

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 02	Tgl : 28-07-2021 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 1 dari 4
		Prosedur Pengoperasian <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	

A. Menyalakan HPLC

1. Komputer, CPU dan Monitor dinyalakan.
2. Tombol **power SIL-30AC** (*autosampler*), **SPD-M20A** (detektor), **CTO-30A** (*column oven*), **LC-30AD** (pompa) ditekan, kemudian tombol **power CBM-20A** (*controller*) ditekan paling terakhir.
3. Fasa gerak dan *methanol chromatography* untuk SIL-30AC yang akan digunakan disiapkan.
4. Tombol **Rinse** pada SIL-30AC ditekan, tunggu sampai tampilan dilayar *ready* kemudian tombol **purge** ditekan dan tunggu sampai tampilan dilayar *ready*.
5. Sebelum *software* dinyalakan, *line* fasa gerak sebaiknya di-*purge* terlebih dulu, dengan membuka *valve* pada kedua pompa dan tekan tombol **purge**, setelah selesai, tutup rapat *valve* pada kedua pompa HPLC.
6. *Software LabSolutions* di-*double* klik, kemudian akan muncul tampilan **System Administrator**, pilih **instruments** kemudian Nexera PDA di-*double* klik.
7. Akan terdengar bunyi *beep* panjang satu kali, tanda instrumen telah terhubung dengan *software LabSolution*. Indikator LC dan PDA pada layar komputer akan tertulis *Ready*.

B. Conditioning Kolom

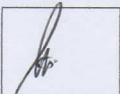
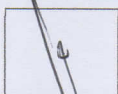
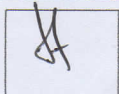
1. Metode analisa yang akan digunakan dibuka, kemudian ikon "**Download**" diklik.
2. Ikon "**Instrument On/Off**" diklik, dan dipastikan pompa menyala (dapat dilihat pada LCD pompa).
3. Dibiarkan agar fasa gerak (H₂O) mengalir selama ± 20 menit, dan dipastikan tekanan pompa stabil.
4. *Pump* dimatikan dengan klik ikon "**Pump On/Off**" dan tunggu sampai *pressure* nol.
5. Bandul *line* H₂O dipindahkan ke fase gerak (Buffer).
6. *Valve* pada pompa di buka dan tombol **Purge** di tekan. Setelah selesai tutup rapat *valve* pada pompa HPLC.
7. Menyalakan *pump* dengan klik ikon "**Pump On/Off**" dan tunggu sampai *pressure* stabil.
8. Pengecekan *Base Line* dilakukan dengan cara "**Base Line Check**" diklik, ditunggu respon, bila memenuhi syarat injeksi sampel dapat dilakukan.

C. Melakukan Injeksi Blank

1. Vial berisi *blank* metanol diletakkan pada *tray autosampler*.
2. Menu **Window** diklik, kemudian dipilih **Show Window**, dan **Realtime Batch**.
3. Tabel pada **Real Time Batch** diisi, seperti :
 - a. Method yang akan digunakan (**Metamfetamina.lcm**),
 - b. Nama *Tray*,
 - c. Nomor Vial,
 - d. Volume Injeksi,
 - e. Nama Sampel,
 - f. ID Sampel,
 - g. Data File,
 - h. **Base Line Check**, dan
 - i. **Data tuning**.
4. Baris blank yang akan diinjeksikan dipilih/diblok, kemudian ikon **Batch Start** (►) diklik.
5. Ditunggu hingga proses analisa selesai.

MASTER

Pusat Laboratorium Narkotika BNN

Dibuat oleh : Operator Laboratorium		Diperiksa oleh : Analisis Laboratorium		Disahkan oleh : Penata Laboratorium Narkotika Ahli Muda	
---	---	--	---	---	---

Dilarang menggandakan atau menyadur sebagian atau seluruh isi dokumen ini tanpa seizin Kepala Pusat Laboratorium Narkotika BNN

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 02	Tgl : 28-07-2021 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 2 dari 4
		Prosedur Pengoperasian <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	

D. Melakukan Injeksi *Solvent*

1. Vial berisi solvent pelarut sampel diletakkan pada *tray autosampler*.
2. Menu "*Window*" diklik, kemudian dipilih "*Show Window*", dan "*Realtime Batch*".
3. Tabel pada ***Real Time Batch*** diisi, seperti :
 - a. Method yang akan digunakan (***Metamfetamina.lcm***),
 - b. Nama *Tray*,
 - c. Nomor *Vial*,
 - d. Volume Injeksi,
 - e. Nama Sampel,
 - f. ID Sampel,
 - g. Data File,
 - h. *Base Line Check*, dan
 - i. *Data tuning*.
4. Baris blank yang akan diinjeksikan dipilih/diblok, kemudian ikon Batch Start (►) diklik.
5. Ditunggu hingga proses analisa selesai.

E. Melakukan Injeksi Sampel

1. Sebelum melakukan injeksi sampel, terlebih dulu dilakukan injeksi standar pembanding.
2. Vial berisi Standar/Sampel diletakkan pada *tray autosampler*.
3. Menu "*Window*" diklik, kemudian dipilih "*Show Window*", dan "*Realtime Batch*".
4. Tabel pada ***Real Time Batch*** diisi, seperti :
 - Method yang akan digunakan (***Metamfetamina.lcm***),
 - Nama *Tray*,
 - Nomor *Vial*,
 - Volume Injeksi,
 - Nama Sampel,
 - ID Sampel,
 - Data File,
 - *Base Line Check*, dan
 - *Data tuning*.
5. Tiap injekan 1 batch (10 sampel) dilakukan penginjekan *solvent* dan kontrol positif, dan tiap injekkan sampel dilakukan penginjekan kontrol negatif seperti tabel berikut :

No	Vial	Sample Name
1		<i>solvent</i>
2		Kontrol negatif
3		Kontrol Positif
4		Kontrol negatif
5		Sampel 1
6		Kontrol negatif
7		Sampel 2
8		Kontrol negatif
...		Dst.... hingga 10 sampel
		<i>solvent</i>
		Kontrol Positif
		Kontrol negatif



Prosedur Pengoperasian High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Tgl : 28-07-2021
Ed : 03
Rev : 02
Hal : 3 dari 4

6. Baris sampel yang akan diinjeksikan dipilih/diblok, kemudian ikon *Batch Start* () diklik.
7. Ditunggu hingga proses analisa selesai.
8. *Data Batch Table* disimpan dengan meng-klik menu "*File*", kemudian dipilih "*Save Batch As*".

Metode Metamfetamina.lcm

Kolom : VisionHT (C-18) HL column, I.D 2.0 mm, length 100 mm, particle size 1.5 μ m
 Fasa Gerak : Buffer KH_2PO_4 50 mM : Acetonitrile (Chrom grade) = 90 : 10 (Isocratic Elution)
 Detektor : DAD (210nm)
 Temperatur kolom : 40°C
 Flowrate : 0.5 ml/menit
 Waktu analisa : 5 menit
 Volume injeksi : 0.5 μ l

1. Program **PostRun** pada **LabSolution Main (System Administrator)** dibuka.
2. Menu Window diklik, kemudian dipilih Show Window, dan PDA Data Analysis.
3. Folder tempat penyimpanan data sampel yang telah diinjek dibuka, kemudian sampel yang akan dianalisis dibuka untuk menampilkan kromatogram.
4. Analisis dilakukan dengan membandingkan Retention time peak kromatogram pada solvent (blanko), standar dan sampel.
5. Menu Window diklik, kemudian dipilih Show Window, dan Data Comparison. Bandingkan Retention *time* Solvent (blanko), standar dan sampel.

1. Pompa dimatikan terlebih dulu dengan meng-klik "*Pump On/Off*", kemudian dibiarkan hingga tekanan pompa turun mencapai 0-1 Mpa.
2. Bandul *Line* pada botol fasa gerak yang berisikan buffer dipindahkan ke botol berisikan akuades dan *line A* (Akuades) di *purge* kemudian kalau sudah selesai *valve* ditutup rapat.
3. Komposisi *pump* pada metode di ganti menjadi : Pump A (Akuades) 90 % (metode di-*download*), kemudian dialirkan pada sistem selama 20-30 menit. Selanjutnya komposisi diubah menjadi *Pump B* (Organik) 100% (metode di-*download*), kemudian dialirkan selama 20-30 menit (untuk menyimpan kolom).
4. Setelah selesai *flushing* pompa dan *column oven* dimatikan dengan cara klik *Instrument turn on/off*.

1. Setelah pompa dimatikan dan tekanan menurun hingga 0 MPa, semua tampilan software ditutup, kemudian akan terdengar bunyi beep 2 kali.
2. Berturut-turut dimatikan:
 - a. *Controller* **CBM-20A**,
 - b. Detektor **SPD-M20A**,
 - c. *Column oven* **CTO-30A**,
 - d. Pompa **LC-30AD**, dan

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 02	Tgl : 28-07-2021 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 4 dari 4
		Prosedur Pengoperasian <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	

- e. *Autosampler* **SIL-30AC**.
3. Komputer dimatikan.