

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

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

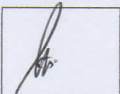
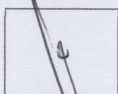
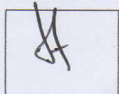
1. Metode analisa yang akan digunakan dibuka, kemudian ikon "**Download**" diklik.
2. Ikon "**Instrument On/Off**" diklik, dan dipastikan pompa menyala (dapat dilihat pada LCD pompa).
3. Dibiarkan agar fasa gerak (H₂O) mengalir selama ± 20 menit, dan dipastikan tekanan pompa stabil.
4. *Pump* dimatikan 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

	PUSAT LABORATORIUM NARKOTIKA BADAN NARKOTIKA NASIONAL	INSTRUKSI KERJA LU-IKA 02	Tgl : 28-07-2021 Ed : 03 Rev : 02 Hal : 3 dari 4
		Prosedur Pengoperasian <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	

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

Metode HPLC

Metode Metamfetamina.lcm

Parameter :

Kolom : VisionHT (C-18) HL column, I.D 2.0 mm, length 100 mm, particle size 1.5 µm
Fasa Gerak : Buffer KH₂PO₄ 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 µl

F. Pembacaan Hasil Analisis

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

G. Flushing Line Instrumen dan Kolom

- Pompa dimatikan terlebih dulu dengan meng-klik "Pump On/Off", kemudian dibiarkan hingga tekanan pompa turun mencapai 0-1 Mpa.
- 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.
- 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 menyipkan kolom).
- Setelah selesai *flushing* pompa dan *column oven* dimatikan dengan cara klik *Instrument turn on/off*.

H. Mematikan HPLC

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