu dihitung lagi karena sudah ada hasil dari alat HPLC.

Dibawah ini adalah data konsentrasi sampel dari analisa alat HPLC



- Sample Name: Sampel 1; Date Acquired: 12/19/2012 12:42:58 PM WT; Vial: 6; Injection: 1
- Sample Name: Sampel 2; Date Acquired: 12/19/2012 12:48:43 PM WT; Vial: 7; Injection: 1
- Sample Name: Sampel 3; Date Acquired: 12/19/2012 12:54:27 PM WT; Vial: 8; Injection: 1
- Sample Name: Sampel 4; Date Acquired: 12/19/2012 1:00:09 PM WT; Vial: 9; Injection: 1
- Sample Name: Sampel 5; Date Acquired: 12/19/2012 1:05:54 PM WT; Vial: 10; Injection: 1

Peak Summary with Statistics
Name: Peak1

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height	Amount	Units
1	Sampel 1	6	1	Peak1	1.588	1981862	99.70	390019		ppm
2	Sampel 2	7	1	Peak1	1.595	18930571	99.46	2891173	410.8	ppm
3	Sampel 3	8	1	Peak1	1.588	18614825	99.42	2816141	402.9	ppm
4	Sampel 4	9	1	Peak1	1.587	3822665	90.97	737558	28.7	ppm

Reported by User: System
 Report Method: Peak Summary Report
 Report Method IL1010
 Page: 1 of 2

Project Name: Biomedik 12 pagi
 Date Printed:
 12/19/2012
 3:55:03 PM Asia/Jakarta

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					

2. Standar deviasi relatif dan rata-rata untuk lima hasil sampel.

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					

Berdasarkan tabel diatas diperoleh rata-rata retention time pada sampel adalah 1,589 menit dengan standar deviasi 0,004. Sedangkan rata – rata retention time dari standar adalah 1,586 sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel yang diperiksa benar mengandung vitamin c.

3. Sampel tablet harus memiliki nilai rata-rata (Assay) dalam 10% dari klaim label dan standar deviasi relatif (Keseragaman Content) harus kurang dari 5% untuk tablet yang akan diteruskan kepada konsumen. Apakah tablet lulus?

Pada hasil praktikum yang dilakukan, tidak bisa dilakukan perhitungan untuk nilai rata-rata dalam 10 % dari klem label dan standar deviasi relatif (Keseragaman Content) harus kurang dari 5%, kemungkinan karena :

- a. Terjadi interaksi farmaseutika pada waktu penggerusan antar sampel karena menggunakan lumpang yang sama dimana setelah satu sampel digerus,lumpang tidak dibersihkan dengan sempurna, sehingga tidak dapat dipastikan kemurnian konsentrasi masing-masing sampel yang diperiksa.
- b. Terjadinya human error pada saat pemeriksaan antara lain kemungkinan terjadi ketidakcocokan antara pencatatan urutan sampel dengan urutan tabung yang dimasukkan kealat HPLC .

- c. Terjadi kesalahan pada proses penimbangan dan pengenceran yang dikarenakan ketidakteelitian dan kurang terampilnya praktikan.

C. Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil praktikum didapatkan bahwa hasil dari pemeriksaan konsentrasi vitamin c pada masing-masing sampel tidak bisa dilakukan perhitungan untuk nilai rata-rata dalam 10 % dari klem label dan standar deviasi relatif (Keceragaman Content) harus kurang dari 5%
2. Berdasarkan rata-rata retention time pada sampel adalah 1,589 menit dengan standar deviasi 0,004. Sedangkan rata – rata retention time dari standar adalah 1,586 sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel yang diperiksa benar mengandung vitamin c namun konsentrasi dari masing-masing sampel tidak dapat diketahui karena adanya kesalahan prosedur.

D. Saran

1. Diharapkan sebelum praktikum dimulai, alat HPLC sudah diuji coba terlebih dahulu untuk memastikan alat HPLC beserta perangkatnya siap digunakan untuk efektifitas waktu.
2. Diberikan penjelasan yang lengkap tentang langkah-langkah praktikum sehingga praktikan mudah mengerti, memahami dan melakukan prosedur praktikum.
3. Praktikan harus lebih teliti dalam melakukan semua prosedur praktikum