

# **PENGARUH JUS BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) TERHADAP PROFIL FARMAKOKINETIK PARASETAMOL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR**

Emy OKTAVIANI, Mohamad ANDRIE, Bambang WIJANTO  
Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak  
[mohamadandrie@yahoo.com](mailto:mohamadandrie@yahoo.com)

## **ABSTRACT**

Drug interaction happens when drugs is given together with foods. This research was aimed to observe the effect of mangosteen juice to the paracetamol pharmacokinetic profile in Wistar male white rats. The study used Wistar rats weight of 200-350g. The animals were divided into three groups with the total of the male rats are 15. Group I (paracetamol) was given a single oral paracetamol 9 mg/200gBW. Group II (treatment 1) was given a single oral paracetamol 9 mg/200gBW together with mangosteen juice 2,88 g/200gBW. Group III(treatment 2) was given a single oral paracetamol 9 mg/200gBW together with mangosteen juice 0,66 g/200gBW. The serial blood was collected from tail vein for 9 hours and was analyzed using spectrophotometer UV for unchanged paracetamol. The pharmacokinetic parameters of paracetamol were calculated by residual method and were analyzed by *One Way* ANOVA using 95% confidence interval. The difference between groups were analyzed using *Post Hoc* LSD-test. The results showed that the group II(paracetamol-mangosteen 1) and group III(paracetamol-mangosteen 2) increased of  $k_a$ ,  $C_{p_{maks}}$ ,  $t_{maks}$ ,  $t_{1/2ab}$ ,  $k_e$ ,  $t_{1/2el}$ , CL, AUC and decreased of  $k_a$ ,  $k_e$ , and CL. The research showed that mangosteen juice doses 2 give higher decreased metabolism and decreased elimination of paracetamol in rat.

**Key words : Mangosteen fruit, Pharmacokinetics, Paracetamol, Drug interaction**

## **PENDAHULUAN**

Keberhasilan suatu pengobatan harus didukung dengan pengobatan yang rasional. Pengobatan yang tidak rasional dapat menyebabkan efek teurapetik suatu obat tidak tercapai. Penggunaan yang rasional harus didukung pula dengan tingkat pengetahuan dari pasien khususnya mengenai obat dan pemakaiannya. Farmakokinetik merupakan cabang ilmu farmakologi yang dapat menerangkan nasib obat di dalam tubuh, berupa perubahan kadar obat di dalam darah, jaringan atau

ekskreta sebagai fungsi waktu, yang kemudian dapat digunakan untuk meramalkan efek farmakologi, terapi atau efek toksik suatu obat (senyawa kimia)<sup>(1)</sup>.

Interaksi obat atau lebih dikenal dengan istilah *drug interaction*, merupakan interaksi yang terjadi antara obat yang dikonsumsi secara bersamaan dengan obat, makanan bahkan minuman. Dampak dari interaksi obat ini dapat merugikan yaitu penurunan efektivitas obat atau bahkan menguntungkan yaitu peningkatan efektivitas obat. Manggis

merupakan salah satu buah yang digemari oleh masyarakat Indonesia. Tanaman manggis berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan Indonesia dan atau Malaysia. Salah satu kandungan kimia kulit manggis adalah xanton<sup>(2)</sup>.

Senyawa turunan xanton yang terdapat pada buah manggis adalah alfa, beta dan gamma mangostin. Menurut hasil penelitian Suksamrarn dkk (2006) menunjukkan bahwa hasil isolasi senyawa xanton dari daging buah manggis utuh terdapat senyawa xanton berupa alfa, beta dan gamma mangostin. Menurut hasil penelitian Foti dkk (2009) menyatakan bahwa alfa mangostin ini memiliki efek sebagai penghambat enzim sitokrom P450 yang dapat mempengaruhi nilai AUC dan  $C_{p_{maks}}$  dari parasetamol. Efek penghambatan ini menyebabkan nilai AUC dan  $C_{p_{maks}}$  parasetamol meningkat 2-3 kali lipat.

Parasetamol merupakan obat yang sering menyebabkan interaksi ketika digunakan bersamaan dengan suatu makanan atau minuman. Penggunaan parasetamol dengan suatu minuman dapat dilihat pengaruhnya dari profil farmakokinetik parasetamol yang dihasilkan ketika parasetamol diberikan bersamaan dengan suatu minuman. Untuk mengetahui

profil dari suatu obat akibat dari pengaruh suatu minuman, perlu diketahui terlebih dahulu kadar obat utuh dalam darah baik dalam bentuk tunggal maupun bersamaan dengan minuman.

## **METODOLOGI**

### **Alat**

Batang pengaduk dan sendok tanduk, *beaker glass* 50 mL dan 100 mL, corong kaca, erlenmeyer 100 mL, holder tikus, jarum suntik sekali pakai ukuran 3 cc (*Terumo*®), kaca arloji, labu takar 100 mL, kandang hewan uji, lemari pembeku (*freezer*), *micropipet* 100 dan 1000 mL (*Hamilton*), neraca analitik (listrik), neraca hewan, oven (*Memmert*), pencampur (*vortex mixer*), pemusing (*sentrifuge*), pipet tetes, pipet ukur berbagai ukuran, pisau cukur (*gilette*), plester, skapel atau pisau bedah, *rolling mixer*, *Spektrofotometer UV-Visible* 2450 (*Simadzu*), spuit oral 10 ml, tabung darah beserta anti koagulan EDTA 3 mL, tabung reaksi 3 mL dan 10 mL dan rak tabung reaksi.

### **Bahan**

Aluminium foil, aquadest, etil asetat p.a (*Merck*®), kertas saring, metanol p.a (*Merck*®), parasetamol baku (*Brataco*®), parasetamol generik, jus buah manggis (*Garcinia mangostana* L.).

## Hewan uji

Hewan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar

dengan berat badan berkisar antara 200-350 g.

**Tabel 1. Kelompok Perlakuan**

No.	Kelompok hewan uji	Perlakuan
1.	Kontrol Positif	Parasetamol
2.	Perlakuan I	Dosis I + Parasetamol
3.	Perlakuan II	Dosis II + Parasetamol

## Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Desa Pal 9 Kelurahan Pal 9 Kabupaten Kubu Raya Provinsi Kalimantan Barat. Buah manggis yang diambil yaitu buah manggis yang memiliki usia panen 110 hari sejak bunga mekar, waktu panen pada musim hujan dengan curah hujan 1500-2500 mm/tahun, tanaman manggis yang berusia 10 tahun, kulit buah manggis yang berwarna ungu kemerahan dan kulit buah manggis bertekstur lembut.

## Perhitungan Dosis Jus Buah Manggis

Penelitian ini menggunakan dua peringkat dosis, yaitu dosis 1 yang terdiri dari 5 buah manggis dan dosis 2 yang terdiri dari 10 buah manggis. Dosis dari jus buah manggis yang dihasilkan dikonversikan dari manusia ke tikus.

## Pengujian Jus Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Profil Farmakokinetik Parasetamol

Tikus putih jantan wistar dengan berat badan 200-350 g. dipuasakan selama 12 jam sebelum diberi perlakuan.

## Pengambilan Sampel Darah

Penelitian diawali dengan memuasakan hewan uji pada malam hari selama 10-12 jam. Sampel darah diambil selama 9 jam dari pukul 08.00 hingga pukul 17.00. sampel darah diambil pada hari yang berbeda-beda pada masing-masing kelompok. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui vena ekor tikus dengan menggunakan Kateter Intravena. Pengambilan sampel dilakukan pada menit ke-0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 420, dan 540.

## Penetapan Kadar Parasetamol dengan Metode Spektrofotometri UV

Darah yang sudah diambil, ditempatkan dalam tabung darah 3 mL dan diputar dalam alat pencampur "Roller Mixer" selama 10 menit. Kemudian diambil darah sebanyak 0,25 mL dan dimasukkan ke

dalam tabung reaksi. Tambahkan TCA 0,25 mL, divortex selama 5 menit dan disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit. Lapisan bening dipindahkan ke dalam tabung lain dan di tambahkan etil asetat 2 mL. Setelah itu campuran di vortex selama 5 menit kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit. Pisahkan lapisan etil asetat (lapisan atas) ke tabung lain. Lapisan tersebut diuapkan dalam oven (*Memmert*) pada suhu 45<sup>0</sup>C. Selanjutnya sampel diuji dengan spektrofotometer UV.

### **Perhitungan Parameter Farmakokinetik Parasetamol dalam Darah**

Parameter farmakokinetika yang dihitung yaitu tetapan laju absorpsi ( $k_a$ ), plasma puncak ( $C_{p_{maks}}$ ), konsentrasi plasma puncak ( $t_{maks}$ ), waktu paro absorpsi ( $t_{1/2ab}$ ), tetapan laju eliminasi ( $k_e$ ), waktu paro eliminasi ( $t_{1/2el}$ ), klirens (CL), dan *Area Under Curve* (AUC). Parameter farmakokinetika dihitung dengan menggunakan metode residual kemudian hasilnya dianalisa dengan *One Way ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ) dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD*.

### **Penentuan Akurasi dan Presisi**

Diambil darah hewan uji sebanyak 0,25 mL dan diputar dalam alat pencampur

“*Roller Mixer*” selama 10 menit. Kemudian dicampur dengan larutan seri kadar 10 µg/ml sebanyak 1 mL dan tambahkan TCA 0,25 mL. Selanjutnya divortex selama 5 menit kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit. Lapisan bening dipindahkan ke dalam tabung lain dan di tambahkan etil asetat 2 mL. Setelah itu campuran di vortex selama 5 menit kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit dan pisahkan lapisan etil asetat (lapisan atas) ke tabung lain. Lapisan tersebut diuapkan dalam oven pada suhu 65<sup>0</sup>C. Berdasarkan persamaan garis dari kurva baku yang telah dibuat, ditentukan kadar masing-masing. Dihitung akurasi dan presisinya.

### **Penentuan LOD dan LOQ**

Penentuan LOD dan LOQ dilakukan dengan mengukur blanko. Pada analisis instrumen batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon baku pembanding beberapa kali (3 kali replikasi ) lalu dihitung simpangan baku respon bangku pembanding.

### **Pembuatan Kurva Baku**

Kurva baku dibuat dari parasetamol baku (Brataco®) dengan seri kadar 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, dan 10 µg/mL.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Pengambilan dan Pengolahan Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Desa Pal 9 Kelurahan Pal 9 Kabupaten Kubu Raya Provinsi Kalimantan Barat. Sampel yang telah diambil kemudian akan diolah menjadi bentuk jus buah manggis.

### **Pembuatan Jus Manggis**

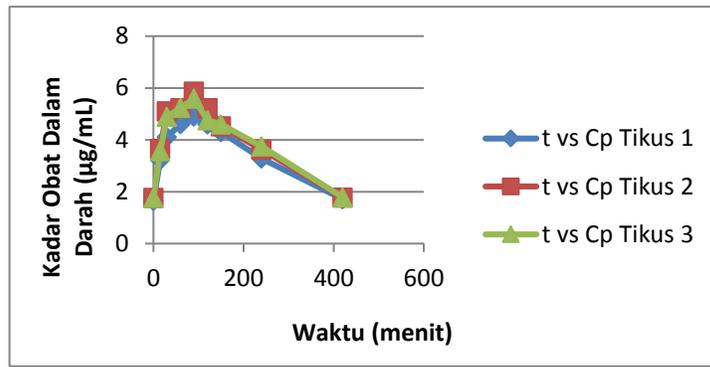
Pembuatan jus dilakukan dengan menggunakan blender dengan kecepatan 15.000-20.000 rpm. Pembuatan jus buah manggis ini tidak menggunakan tambahan air karena daging buah manggis tersebut telah banyak mengandung air. Sebelum daging buah tersebut dijus, terlebih dahulu ditimbang berapa berat awal dari buah manggis tanpa kulit. Berat daging buah dari 5 buah manggis adalah 55,08 g. Sedangkan berat jus yang dihasilkan yaitu 36,72 g. Berat daging buah dari 10 buah manggis adalah 181,94 g. Sedangkan berat jus yang dihasilkan yaitu 160,43 g.

### **Pembuatan Profil Farmakokinetika**

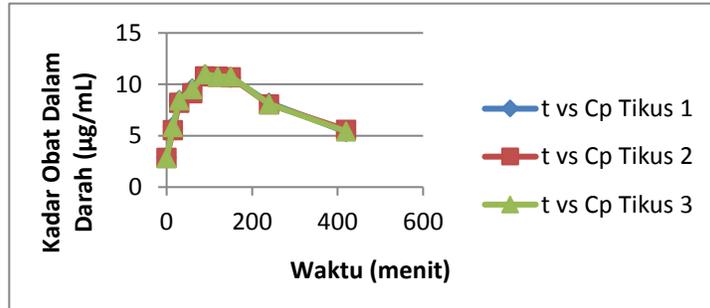
Kadar obat dalam darah pada kelompok parasetamol menunjukkan peningkatan dari menit ke-0 hingga menit

ke-60 dan mencapai kadar puncak pada menit ke-90. Setelah mencapai kadar puncak, kadar obat dalam darah mengalami penurunan dari menit ke-120 hingga menit ke-420. Kadar obat dalam darah pada kelompok parasetamol menggambarkan profil farmakokinetik yang linear. Terbukti dengan adanya peningkatan dan penurunan pada menit-menit tertentu.

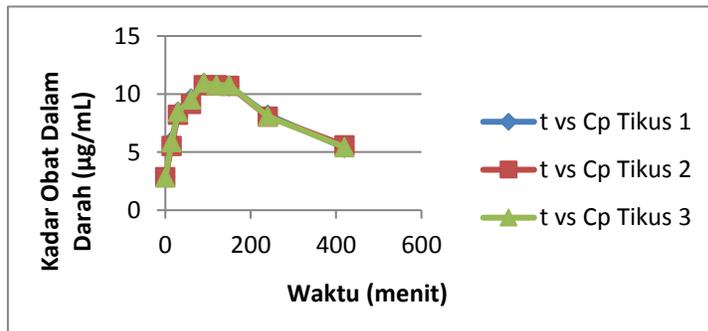
Sedangkan untuk profil farmakokinetik kelompok perlakuan 1 (parasetamol-manggis1) memperlihatkan adanya peningkatan dibandingkan dengan kelompok parasetamol. Namun, waktu puncak yang dihasilkan sama dengan kelompok parasetamol yaitu 90 menit dengan kadar puncak ketiga hewan uji lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok parasetamol. Hal yang sama terjadi pula pada kelompok perlakuan 2 (parasetamol-manggis). Kadar obat dalam darah pada kelompok perlakuan 2 (parasetamol-manggis 2) menunjukkan adanya perbedaan dibandingkan dengan kelompok parasetamol dan kelompok perlakuan 1 yang terjadi pada ketiga hewan uji.



Gambar 1. Kurva Perbandingan Kadar Obat dalam Darah Kelompok Parasetamol Antar Hewan Uji.



Gambar 2. Kurva Perbandingan Kadar Obat Dalam Darah Perlakuan 1 (Parasetamol-Manggis 1) Antar Hewan Uji



Gambar 3. Kurva Perbandingan Kadar Parasetamol Dalam Darah Perlakuan 2 (Parasetamol-Manggis 2) Antar Hewan Uji.

**Perhitungan Parameter Farmakokinetik Parasetamol dalam Darah.**

Parameter farmakokinetik ini dihitung dengan menggunakan metode residual.

Parameter Farmakokinetik dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Parameter Farmakokinetik**

Kelompok	Hewan Uji	ka (/menit)	t <sub>maks</sub> (menit)	Cp maks (µg/mL)	t <sub>1/2ab</sub> (menit)
PCT	1	0,02733	86,58115	4,90034	25,35061
	2	0,0365	63,86237	5,74568	18,98498
	3	0,03134	74,49122	5,69051	22,10961
PCT+JUS 1	1	0,02579	97,10704	10,98796	26,86713
	2	0,02556	99,16729	10,72492	27,10918
	3	0,02609	96,09696	10,96409	26,55886
PCT+JUS 2	1	0,02763	100,8706	14,23264	25,07599
	2	0,02286	122,99733	13,84025	30,30331
	3	0,02326	120,85318	13,84142	29,79325

Kelompok	Hewan Uji	ke (/menit)	t <sub>1/2el</sub> (menit)	CL (L/menit)	AUC (µgmenit/L)
PCT	1	0,00342	202,33857	7,62377	255,39387
	2	0,00353	196,2729	7,85938	255,8267
	3	0,0036	192,4161	8,01691	245,7525
PCT+JUS 1	1	0,02516	275,3586	5,60208	358,5735
	2	0,00235	294,8382	5,23196	386,3333
	3	0,00249	277,594	5,55697	362,244
PCT+JUS 2	1	0,00129	534,0998	2,88819	734,5222
	2	0,00126	549,5103	2,80719	749,2165
	3	0,00126	548,7087	2,81129	748,7957

**Hasil Analisis SPSS dengan Uji *One Way ANOVA***

Dari hasil uji ANOVA terlihat bahwa keenam parameter farmakokinetik (ke, t<sub>1/2el</sub>, t<sub>1/2ab</sub>, Cp<sub>maks</sub>, t<sub>maks</sub>, dan AUC) memiliki nilai signifikan lebih kecil dari 0,05 (p<0,05) terkecuali parameter kecepatan absorpsi (ka). Parameter yang memiliki nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05 (p<0,05) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan nilai parameter antar kelompok perlakuan. Sedangkan untuk 0,05 (p>0,05) menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang

signifikan nilai parameter antar kelompok perlakuan.

**Hasil Analisis SPSS Menggunakan Uji *Post Hoc***

Berdasarkan uji *Post Hoc* LSD menunjukkan penurunan kecepatan eliminasi (ke) secara signifikan untuk perlakuan 1 (parasetamol-manggis dosis 1 dan perlakuan 2 (parasetamol-manggis dosis 2). Perlakuan 2 (parasetamol-manggis dosis 2) memberikan penurunan lebih kuat dibandingkan dengan perlakuan 1 (parasetamol-manggis dosis 1). Penurunan

kecepatan eliminasi menyebabkan peningkatan waktu paro eliminasi ( $t_{1/2el}$ ). Hal ini terjadi diduga adanya interaksi pada proses distribusi dan eliminasi. afinitas yang tinggi dari senyawa xanton terhadap glukuronat dan sulfat. Sehingga, dibutuhkan zat glukuronat dan sulfat dalam jumlah yang banyak yang sesuai dengan jumlah parasetamol bebas agar proses ekskresi parasetamol tetap optimal. Akibat adanya senyawa xanton yang diduga memiliki afinitas yang tinggi terhadap glukuronat dan sulfat, menyebabkan xanton yang terdapat di dalam jus buah manggis lebih mudah diekskresikan dan dalam waktu yang singkat. Xanton dan parasetamol yang diberikan bersama berkompetisi untuk berikatan dengan glukuronat dan sulfat untuk kemudian di ekskresikan. Afinitas yang rendah dari parasetamol terhadap glukuronat dan sulfat menyebabkan parasetamol lebih lama berada di dalam tubuh sehingga menyebabkan kecepatan eliminasi dari parasetamol menurun dan waktu tinggal obat di dalam tubuh lebih lama sehingga meningkatkan waktu paro eliminasi.

Berdasarkan uji *Post Hoc* LSD menunjukkan penurunan kecepatan absorpsi ( $k_a$ ) secara tidak signifikan untuk perlakuan 1 (parasetamol-manggis dosis 1) dan

perlakuan 2 (parasetamol-manggis dosis 2). Penurunan kecepatan absorpsi menyebabkan peningkatan waktu paro absorpsi. namun, peningkatan kecepatan absorpsi menunjukkan hasil yang signifikan untuk kelompok perlakuan 2. Penurunan kecepatan absorpsi ( $k_a$ ) diduga disebabkan adanya interaksi pada proses absorpsi. Adanya pemberian jus buah manggis bersamaan dengan parasetamol diduga menyebabkan kecepatan pengosongan lambung menjadi lebih lama. Sehingga parasetamol lebih lama diabsorpsi. Hal ini mengakibatkan obat lebih lama terdistribusi sehingga waktu tinggal obat untuk diabsorpsi menjadi meningkat yang ditunjukkan oleh meningkatnya waktu paro absorpsi ( $t_{1/2ab}$ ).

Berdasarkan uji *Post Hoc* LSD menunjukkan peningkatan kadar puncak ( $C_{p_{maks}}$ ) secara signifikan untuk perlakuan 1 (parasetamol-manggis dosis 1) dan perlakuan 2 (parasetamol-manggis dosis 2). Perlakuan 2 (parasetamol-manggis dosis 2) memberikan peningkatan lebih kuat dibandingkan dengan perlakuan 1 (parasetamol-manggis dosis 1). Peningkatan dari  $C_{p_{maks}}$  juga mengakibatkan nilai AUC meningkat. Peningkatan ini dapat disebabkan oleh adanya interaksi pada proses metabolisme. Hal ini disebabkan

adanya inhibisi enzim sitokrom P-450. Parasetamol dimetabolisme oleh sitokrom P-450 khususnya oleh isoform CYP2E1<sup>(4)</sup>, isoform CYP1A2 dan CYP3A4<sup>(5)</sup>. Akibat dari inhibisi enzim tersebut menyebabkan obat yang termetabolisme menjadi lebih sedikit atau bahkan tidak ada sama sekali. Namun, mekanisme dari inhibisi enzim ini belum dapat diketahui secara pasti. Mekanisme yang terjadi diduga melalui inhibisi reversibel secara non kompetitif. Hal ini terbukti dengan adanya xanton di dalam jus buah manggis menyebabkan adanya inhibisi enzim sitokrom P-450 yang menyebabkan kadar obat bebas di dalam darah meningkat sehingga meningkatkan nilai  $C_{p_{maks}}$  dan AUC. Berdasarkan uji *Post Hoc* LSD menunjukkan penurunan klirens (CL) secara signifikan untuk perlakuan 1 (parasetamol-manggis dosis

Begitu pula dengan perlakuan 2 (parasetamol-manggis dosis 2). Interaksi terjadi pada proses metabolisme karena adanya inhibisi enzim. Adanya inhibisi enzim menyebabkan kadar obat dalam darah meningkat dan ketersediaan hayati dari obat juga meningkat sehingga menyebabkan penurunan dari klirens obat. Semakin banyak obat yang berada di dalam darah

yang tidak termetabolisme, semakin sedikit jumlah bersihan obat dari volume darah.

### **Akurasi**

Akurasi dari suatu metode analisis merupakan kedekatan nilai hasil uji yang diperoleh dengan prosedur tersebut dengan harga yang sebenarnya. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai akurasi sebesar 93%. Hasil ini dianggap baik karena berdasarkan literatur, nilai akurasi berada dalam rentang 80-110%<sup>(6)</sup>. Sedangkan berdasarkan literatur lain, disebutkan bahwa batas nilai akurasi untuk konsentrasi 1 ppm adalah 75-120%<sup>(7)</sup>. Sehingga metode yang digunakan dalam penelitian ini dapat dikatakan akurat.

### **Presisi**

Presisi dari suatu metode analisis merupakan derajat kesesuaian antara masing-masing hasil uji jika prosedur analisis diterapkan berulang kali pada sejumlah cuplikan yang diambil dari satu sampel homogen. Presisi inter-hari memiliki nilai SD 0,03 dan RSD 0,52%. Sedangkan presisi antar-hari memiliki nilai SD 0,19 dan RSD 2,52%. Hasil ini sesuai dengan literatur yaitu bahwa nilai RSD secara umum lebih dari 2,00%, dan untuk pengukuran dengan satuan ppm, nilai RSD memiliki batas tertinggi 16,00% sehingga

dapat dikatakan bahwa penelitian ini memiliki nilai presisi yang baik<sup>(8)</sup>.

### **Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)**

Kedua parameter memiliki nilai yang berbeda sehingga nilai LOD dan LOQ tergantung pada metode dan instrumen yang digunakan. Nilai LOD yang dihasilkan adalah 0,01. Nilai ini menunjukkan bahwa instrumen yang digunakan tidak dapat membedakan sinyal antara blanko dan baku di bawah nilai tersebut. Sedangkan untuk LOQ yaitu 0,05. Nilai ini menunjukkan bahwa semua sampel yang dianalisis berada di atas batas deteksi dan batas kuantitasi.

### **KESIMPULAN**

1. Jus buah manggis dapat mempengaruhi profil farmakokinetik parasetamol dengan menurunkan proses metabolisme dan menurunkan proses eliminasi dari parasetamol.
2. Dosis jus buah manggis yang memberikan pengaruh paling kuat terhadap profil farmakokinetik parasetamol adalah dosis 2 dari jus buah manggis.

### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Shargel. L. dan Yu. A.B.C. 2005. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika*

*Terapan*. Edisi Kedua. Surabaya : Airlangga University Press.

2. Odianti, G.T. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Alfa Mangostin Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten Antibiotik. *Skripsi*. Surakarta : Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
3. Doudar, S.M, and Ahmed, A.E. 1982. Studies on Simultaneous Determination of Acetaminophen, Salicylic Acid and Salicylic Acid in Biological Fluids by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chem. Clin. Biochem.* Vol 20. Hlm 791-798.
4. Gunaratna, C. 2000. *Drug Metabolism & Pharmacokinetics in Drug Discovery : A Primer for Bioanalytical Chemists, Part 1*. West Lafayette : Bioanalytical Systems Inc.
5. Hakim, L. 2012. *Farmakokinetik Klinik*. Yogyakarta : Bursa Ilmu
5. World Health Organization. 1992. *Validation of Analytical Procedures Used in Examination of Pharmaceutical Materials*. WHO Technical Report Series No.823.
6. Hall, B. 2008. *Single Laboratory Validation*. AOAC International. USA : Maryland.

7. Harmita. 2004. *Majalah Ilmu Kefarmasian: Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Volume I. Nomor 3 : 117-134.