

## LAPORAN PRAKTIKUM 8

### HPLC: ANALISA TABLET VITAMIN C

Oleh : Maria Lestari dan Henny E. S. Ompusunggu

Hari/Tanggal/Jam Praktikum : Rabu/ 19 Desember 2012/ 12.00 s/d selesai

#### Tujuan :

1. Mengetahui prinsip kerja HPLC
2. Menentukan kadar berbagai tablet Vitamin C menggunakan metoda HPLC

#### Alat dan bahan yang digunakan :

| <i>Bahan</i>       | <i>Alat</i>  |
|--------------------|--|
| Standart Vitamin C | HPLC( <i>HighPerformance Liquid Cromatografi</i> ) |
| Tablet Vitacimin   | Labu ukur 10ml                                     |
| Tablet Xon-Ce      | Labu ukur 100ml                                    |
| Aquabidestilata    | Tissue   |
|                    | Filter   |
|                    | Tabung efendorf                                    |
|                    | Spuit 5ml  |
|                    | Beaker glass                                       |

#### Prosedur kerja:

##### a. Persiapan panjang gelombang maksimum Vitamin C

- Menyiapkan 0,05mg/ml Vitammin C standard dan menentukan panjang gelombang absorbansi maksimum untuk Vitamin C menggunakan spektrofotometer UV/Vis dengan  $\lambda = 254\text{nm}$
- Fase gerak = aquabidest (55%), methanol (45%),
- Fase diam = laju alir : 1ml/menit

**b. Persiapan larutan standart Vitamin C**

- Standart A (Disiapkan 0,05mg/ml(50ppm) Vitamin C diencerkan dengan air)
- Standart B (Disiapkan 0,10mg/ml(100ppm) Vitamin C diencerkan dengan air)
- Standart C (Disiapkan 0,15mg/ml(150ppm) Vitamin C diencerkan dengan air)
- Standart D (Disiapkan 0,20mg/ml(200ppm) Vitamin C diencerkan dengan air)

**c. Persiapan sampel**

- Menyediakan beberapa tablet Vitacimin dan Xon-Ce, gerus halus masing-masing tablet tersebut.
- Melarutkan 300mg gerusan vitacimin dalam air dan diencerkan dengan aquabidest sampai menjadi 100ml alikuot. (Alikuot A)
- Ambil 10ml alikuot A diencerkan kembali sampai 100ml dengan aquabidest (alikuot B)
- Ulangi sampel untuk Vitamin C lainnya.

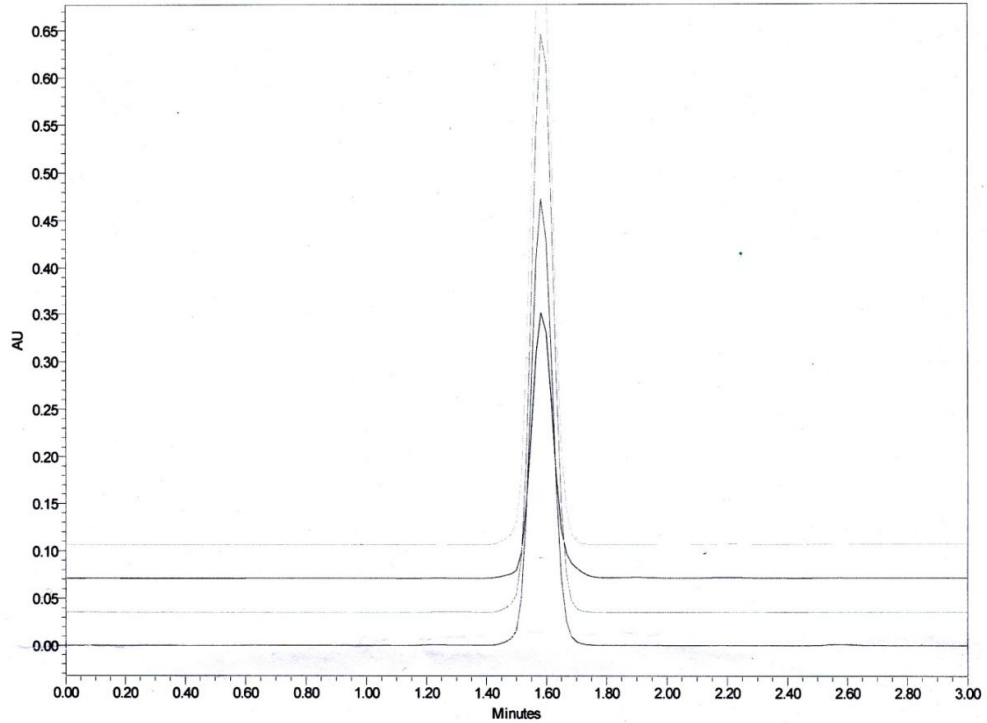
**d. Preparasi pemeriksaan dengan HPLC**

- Masukkan 10 ml alikuot B (menjadi sampel) ke dalam labu ukur 10ml kemudian masukkan ke dalam waterbath selama 5 menit.
- Keluarkan sampel dari waterbath kemudian masukkan sampel ke dalam tabung efendorf dengan menggunakan filter sampai tabung tersebut penuh.
- Setelah masing-masing sampel dimasukkan ke dalam tabung efendorf selanjutnya dilakukan pemeriksaan HPLC.

Hasil dan Pembahasan :



Peak Summary Report



- Sample Name: Sampel A; Date Acquired: 12/19/2012 3:33:00 PM WIT; Vial: 5; Injection: 1
- Sample Name: Sampel B; Date Acquired: 12/19/2012 3:36:44 PM WIT; Vial: 6; Injection: 1
- Sample Name: Sampel C; Date Acquired: 12/19/2012 3:40:28 PM WIT; Vial: 7; Injection: 1
- Sample Name: Sampel D; Date Acquired: 12/19/2012 3:44:11 PM WIT; Vial: 8; Injection: 1

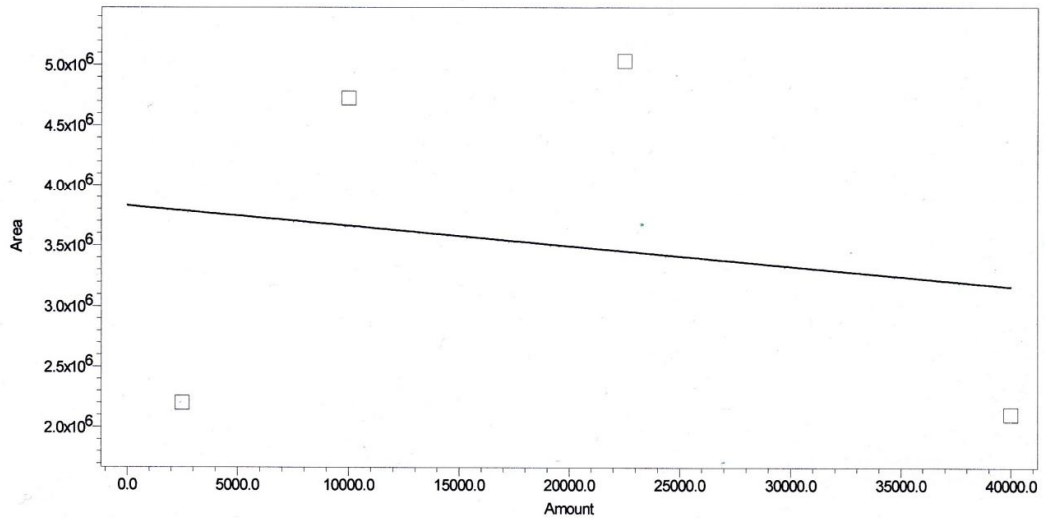
Error Log

Peak Summary w Statistics group contains information that doesn't match the data being reported.

Reported by User: System  
Report Method: Peak Summary Report  
Report Method ID 1010  
Page: 1 of 1

Project Name: Biomedik siang  
Date Printed:  
12/19/2012  
4:18:48 PM Asia/Jakarta

|   |                                     |
|---|-------------------------------------|
| Processing Method: Multi std biomedik siang | System: 2695_2489                   |
| Processing Method ID: 1047                  | Channel: W2489 ChA                  |
| Calibration ID: 1048                        | Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 254nm |
| Date Calibrated: 12/19/2012 4:08:36 PM WIT  |                                     |



Peak Name: Peak1; RT: 1.585; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1049; R: 0.173542; R<sup>2</sup>: 0.030117; Weighting: None; Equation:  $Y = -1.67e+001 X + 3.83e+006$ ; Normalized Intercept/Slope: -10.783267; RSD(E): 54.155268

**Peak: Peak1**

|   | Sample Name | Result Id | Peak Name | Level | X Value   | Response    | Calc. Value | % Deviation |
|---|-------------|-----------|-----------|-------|-----------|-------------|-------------|-------------|
| 1 | Standart A  | 1050      | Peak1     | 1     | 2500.000  | 2200446.387 | 97459.353   | 3798.37     |
| 2 | Standart B  | 1051      | Peak1     | 2     | 10000.000 | 4724681.473 | -53602.758  | -636.03     |
| 3 | Standart C  | 1052      | Peak1     | 3     | 22500.000 | 5031279.536 | -71951.029  | -419.78     |
| 4 | Standart D  | 1053      | Peak1     | 4     | 40000.000 | 2106284.664 | 103094.434  | 157.74      |

**Peak: Peak1**

|   | Manual | Ignore |   | Manual | Ignore |   | Manual | Ignore |   | Manual | Ignore |
|---|--------|--------|---|--------|--------|---|--------|--------|---|--------|--------|
| 1 | No     | No     | 2 | No     | No     | 3 | No     | No     | 4 | No     | No     |

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

Project Name: Biomedik siang  
 Date Printed: 12/19/2012  
 4:08:57 PM Asia/Jakarta

**Pembahasan:**

1. Melalui praktikum kita dapat mengetahui prinsip HPLC:

Prinsip kerja HPLC adalah sebagai berikut : dengan bantuan pompa fasa gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor. Cuplikan dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran. Karena perbedaan kekuatan interaksi antara solute-solut terhadap fasa diam. Solut-solut yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Sebaliknya, solut-solut yang kuat berinteraksi dengan fasa diam maka solute-solut tersebut akan keluar. Kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram kromatografi gas. Seperti pada kromatografi gas, jumlah peak menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran. Komputer dapat digunakan untuk mengontrol kerja sistem HPLC dan mengumpulkan serta mengolah data hasil pengukuran HPLC.

2. Pada gambar 1, puncak kurva pada semua sampel berada pada menit ke 1,6, hal ini menyatakan bahwa pada semua sampel mengandung vitamin C.
3. Dalam praktikum ini tidak dapat ditampilkan (pada gambar 2) hasil pengukuran untuk kadar (konsentrasi) dari sampel Vitacimin maupun Xon-Ce, kemungkinan hal ini disebabkan oleh kesalahan praktikan / praktikan kurang teliti pada saat melakukan pengenceran (pembuatan alikuot).
4. Perlu diketahui bahwa perubahan konsentrasi akibat kesalahan pengenceran tersebut sangat mempengaruhi dalam pembentukan persamaan linier yang nantinya diperlukan untuk mengukur konsentrasi atau kadar dari vitamin C yang kita periksa.

**Saran :**

1. Praktikan harus teliti dalam melakukan pengenceran, karena penambahan setets air saja akan mempengaruhi hasil.
2. Ada baiknya praktikan diberi kesempatan untuk mengoperasikan HPLC, sehingga praktikan dapat mengerti dan menguasai prinsip kerja HPLC.
3. Adanya keterbatasan alat seperti: labu ukur, mempengaruhi ketelitian praktikan dalam pembuatan likuot. Bahan dan alat praktikum sebaiknya disediakan sesuai dengan kebutuhan praktikan sehingga proses pembuatan sampel (likuot) lebih efektif dan tepat.