

LAPORAN PRAKTIKUM
Praktikum HPLC, Analisa Tablet Vitamin C

Nama : Ayu Elvana dan Herviani Sari

Tanggal : 19 Desember 2012

Jam : 12.00-15.00 WIB

Tujuan :

1. Praktikan dapat menentukan kadar vitamin C menggunakan metode HPLC.
2. Praktikan dapat membandingkan kadar vitamin C dari berbagai merk vitamin C.
3. Praktikan memahami dan mengerti teknik penggunaan HPLC.

Pendahuluan :

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas).

Bila fase diam berupa zat padat yang aktif, maka dikenal istilah kromatografi penyerapan (adsorption chromatography). Bila fase diam berupa zat cair, maka teknik ini disebut kromatografi pembagian (*partition chromatography*). Teknik kromatografi yang umum digunakan dibidang farmasi yaitu kromatografi kolom, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, dan high performance liquid chromatography (kromatografi cair kinerja tinggi / KCKT).

HPLC adalah singkatan dari High Performance Liquid Chromatography, yaitu alat yang berfungsi mendorong analit melalui sebuah kolom dari fase diam (yaitu sebuah tube dengan partikel bulat kecil dengan permukaan kimia tertentu) dengan memompa cairan (fase bergerak) pada tekanan tinggi melalui kolom. HPLC secara mendasar merupakan perkembangan tingkat tinggi dari kromatografi kolom. Selain dari pelarut yang menetes melalui kolom dibawah gravitasi, didukung melalui tekanan tinggi sampai dengan 400 atm.

Alat dan Bahan :

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

- Bahan : Air, Metanol, H_2SO_4 , beberapa tablet Vitamin C (Vitacimin dan Xon-Ce).
- Persiapan Fase Gerak dan Alat HPLC
 - Praktikan menyiapkan 500mL larutan (55% air : methanol 45%) dan tambahkan 6 tetes 6 M H_2SO_4 .

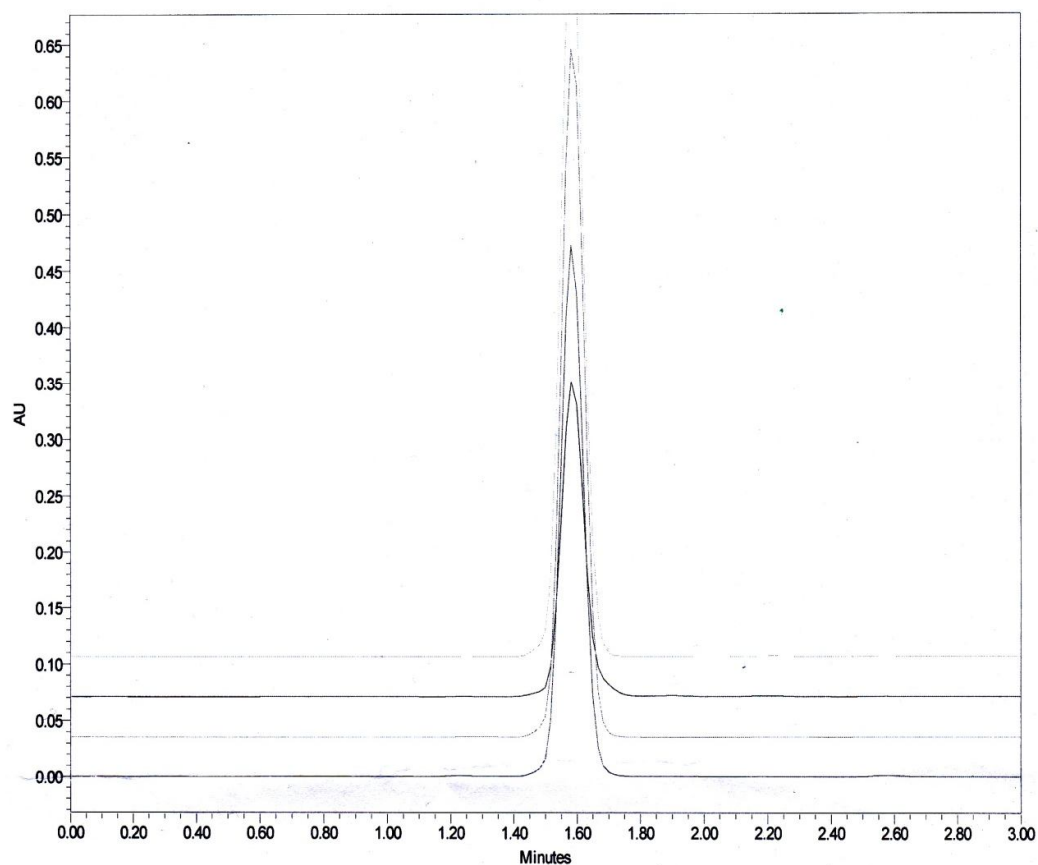
Prosedur Kerja :

- Untuk standart vitamin C, Praktikan menyiapkan 0,10 mg/mL Vitamin C standar yang diencerkan dengan 100 mL aquabidest. Kemudian masukkan kedalam labu ukur 100 mL.
- Kemudian dari 100 mL larutan standart diambil 10 mL dan dipindahkan kedalam labu ukur 10 mL.
- Untuk sampel vitamin C, praktikan menyiapkan sampel vitamin C yang telah dibawa yaitu vitacimin dan Xon-Ce.
- Kemudian gerus masing-masing vitamin C tersebut pada wadah yang berbeda.
- Kemudian timbang dengan timbangan digital sebanyak 300 mg, masing-masing dari sampel, lalu larutkan dengan 100 mL aquabidest. Masukkan kedalam labu ukur 100 mL.
- Ambil alikuot 10 mL larutan sebelumnya dan encerkan sampai 100 mL dengan aquabidest.
- Ambil lagi 10 mL larutan sebelumnya dan masukkan kedalam labu ukur 10 mL.
- Langkah-langkah diatas diulang untuk sampel vitamin C lainnya.
- Selanjutnya masukkan sampel dan standart yang telah disiapkan kedalam waterbath selama 5 menit, hal ini dilakukan agar semua sampel vitamin C dan standart larut sempurna dan menghilangkan gelembung yang terdapat didinding tabung..
- Setelah itu pindahkan sampel dan standart kedalam tabung *epENDORF* dengan cara menyuntikkan jarum spuit 5cc.
- Lalu masukkan kedalam alat HPLC, dan tunggu hasilnya keluar.

Hasil Praktikum :



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

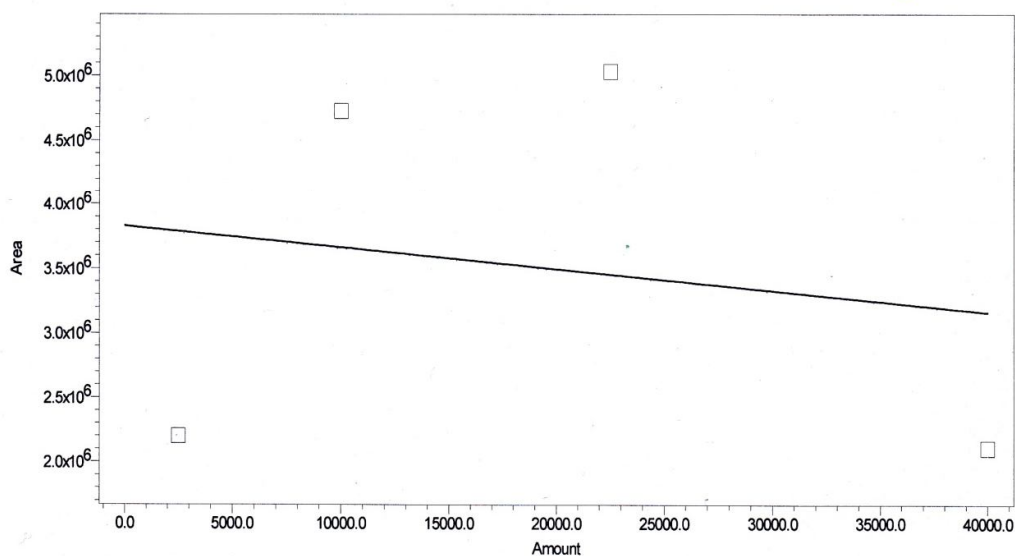
Error Log

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 biomediksiang	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; R²: 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

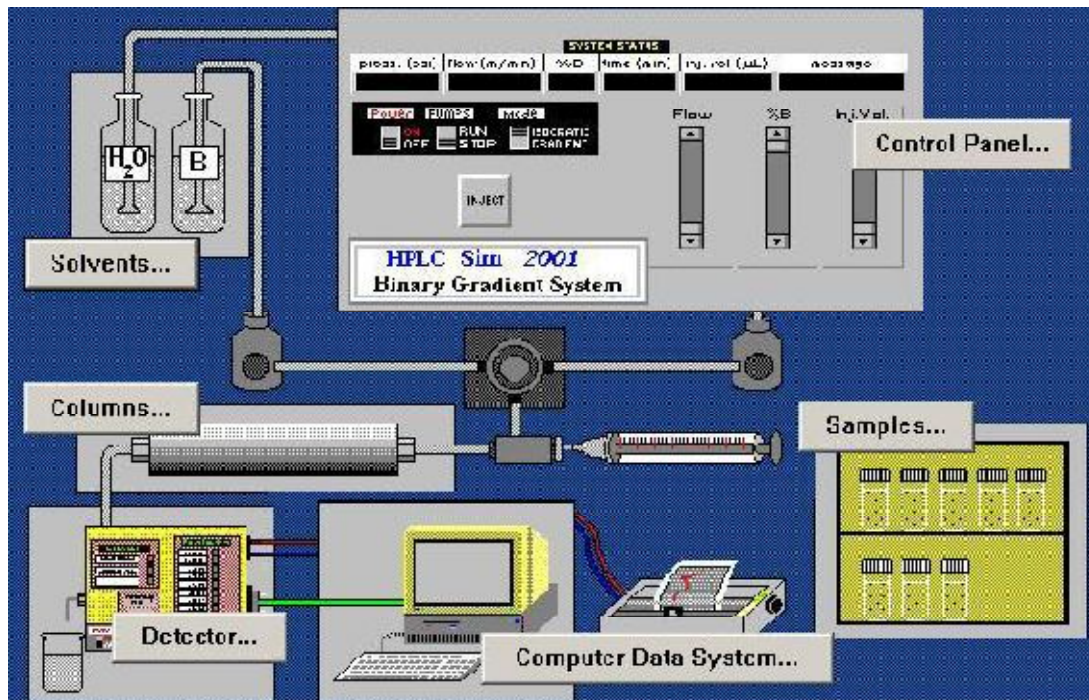
	Manual	Ignore		Manual	Ignore		Manual	Ignore		Manual	Ignore
1	No	No	2	No	No	3	No	No	4	No	No

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

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

Pembahasan :

Dari grafik dan kurva dapat dilihat bahwa percobaan gagal karna tidak didapatkan persamaan liniernya sehingga dalam praktikum ini tidak dapat dihitung/dianalisis konsentrasi dari sampel. Kegagalan ini terjadi karena kesalahan pengenceran saat melakukan praktikum (*human error*).



Gambar 1. Skema alat HPLC

Prinsip kerja HPLC :

Dengan bantuan pompa fasa gerak cair dialirkan melalui kolom ke detector. Kemudian 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 detector kemudian direkam dalam bentuk kromatogram kromatografi gas. Seperti pada kromatografi gas, jumlah peak menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran. Computer dapat digunakan untuk mengontrol kerja sistem HPLC dan mengumpulkan serta mengolah data hasil pengukuran HPLC.

Kesimpulan :

- Faktor pengenceran sangat mempengaruhi hasil dari perhitungan kadar/konsentrasi dari vitamin C.
- Ketelitian dari praktikan sangat mempengaruhi hasil praktikum.
- Seharusnya semakin tinggi peak (puncak) dari kurva yang terlihat diatas, maka makin besar konsentrasi vitamin C nya.

Saran :

- Diharapkan dalam praktikum ini praktikan lebih berhati-hati dan teliti dalam praktikum untuk mendapatkan hasil yang sesuai.
- Untuk memberikan pengetahuan lebih lanjut pada mahasiswa sebaiknya dilakukan pengukuran untuk sampel zat-zat lain.