

## VALIDASI METODE ANALISIS A-MANGOSTIN DALAM PLASMA DARAH MANUSIA SECARA *IN VITRO* DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-DENSITOMETRI

Fitra Fauziah<sup>2)</sup>, Widya Kardela<sup>2)</sup>, Roslinda Rasyid<sup>1)</sup>, Multi Silvi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Fakultas Farmasi Universitas andalas ( UNAND) Padang.

<sup>2)</sup> Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang.

### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk memvalidasi metode analisis penetapan kadar  $\alpha$ -mangostin dalam plasma darah manusia secara *in vitro* dengan metode KLT-densitometri.  $\alpha$ -Mangostin diekstraksi dari plasma yang sebelumnya ditambahkan dengan larutan  $\alpha$ -mangostin dengan metode pengendapan protein menggunakan metanol sehingga diperoleh supernatannya. Pemisahan dilakukan dengan KLT dengan fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform : etil asetat (9 : 1), kemudian dilakukan *scanner* dengan densitometri. Validasi metode analisis menunjukkan bahwa metode ini memenuhi persyaratan parameter validasi. Akurasi diperoleh rata-rata persen perolehan kembali yaitu 96,0591%, presisi *intraday* dari konsentrasi 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm diperoleh rata-rata persen RSD yaitu 1,6440%, 2,1993% dan 1,6389%, presisi *interday* yaitu 2,8533%, 1,4208%, 3,0985%, linearitas yaitu 0,9922, batas deteksi yaitu 37,8323 ppm dan batas kuantitasi yaitu 110,8014 ppm. Hasil penetapan kadar  $\alpha$ -mangostin dalam plasma darah manusia yang sebelumnya ditambahkan dengan larutan  $\alpha$ -mangostin secara *invitro* dari kadar sampel 120 ppm yaitu 115,2709 ± 3,7990 ppm.

**Katakunci :**  $\alpha$ -mangostin, plasma darah manusia, TLC-densitometri

### ABSTRACT

This study aimed to validate the analytical method of  $\alpha$ -mangostin assay in plasma of human blood in vitro by TLC-densitometry.  $\alpha$ -mangostin was extracted from plasma previously added to a solution of  $\alpha$ -mangostin by protein precipitation method by using methanol to obtained supernatant. Separation was done by TLC which stationary phase was silica gel 60 F<sub>254</sub> and mobile phase was chloroform : ethyl acetate (9 : 1), then scanner by densitometry. Validation of analytical method showed that this method was eligible to the requirement of validation parameters. Accuracy was obtained average of percent recovery is 96,0591%, intraday precision from concentration 50 ppm, 100 ppm and 150 ppm was obtained average of percent RSD was 1.6440%, 2.1993% and 1.6389%, precision interday was 2.8533%, 1.4208%, 3.0985%, linearity was 0.9922, limit of detection was 37.8323 ppm and limit of quantitation was 110.8014 ppm. The result of  $\alpha$ -mangostin assay in plasma of human blood previously added to a solution of  $\alpha$ -mangostin in vitro of the samples 120 ppm was 115.2709 ± 3.7990 ppm.

**Keywords :**  $\alpha$ -mangostin, plasma of human blood, TLC-densitometry

### Pendahuluan

Kebutuhan obat baru selalu meningkat secara kualitatif maupun kuantitatif. Sumber-sumber alami seperti obat tradisional secara luas telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit. Obat tradisional tersebut merupakan salah satu alternatif untuk memenuhi kebutuhan obat baru. Pencarian obat baru dapat dimulai dari isolasi dan identifikasi senyawa utama dari bahan alam. Salah satu senyawa tersebut yang berkhasiat yaitu  $\alpha$ -mangostin.  $\alpha$ -Mangostin merupakan salah

satu senyawa turunan xanton(Yunitasari, 2011).

Intensitas efek farmakologis atau efek toksik suatu senyawa obat seringkali dikaitkan dengan konsentrasi senyawa tersebut pada reseptor yang biasanya terdapat dalam sel-sel jaringan. Karena sebagian besar dari sel-sel jaringan diperfusi oleh cairan jaringan atau plasma, maka pemeriksaan kadar obat dalam plasma merupakan suatu metode yang tepat dan sesuai untuk pemantauan farmakokinetik klinik (Shargel,*et*

*al.*, 2005). Sebelum uji praklinik dan uji farmakologi klinik dilakukan, maka suatu metode analisis harus divalidasi terlebih dahulu sehingga diperoleh metode analisis obat yang terpercaya dalam matriks biologis yang sesuai. Validasi metode analisis mencakup semua prosedur yang menunjukkan bahwa metode khusus yang digunakan untuk pengukuran kuantitatif analit yang berasal dalam matriks biologis, seperti darah, plasma, serum, atau urin, dapat dipercaya dan dapat dilakukan ulang untuk penggunaan yang diinginkan.

Penelitian mengenai metode analisis  $\alpha$ -mangostin dari berbagai ekstrak tumbuhan sudah cukup banyak dilakukan, tapi belum ada yang menganalisis dalam plasma darah manusia secara *in vitro*. Salah satu cara analisis  $\alpha$ -mangostin yang banyak digunakan adalah dengan kromatografi lapis tipis (KLT)-densitometri. Metode tersebut diharapkan dapat digunakan untuk analisis  $\alpha$ -mangostin dalam plasma darah manusia secara *in vitro* karena relatif sederhana, tidak mahal, dan bila menggunakan fase gerak yang cocok akan dapat memisahkan  $\alpha$ -mangostin dari senyawa lain yang terdapat dalam plasma. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan validasi metode KLT-densitometri untuk menganalisis  $\alpha$ -mangostin dalam plasma darah manusia secara *in vitro*.

Obat yang terikat dengan protein plasma lebih dari 70% akan mempengaruhi efek terapeutik obat tersebut. Oleh karena itu obat tersebut harus dibebaskan terlebih dahulu. Pada penelitian digunakan teknik pengendapan protein untuk membebaskan obat yang terikat protein, karena teknik tersebut lebih sederhana, sensitif, dan kehilangan obat dapat diminimalisasi.

Validasi metode analisis adalah suatu proses yang menunjukkan bahwa prosedur analitik telah sesuai dengan penggunaan yang dikehendaki (Food and Drug Administration, 2001). Validasi metode menurut *United States Pharmacopeia* (USP) dilakukan untuk

menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduksibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis.

## Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah TLC Scanner 4 (Camag), UV Lamp 254 nm (Camag), bejana pengembangan (Camag), pipet kapiler 2 $\mu$ L, pipet volume, labu ukur, sentrifugator (Eba 20 Hettich), vortex (Ika), timbangan analitik (Precissa), tabung reaksi, tabung sentrifuge dan rak, pipet gondok, erlenmeyer, corong, spatel, dan gelas ukur.

Bahan yang digunakan adalah  $\alpha$ -mangostin murni, plat silika gel 60 F<sub>254</sub> (Merck), plasma darah manusia golongan AB diperoleh dari Palang Merah Indonesia (PMI) Padang, kloroform p.a (Merck), etil asetat p.a (Merck), dan metanol p.a (Merck).

### Prosedur

#### Pembuatan Larutan Induk $\alpha$ -Mangostin 1000 ppm

Ditimbang seksama 50 mg  $\alpha$ -mangostin, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, dilarutkan dengan 5 mL metanol, dan cukupkan dengan metanol sampai tanda batas.

#### Analisis Kualitatif dengan KLT

Pipet larutan induk  $\alpha$ -mangostin 1000 ppm sebanyak 4 mL ke dalam labu ukur 10 mL dan cukupkan dengan plasma sampai tanda batas sehingga didapatkan larutan  $\alpha$ -mangostin dengan konsentrasi 400 ppm. Larutan tersebut dipipet sebanyak 3 mL ditambahkan metanol sampai tanda batas dalam labu ukur 10 mL sehingga didapatkan larutan sampel  $\alpha$ -mangostin konsentrasi 120 ppm. Larutan tersebut divortex selama satu menit, lalu disentrifus pada kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit dan akan didapatkan bagian supernatan. Kemudian siapkan larutan campuran pembanding  $\alpha$ -mangostin 1000 ppm dan larutan sampel  $\alpha$ -mangostin 120 ppm (1:1). Larutan

pembanding  $\alpha$ -mangostin 1000 ppm, larutan sampel  $\alpha$ -mangostin 120 ppm dan larutan campuran pembanding dan sampel, masing-masing ditotolkan pada plat KLT ukuran 10 x 4 cm dengan volume penotolan 2  $\mu$ L dengan jarak penotolan masing-masingnya 1 cm. Masukkan plat KLT ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak kloroform : etil asetat (9:1) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2010), tutup chamber dan dibiarkan sehingga fase gerak bergerak sampai mencapai garis atas dari plat KLT. Chamber dibuka, plat KLT diambil dan dikeringanginkan. Kemudian diamati dengan lampu UV 254 nm. Tentukan nilai Rf dan Rr dari bercak.

### **Pembuatan Kurva Kalibrasi $\alpha$ Mangostin**

Buat seri larutan pembanding  $\alpha$ -mangostin dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm. Caranya dengan dipipet larutan induk  $\alpha$ -mangostin 1000 ppm masing-masingnya 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL, dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, encerkan dengan metanol dan dicukupkan sampai tanda batas. Kemudian jenuhkan chamber dengan fase gerak kloroform : etil asetat (9:1). Setelah itu totolkan masing-masing larutan diatas pada plat KLT ukuran 10 x 9 cm dengan volume penotolan 2  $\mu$ L. Lalu dielusi dalam chamber yang telah dijenuhkan. Tutup chamber dan biarkan fase gerak mencapai garis atas pada plat. Chamber dibuka, plat KLT diambil dan dikeringanginkan. Kemudian amati bercak dengan lampu UV 254 nm. Kemudian dilanjutkan dengan TLC scanner dengan panjang gelombang maksimum  $\alpha$ -mangostin yaitu 317 nm sehingga didapatkan luas area dari masing-masing konsentrasi. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplot antara luas area dengan masing-masing konsentrasi larutan pembanding  $\alpha$ -mangostin. Kemudian ditentukan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi tersebut.

### **Linearitas**

Linearitas ditentukan dengan cara mengolah data konsentrasi seri kadar (x) dan luas area (y) dari kurva kalibrasi yang diperoleh menggunakan persamaan regresi linear sehingga diperoleh nilai koefisien korelasi (r). Persamaan regresi ini dapat digunakan jika koefisien korelasinya  $0,99 \leq r \leq 1$  (Harmita, 2004).

### **Penetapan kadar dan uji akurasi $\alpha$ -mangostin dalam plasma *in vitro***

Larutan  $\alpha$ -mangostin dengan konsentrasi 1000 ppm dipipet sebanyak 4 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian dicukupkan dengan plasma sampai tanda batas sehingga didapatkan larutan  $\alpha$ -mangostin dengan konsentrasi 400 ppm. Larutan tersebut dipipet sebanyak 3 mL ditambahkan metanol sampai tanda batas dalam labu ukur 10 mL sehingga didapatkan larutan  $\alpha$ -mangostin konsentrasi 120 ppm. Larutan tersebut divortex selama satu menit, lalu disentrifus pada kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Bagian supernatannya diambil lalu, ditotolkan pada plat KLT ukuran 10 x 9 cm dengan volume penotolan 2  $\mu$ L dengan jarak penotolan masing-masingnya 1 cm. Masukkan plat ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak kloroform : etil asetat (9:1), tutup chamber dan dibiarkan sehingga fase gerak bergerak sampai mencapai garis atas dari plat KLT. Chamber dibuka, plat KLT diambil dan dikeringanginkan. Kemudian diamati dengan lampu UV 254 nm. Kemudian bercak di scaning dengan alat Camag TLC Scanner 4 dengan panjang gelombang maksimum  $\alpha$ -mangostin yaitu 317 nm dan didapat data luas area dari senyawa uji. Hitung konsentrasi senyawa dan persen perolehan kembali dengan menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi.

### **Presisi**

Larutan standar  $\alpha$ -mangostin dengan berbagai konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm sebanyak tiga totolan dari masing-masing konsentrasi ditotolkan

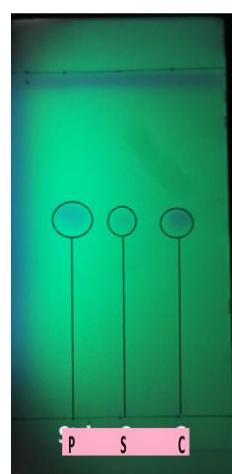
pada plat KLT pada hari yang sama dengan waktu yang berbeda yaitu pagi, siang dan sore untuk variabel *intraday*, kemudian tiga hari berturut-turut untuk variabel *interday*. Masing-masing konsentrasi ditotolkan sebanyak tiga totola pada plat KLT ukuran 10 x 10 cm dengan volume penotolan 2  $\mu$ L dan jarak penotolan masing-masingnya 1 cm. Masukkan plat ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak kloroform : etil asetat (9:1), tutup chamber dan dibiarkan fase gerak bergerak sampai mencapai garis atas plat. Chamber dibuka, plat KLT diambil dan dikeringanginkan. Kemudian diamati dengan lampu UV 254 nm. Kemudian bercak discanning dengan alat Camag TLC Scanner 4 dengan panjang gelombang maksimum 317 nm dan didapat data luas area dari senyawa uji. Hitung konsentrasi dari larutan pembanding  $\alpha$ -mangostin dengan menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi. Presisi dinyatakan sebagai Relatif Standar Deviasi (RSD) atau Koefisien Variasi (KV).

#### **Penentuan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)**

Batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK) dihitung berdasarkan persamaan regresi linear. Nilai BD = 3 x (SD/b) dan BK = 10 x (SD/b).

#### **Hasil Dan Pembahasan**

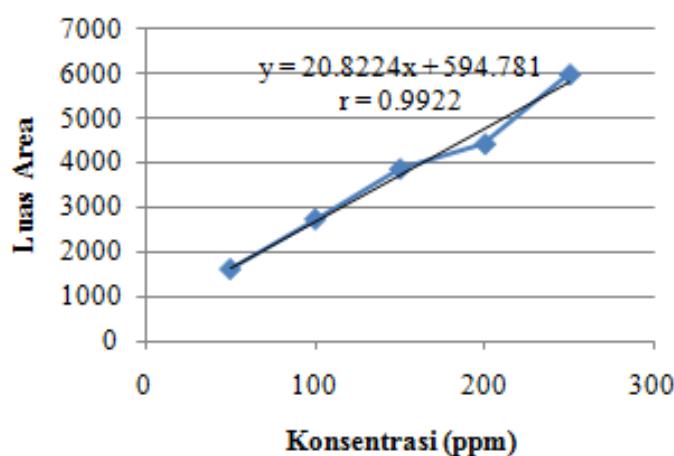
Hasil uji kualitatif  $\alpha$ -mangostin dengan metode KLT memberikan nilai Rr = 1, yang artinya jarak yang ditempuh sampel sama dengan jarak yang ditempuh oleh pembanding kimia (gambar 1). Tujuan dilakukan uji kualitatif adalah untuk melihat senyawa  $\alpha$ -mangostin dalam sampel dengan KLT. Menurut Farmakope Indonesia edisi III, identifikasi pendahuluan terhadap suatu sampel harus dilakukan dengan menggunakan zat pembanding kimia. Dalam hal ini dibuat 3 totolan pada satu plat KLT, yaitu zat pembanding (P), sampel (S) dan campuran (C) dari zat pembanding kimia dengan sampel. Hasil dari uji kualitatif tersebut memberikan nilai Rf yang sama antara ketiga totolan yaitu 0,533 dan kromatogram campuran memberikan bercak tunggal. Ini berarti  $\alpha$ -mangostin juga terdapat dalam sampel yang telah kita siapkan dengan nilai Rr yang diberikan sama dengan 1. Nilai Rr dinyatakan sebagai perbandingan jarak yang ditempuh sampel dengan jarak yang ditempuh pembanding kimia atau standar. Hasil KLT yang telah dilakukan sesuai dengan teori yang ada pada Farmakope Herbal Indonesia 2010 dimana nilai Rf dari  $\alpha$ -mangostin yaitu 0,53.



Gambar 1. Kromatogram uji kualitatif  $\alpha$ -mangostin diamati dengan lampu sinar UV 254 nm

Pembuatan kurva kalibrasi  $\alpha$ -mangostin pada penelitian bertujuan untuk membuktikan adanya hubungan yang linear antara konsentrasi analit dengan respon detektor, dengan konsentrasi yang diukur 50, 100, 150, 200, 250 ppm yang menghasilkan luas area berturut-turut 1612,19; 2729,28; 3858,69; 4416,25; dan 5974,31. Dari hasil tersebut dapat kita tentukan persamaan regresi linear dan koefisien korelasi ( $r$ ). Koefisien korelasi ini menunjukkan adanya hubungan linear

antara konsentrasi analit dengan luas area (gambar 2). Dari hasil uji linearitas  $\alpha$ -mangostin didapat persamaan regresi  $y = 594,781 + 20,82242x$  dan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,992206. Nilai  $0,99 \leq r \leq 1$  ini menunjukkan bahwa konsentrasi dan luas area mempunyai hubungan yang linear sehingga semakin besar konsentrasi dari larutan maka akan semakin besar pula luas area.



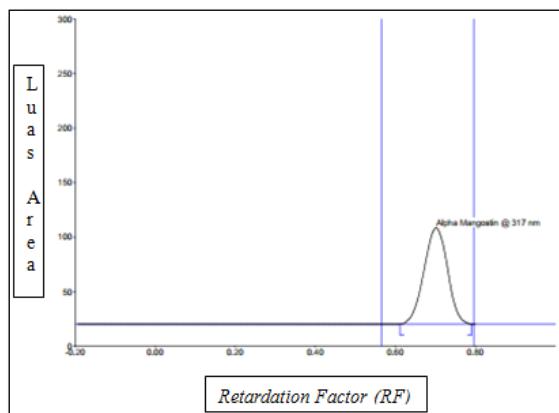
Gambar 2. Kurva Kalibrasi  $\alpha$ -Mangostin

Kemudian dilanjutkan dengan penetapan kadar dan uji akurasi. Dari hasil pengujian dengan metode KLT-densitometri ini diketahui kadar  $\alpha$ -mangostin dalam plasma darah manusia yang sebelumnya dicampur dengan larutan

$\alpha$ -mangostin secara *in vitro* dengan konsentrasi sampel 120 ppm dari 3 kali penotolan berturut-turut adalah 116,1027 ppm, 118,5851 ppm dan 111,1249 ppm. Rata-rata kadar  $\alpha$ -mangostin dari 3 totolan tersebut adalah  $115,2709 \pm 3,7990$  ppm (tabel 1).

Tabel 1. Data Hasil Perhitungan Kadar Sampel Dan Perolehan Kembali

<b>Totolan</b>	<b>Luas area</b>	<b>x (ppm)</b>	<b>% perolehan Kembali</b>
1	3012,32	116,1027	96,7522
2	3064,01	118,5851	98,8209
3	2908,67	111,1249	92,6041
<b>Rata-rata</b>		<b>115,2709</b>	<b>96,0591</b>
<b>SD</b>		<b>3,7990</b>	



Gambar 3. Densitogram  $\alpha$ -Mangostin dalam plasma darah konsentrasi 120 ppm

Dibandingkan dengan penelitian terdahulu, penelitian ini memperoleh kadar  $\alpha$ -mangostin yang tinggi. Hal ini disebabkan karena pada penelitian ini  $\alpha$ -mangostin murni ditambahkan ke dalam plasma darah manusia dan ikatan protein yang terbentuk antara plasma dan  $\alpha$ -mangostin dilepaskan terlebih dahulu dengan cara divortex dengan kecepatan tinggi sebelum diukur kadarnya. Sedangkan penelitian terdahulu hanya mengukur kadar  $\alpha$ -mangostin yang terkandung dalam kulit buah manggis dan kulit batang asam kandis.

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan ketepatan hasil yang diperoleh dari suatu metode analisis dengan kadar sebenarnya. Sebagai parameter untuk akurasi menggunakan persen perolehan kembali (Harmita, 2004). Dari penelitian yang telah dilakukan, larutan sampel  $\alpha$ -mangostin dengan konsentrasi 120 ppm dengan 3 kali penotolan memberikan nilai akurasi berturut-turut 96,7522%, 98,8209%, dan 92,6041% dengan rata-rata 96,0591%. Dari hasil uji perolehan kembali  $\alpha$ -mangostin berada pada rentang yang diperbolehkan yaitu 90-107% (Harmita, 2004). Jadi ini membuktikan bahwa metode ini memberikan hasil yang akurat karena memenuhi syarat dari akurasi.

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara

hasil individu, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran homogen. Kriteria keseksamaan diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi  $\leq 2\%$ . Akan tetapi kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium. Pada kadar 1% atau lebih, standar deviasi relatif antara laboratorium adalah sekitar 2,5% ada pada satu perseribu adalah 5%. Pada kadar satu per sejuta (ppm) RSD (*Relative Standard Deviation*)nya adalah 16% dan pada kadar part per bilion (ppb) adalah 32%. Pada metode yang sangat kritis, secara umum diterima bahwa RSD harus lebih dari 2% (Harmita, 2004).

Penentuan presisi *intraday*  $\alpha$ -mangostin dilakukan pada konsentrasi 50 ppm dengan nilai % RSD berturut-turut 2,8125%, 1,2790%, dan 0,8404%; konsentrasi 100 ppm dengan nilai % RSD berturut-turut 4,6809%, 0,7007%, dan 1,2164%; dan konsentrasi 150 ppm dengan nilai % RSD berturut-turut 0,9038%, 1,7189%, dan 2,2941%. Penentuan presisi *interday* dilakukan dengan menotolkan pembanding  $\alpha$ -mangostin murni selama 3 hari berturut-turut pada konsentrasi 50 ppm dengan nilai %RSD berturut-turut 0,8408%, 5,5968%, dan 2,1222%;

konsentrasi 100 ppm dengan nilai %RSD berturut-turut 1,2164%, 1,4933%, dan 1,5528%; dan konsentrasi 150 ppm dengan nilai %RSD berturut-turut 2,2942%, 5,5319%, dan 1,4693%. Dari nilai % RSD yang didapatkan pada penelitian ini diperoleh nilai %RSD yang kurang dari 16% maka dapat dikatakan bahwa metode ini mempunyai nilai keterulangan yang baik.

Batas deteksi ditentukan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah yang dapat dianalisis yang dapat memberikan respon signifikan. Sedangkan batas kuantitasi ditentukan untuk mengetahui konsentrasi terendah yang dapat ditentukan oleh suatu metode pada tingkat ketelitian dan ketepatan yang baik. Nilai BD dan BK dapat ditentukan dari persamaan regresi dan standar deviasi. BD dan BK  $\alpha$ -mangostin pada penelitian ini adalah 37,8323 ppm dan 110,8014 ppm. Batas deteksi dan batas kuantitasi ini berhubungan dengan hasil penetapan kadar  $\alpha$ -mangostin dalam plasma darah yang kita peroleh, dimana kadar  $\alpha$ -mangostin yang terukur harus berada diatas nilai batas deteksi dan batas kuantitasi. Dari hasil penetapan kadar yang kita lakukan, kadar  $\alpha$ -mangostin dalam plasma berada diatas batas deteksi dan batas kuantitasi.

### Kesimpulan

Metode KLT-densitometri dapat digunakan sebagai metode yang valid untuk analisis  $\alpha$ -mangostin dalam plasma darah manusia secara *in vitro*. Hal ini dapat dilihat dari terpenuhinya parameter validasi dengan masing-masing nilai yaitu linearitas 0,9922, akurasi 96,0591%, presisi *intraday* dari konsentrasi 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm diperoleh rata-rata

persen RSD yaitu 1,6440%, 2,1993% dan 1,6389%, presisi *interday* yaitu 2,8533%, 1,4208%, 3,0985%, batas deteksi 37,832332 ppm dan batas kuantitasi 110,8014ppm.

Kadar  $\alpha$ -mangostin yang terdapat dalam plasma darah manusia yang sebelumnya ditambahkan larutan  $\alpha$ -mangostin secara *in vitro* yaitu  $115,2709 \pm 3,7990$  ppm dari kadar sampel 120 ppm.

### Daftar Pustaka

- Chaverri, J. P., Rodriguez, N. C., Ibarra, M. O., & Rojas, J. M. P. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3227-3239.
- Food and Drug Administration. (2001). *Guidance for Industry :Bioanalytical Method Validation*. USA : Food and Drug
- Harahap, Y., Mansur, U., & Sinandang, T. (2006). Analisis glimepirida dalam plasma tikus. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 3, (1), 22-37.
- Harmita. (2004). Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, I, (3), 117-135.
- Harmita. (2004). Metode penetapan kadar meloxicam dalam darah manusia *in vitro* secara kromatografi cair kinerja tinggi. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, I, (2), 79-92.
- Yunitasari, L. (2011). *Gempur 41 penyakit dengan buah manggis khasiat dan cara pengolahan untuk Kesehatan*. Yogyakarta: Pustaka BaruPress.