

PRAKTIUM HPLC; ANALISA TABLET VITAMIN C

Tujuan : Menentukan kadar berbagai tablet Vitamin C menggunakan metoda HPLC

Pengantar

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. 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. Pabrikan 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.

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.

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.

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 $\lambda = 200-400$ nm.
- Gunakan panjang gelombang maksimum ini untuk detector HPLC yang digunakan.

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.

Persiapan sampel

- Sediakan beberapa tablet vitamin C berbeda, gerus halus masing-masing tablet tersebut
- Larutkan 300 mg (massa terdekat 0,1 mg) dalam air dan encerkan sampai 100,0 mL air.
(**JANGAN memanaskan solusi**).
- Ambil alikuot 10,00 mL larutan di atas dan encerkan sampai 100,0 mL dengan air
- Ulangi untuk sampel vitamin C lainnya.

Analisis Vitamin C

- Siapkan kurva kalibrasi dan tentukan konsentrasi vitamin C setiap sampel
- Hitung standar deviasi relatif dan rata-rata untuk lima hasil sampel.
- Sampel tablet harus memiliki nilai rata-rata (Assay) dalam 10% dari klaim label dan standar deviasi relatif (Keseseragaman Content) harus kurang dari 5% untuk tablet yang akan diteruskan kepada konsumen. Apakah tablet lulus?