

Research Article

**PHARMACOKINETIC PARAMETERS DETERMINATION OF
GENDARUSIN A IN MEN SUBJECT URINE AFTER
ADMINISTRATION OF ETHANOL EXTRACT OF
Justicia gendarussa Burm. f. LEAF
(ETHNO MEDICINE RESEARCH)**

*Sihabuddin, M¹⁾, Maria A²⁾, Flourisa JS²⁾, Pramesti B³⁾, Musta'ina S³⁾, Radjaram A¹⁾,
Aucky H³⁾ and Bambang Prajogo E.W¹⁾.*

¹⁾ *Fakultas Farmasi Universitas Airlangga*

²⁾ *Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana,*

³⁾ *Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga*

ABSTRACT

Introduction: *Justicia gendarussa* Burm. f (Famili: Acanthaceae) has flavonoid that inhibits hyaluronidase enzyme of spermatozoa in the fertilization process. Previous research reported that the major component of *J.gendarussa* was 6,8-di-L-arabinopyranosil- 4',5,7-trihydroxy flavones or 6,8-diarabinosylapigenin (gendarusin A). **Objective:** This experimental study has been carried out to determine the pharmacokinetic parameters of gendarusin A in human urine after single oral administration of *J.gendarussa* extract. **Methods:** Six healthy men were enlisted in this study. Urine samples were collected at intervals for 24 hours before and after six healthy volunteers administrated orally 100 ml ethanol extract suspension of *J. gendarussa* leaves, containing 1 g of extract equal to 16,4 mg gendarusin A, for the measurement of gendarusin A by HPLC. **Result:** The calibration curve of gendarusin A peak areas (y) against the concentrations (x, µg/ml) in urine was linear and the regression equations was $y = 34.3496x + 63.6315$ ($r = 0.9992$). The lowest absolute recovery was 106.10 %, while the lowest assay recovery was 81.92 %, which revealed that the accuracy of the method was satisfied. All values of the R.S.D. of intra-day precision were less than 8,12 %. The LOD and LOQ of assaying gendarusin A in urine was 0.0817 µg/ml and 0.2724 µg/ml, respectively. **Conclusion:** Following oral administration of *J.gendarussa* extract suspension, the result show that the elimination half-lives ($t_{1/2}$) for gendarusin A in the urinary excretion were 2,44 – 8,53 hours (mean $4,44 \pm 2,14$ hours) and the rates constant of elimination (K_{el}) were 0,08 – 0,28 hour^{-1} (mean $0,18 \pm 0,07 \text{hour}^{-1}$).

Keywords: *Justicia gendarussa* Burm. f. , gendarusin A

Research Article

**PENETAPAN PARAMETER FARMAKOKINETIKA GENDARUSIN A
DALAM URIN SUBYEK PRIA SETELAH PEMBERIAN
SEDIAAN EKSTRAK ETANOL DAUN *Justicia gendarussa* Burm. f.**

Sihabuddin, M¹⁾., Maria A²⁾., Flourisa JS²⁾., Pramesti B³⁾., Musta'ina S³⁾., Radjaram A¹⁾., Aucky H³⁾ and Bambang Prajogo E.W¹⁾ .

⁴⁾ Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

⁵⁾ Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana,

⁶⁾ Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga

ABSTRAK

Pendahuluan: *Justicia gendarussa* Burm. F (Famili: Acanthaceae) memiliki kandungan flavonoid yang menghambat enzim hyaluronidase dari spermatozoa dalam proses fertilisasi. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa komponen terbesar dari *J.gendarussa* adalah 6,8-di-L-arabinopyranosil- 4',5,7-trihydroxy flavones atau 6,8- diarabinosylapigenin (gendarusin A). **Tujuan:** Penelitian ini dilakukan untuk menentukan parameter farmakokinetik dari gendarusin A dalam urin manusia setelah pemberian dosis tunggal dari ekstrak *J.gendarussa*. **Metode:** enam orang pria sehat dikutsertakan pada studi ini. Sampel urin diambil pada interval 24 jam dan enam sukarelawan meminum 100 ml ekstrak ethanol berbentuk suspensi dari *J.gendarussa*, mengandung 1 g dari ekstrak keseluruhan sampai 16,4 mg gendarusin A, untuk ukuran gendarusin A oleh HPLC. **Hasil:** Kurva penelitian ini dibuat dengan gendarusin A pada ordinat (y) dan konsentrasi (x, µg/ml) dalam urin hasilnya linear dengan persamaan korelasi regresinya adalah $y = 34,3496x + 63.6315$ ($r = 0.9992$). Semua hasil dari kepresisian intra-day R.S.D. kurang dari 8,12 % LOD dan LOQ dari analisis gendarusin pada urin berturut-turut adalah 0.0817 µg/ml dan 0.2724 µg/ml. **Simpulan:** Pemberian oral dari suspensi ekstrak *J.gendarussa*, hasilnya menunjukkan bahwa waktu paruh ($t_{1/2}$) untuk gendarusin A pada ekskresi urin adalah 2,44 – 8,53 jam (rata-rata $4,44 \pm 2,14$ jam) dan rata-rata eliminasi konstan (K_{el}) adalah 0,08 – 0,28 jam⁻¹ (rata-rata $0,18 \pm 0,07$ jam⁻¹).

Kata kunci: *Justicia gendarussa* Burm. f. , gendarusin A

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara berkembang dengan jumlah penduduk peringkat ke-empat tertinggi di dunia. Untuk mengatasi tingginya laju pertumbuhan penduduk di Indonesia, pemerintah saat ini sedang menggalakkan program Keluarga Berencana (KB).

Hasil survei pada tahun 1997 di Indonesia memberikan gambaran penggunaan kontrasepsi pria hanya menyumbang 1.1% dari total peserta KB aktif yang berjumlah 54.7%. Dari hasil survei yang sama pada tahun 1991, 1994 dan 1997 terlihat adanya kecenderungan yang semakin menurun terhadap penggunaan kontrasepsi pria. Perlunya peningkatan peran suami lebih

Research Article

ditekankan dengan adanya keluhan para istri berkenaan dengan berkurangnya perhatian para suami terhadap keluarga berencana, padahal dukungan dan perhatian suami sangat berpengaruh terhadap kelestarian Keluarga Berencana.¹ Oleh karena itu diperlukan peran serta kaum pria untuk menyukseskan program ini. Namun penggunaan kontrasepsi pada pria sangat terbatas karena pilihan metode yang minimal (yaitu kondom dan vasektomi), dan masih ada keengganan dari pihak pria untuk menggunakan alat kontrasepsi dengan alasan merasa malu, tidak nyaman dan khawatir dengan efek samping yang ditimbulkan.²

Munculnya istilah *Trend Back to Nature* yaitu, penggunaan obat-obat alami sebagai pengganti obat-obat sintetik dapat dijadikan jalan keluar dalam menghadapi masalah-masalah kontasepsi pria, khususnya dalam faktor keamanan. Berdasarkan penelitian-penelitian selama ini, banyak tumbuh-tumbuhan yang memiliki efek antifertilitas, diantaranya adalah biji kering pepaya (*Carica papaya*), ekstrak etanol bunga *Hibiscus rosasinensis* L. (Malvaceae), buah pare (*Momordica charantia* L.), infus *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae), ekstrak kloroform akar *Aristolochia indica* L. (Aristolochiaceae) yang memiliki efek antifertilitas secara *in vitro* pada sperma tikus, mencit, kelinci, dan manusia.³ Selain itu, M. Soerjowinoto dan A. Pujorianto melaporkan bahwa daun *Justicia gendarussa* Burm. f telah digunakan oleh sebagian rakyat Irian Jaya sebagai obat kontrasepsi pria.⁴

Daun *Justicia gendarussa* Burm. f. diketahui mengandung kalium, flavonoid, justisin, steroid atau triterpenoid, tannin 0,4%; alkaloid, amin aromatik, iridoid dan kumarin.⁵ Dari hasil penelitian diketahui bahwa dalam fraksi *n*-butanol gandarusa terdapat 12 komponen flavonoid dengan komponen mayor 6,8-di- α -l-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksiflavin, yang kemudian dikenal dengan gendarusin A, salah satu bahan anti fertilitas dengan aktivitas pencegahan penetrasi spermatozoa *in vitro* dengan mekanisme penghambatan enzim hialuronidase.⁵

Penelitian mengenai *Justicia gendarussa* Burm. f. yang mengarah pada aktivitas anti fertilitas pada pria secara farmakologis dan analisis fitokimia telah dilakukan sejak tahun 1987. Dalam rangka pengembangan industri obat tradisional, *Justicia gendarussa* Burm. f. sebagai model dalam *drug discovery* harus memenuhi persyaratan uji klinik agar dapat dikonsumsi oleh manusia. Obat tradisional yang dimaksud harus memenuhi persyaratan mutu kefarmasian untuk menjamin bahwa zat berkhasiat yang diinginkan, dalam hal ini gendarusin A sebagai anti fertilitas, telah cukup diabsorpsi dan mencapai sirkulasi sistemik untuk kemudian menimbulkan efek klinik.

Obat yang masuk ke dalam tubuh melalui berbagai rute pemberian umumnya mengalami proses absorpsi, distribusi, dan pengikatan untuk sampai di tempat kerja dan menimbulkan efek. Kemudian, dengan atau tanpa proses biotransformasi, obat diekskresi dari dalam tubuh. Seluruh

Research Article

proses ini disebut proses farmakokinetik dan berjalan serentak.⁶ Farmakokinetika menunjukkan kinetika absorpsi obat, distribusi dan eliminasi, yakni ekskresi dan metabolisme. Kecepatan dan tingkat obat diekskresikan melalui urin menggambarkan kecepatan dan tingkat absorpsi obat dalam sirkulasi sistemik.⁷ Oleh sebab itu data ekskresi obat melalui urin dapat digunakan untuk menentukan parameter farmakokinetika dimana pada umumnya penentuan parameter farmakokinetika suatu obat dilakukan menggunakan data kadar obat tersebut dalam darah atau saluran sistemik.

Dengan demikian maka pada penelitian ini bisa dikatakan merupakan rangkaian penelitian lanjutan yang akan meneliti profil farmakokinetika gendarusin A dalam urin manusia setelah pemberian kapsul ekstrak etanol daun *Justicia gendarussa* Burm. f. secara per oral. Digunakan subyek penelitian manusia karena pada penelitian kali ini telah sampai pada tahapan uji klinik fase I. Adapun parameter farmakokinetika yang ingin diketahui antara lain adalah tetapan laju eliminasi (K_{el}) dan waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$). Selain itu juga diteliti profil akumulasi kadar apigenin pada pertengahan dan akhir masa *treatment* (hari ke-72 dan ke-108).

Pada penelitian ini, digunakan metode HPLC untuk penetapan kadar gendarusin A. Metode HPLC mempunyai beberapa kelebihan dibanding metode yang lain, yaitu didapatkan pemisahan yang lebih baik dalam waktu proses yang relatif singkat, mempunyai ketepatan dan ketelitian yang relatif tinggi, dapat dilakukan pada suhu kamar, serta kolom dapat digunakan berkali-kali. Metode yang akan digunakan divalidasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa metode analisis yang digunakan telah memenuhi beberapa persyaratan yang telah ditetapkan. Untuk penelitian ini parameter yang diuji adalah linieritas, presisi, selektivitas, LOD, LOQ, dan akurasi.

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah terdapat marker gendarusin A yang terekskresi dalam urin subyek serta bagaimana profil farmakokinetik pada parameter tetapan laju eliminasi (K_{el}) dan waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$).

Sedangkan tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah untuk menambah informasi dan menunjang penelitian-penelitian yang lain dalam proses pengembangan *Justicia gendarussa* Burm. f. sebagai kandidat obat kontrasepsi baru.

Manfaat yang diperoleh untuk memberikan dasar-dasar penyusunan aturan dosis dan penentuan bentuk sediaan ekstrak daun *Justicia gendarussa* Burm. f yang lebih tepat untuk uji berikutnya, yakni uji klinis fase III, agar didapat manfaat atau respon obat yang optimal dengan risiko seminimal mungkin.

Research Article

METODE

Bahan Penelitian

Kapsul ekstrak etanol daun *Justicia gendarussa* Burm. f. (Ext. Gendarussa) dibuat dan diperoleh dari Departemen Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, merupakan sediaan ekstrak etanol 70% daun *Justicia gendarussa* Burm. f.

Sebagai bahan tanaman dalam sediaan tersebut adalah tanaman *Justicia gendarussa* Burm. f. yang berasal dari daerah Pacet, Mojokerto, yang dipanen pada bulan Maret tahun 2008 dalam keadaan segar, diambil bagian daunnya kemudian dicuci dengan air bersih dan dikeringkan dengan oven. Setelah itu simplisia yang telah kering diserbuk. Dari serbuk tersebut dibuat ekstrak etanol 70% *Justicia gendarussa* Burm. f. yang kemudian diformulasi menjadi bentuk sediaan kapsul.

Alat – alat

- HPLC: LC-10 Class Analysis
- *Communication Bus Module CBM 10A Shimadzu*
- *SPD-10AV UV-VIS Detector Shimadzu*
- *Liquid Chromatograph LV-10AV Shimadzu*
- *Column Oven CTO-10AC*
- *Column Novapak Waters C18 3,9 x 150 mm 60Å, 4 µm*
- *Guard column*

Subyek Penelitian

Diperlukan 18 *volunteer* pria sehat, sudah menikah dan normospermia. Selanjutnya masing-masing dibagi dalam 3 (tiga) kelompok dalam jumlah yang berimbang.

Sebelum penelitian seluruh subyek uji harus menandatangani lembar pernyataan kesediaan (*informed consent*). Penelitian ini dilakukan sesuai dengan ketentuan yang ada di Deklarasi Helsinki dan harus disetujui oleh komite etik penelitian setempat.

A. Populasi

18 *volunteer* pria sehat, sudah menikah, normospermia, dan memenuhi kriteria inklusi.

B. Kriteria Inklusi

1. Pria sehat, menikah, usia 20 – 40 tahun, anak terkecil berusia kurang dari 1 tahun.
2. Spermogram :
 - konsentrasi spermatozoa > 20 juta/ml
 - morfologi normal > 50%

Research Article

- motilitas sangat baik > 25%
 - 3. Telah melakukan pemeriksaan laboratorium
 - 4. Bersedia menandatangani *informed consent* sebelum prproses penyaringan
- C. Kriteria Eksklusi
1. Pria ingin punya anak
 2. Penderita leukospermia.
 3. Penderita yang menerima obat-obat golongan steroid dan turunannya, termasuk juga obat-obat herbal yang berfungsi meningkatkan/menurunkan potensi seksual.

Perlakuan Terhadap Subyek Penelitian

Dari 18 *volunteer*, masing-masing dibagi dalam 3 (tiga) kelompok dalam secara random :

1. Kelompok I diberi sediaan gendarusa dengan dosis 284,5 mg/ kapsul satu kali sehari per oral setengah jam sesudah makan selama 108 hari.
2. Kelompok II diberi sediaan gendarusa dengan dosis 213,4 mg/ kapsul (1/648 LD₅₀), satu kali sehari per oral setengah jam sesudah makan selama 108 hari.
3. Kelompok III diberi plasebo satu kali sehari per oral setengah jam sesudah makan selama 108 hari

Setelah *run-in* selama 2 minggu, setiap penderita akan menerima salah satu dari kapsul ekstrak *Justicia gendarussa* Burm. f. Dosis I, II, atau plasebo, 1 kapsul sehari setelah makan jam 08.00 selama 1,5 kali siklus spermatogenesis (108 hari).

Pengambilan Sampel

Pasien dikarantina selama 2 hari dan puasa 8 jam sebelum pemberian kapsul ekstrak etanol daun *Justicia gendarussa* dan terlebih dahulu dilakukan pengambilan urin blanko dari masing masing subyek. Sampel urin diambil pada interval waktu 0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 3.0; 4.0; 5.0; 6.0; 8.0; 10.0; 12.0; 16.0; 20.0; 24.0; 29.0; dan 35.0 jam setelah pemberian. Pada hari ke-72 dan ke-108 dilakukan pengambilan urin lagi untuk akumulasi urin. Pengambilan sampel urin dilakukan sekali pada pagi hari, sebelumnya subyek telah berpuasa selama kurang lebih 8 jam.

Penentuan Kondisi HPLC

Sebagai acuan dalam analisis gendarusin A dalam urin manusia adalah hasil publikasi Liping Li dkk. mengenai analisis apigenin dan luteolin dalam urin manusia menggunakan metode HPLC. Detektor terpilih adalah UV-Vis; λ_{maks} 270 nm dengan fase gerak terpilih adalah fase gerak metanol dan asam fosfat 0,2% dengan sistem gradien. Untuk kurva baku dibuat

Research Article

larutan standar 0,05; 0,5; 5,0; 10,0; 50,0; dan 100,0 ppm dan nilai V_{xo} yang baik tidak lebih dari 5 %. Untuk prosen rekoveri yang diperoleh kemudian dirata-rata dan nilai prosen rekoveri yang memenuhi syarat adalah 80-120%. Sedangkan prosedur dikatakan memenuhi syarat bila koefisien variasi (KV) yang diperoleh tidak lebih dari 10 %.

Preparasi Sampel

Metode ekstraksi gendarusin A dalam urin yang terpilih adalah metode 2, yaitu 500 μ l urin ditambah 1.000 μ l metanol, lalu diultrasonikasi selama 15 menit. Sampel kemudian divortex selama 5 menit lalu disentrifuse dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dikumpulkan pada tabung yang berbeda, proses tersebut diulang dua kali hingga didapatkan kurang lebih 2 ml supernatan. 2,5 ml supernatan tersebut dipekatkan menggunakan gas nitrogen lalu direkonstitusi kembali dengan 500 μ l metanol dan diultrasonikasi selama 10 menit. Setelah disentrifuse pada kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit, supernatan disaring menggunakan membran filter nylon 0,2 μ m kemudian 20 μ l supernatan diinjeksikan ke dalam HPLC.

Analisis Data

Parameter farmakokinetika yang akan ditentukan adalah tetapan laju eliminasi (K_{el}) waktu paruh ($t_{1/2}$).

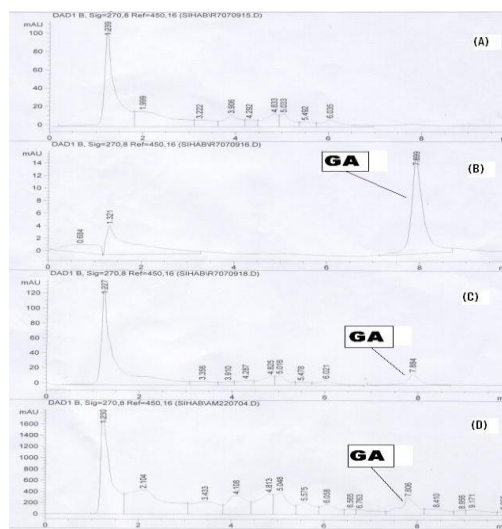
HASIL

Hasil Validasi Metode

Selektivitas

Hasil selektivitas ditunjukkan pada kromatogram dimana Gandarusin A dapat terpisah dengan baik. Adapun waktu retensi gendarusin A adalah sekitar 7,884 menit, dan tidak ada puncak senyawa endogen dan reagen yang mengganggu pada waktu retensi terbut. Nilai resolusi puncak gendarusin A dengan puncak senyawa lain terdekat adalah 2,87 dengan selektifitas sebesar 1,31. Hasil kromatogram dapat dilihat pada gambar 1.

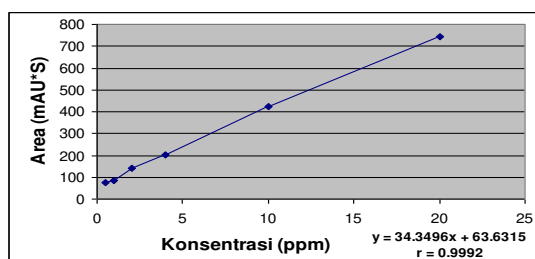
Research Article



Gambar 1. Kromatogram HPLC* dari urin blanko (A), larutan standar gendarusin A (B), urin blanko diadisi dengan gendarusin A (C), dan sampel urin AMN setelah pemberian Suspensi Gendarussa jam ke 5,5.

Linieritas

Kurva kalibrasi dari gendarusin A dibuat linieritas dari metode tersebut dan ditentukan analisis regresi dari peak area gendarusin A (y) terhadap konsentrasi gendarusin A (x, µg/ml) dalam urin. Kurva kalibrasi gendarusin A dalam urin yang didapat linier (gambar 2), dengan persamaan regresi yakni $y = 34.3496x + 63.6315$ ($r = 0.9992$).



Gambar 2. Kurva Area gendarusin A (mAU*s) terhadap konsentrasi ((µg/ml)

Recoveri

Urin blanko ditambah dengan standar gendarusin A pada konsentrasi rendah, sedang, dan tinggi (tabel 1). Lima replikasi untuk tiap-tiap konsentrasi dipreparasi sebagaimana yang telah dijelaskan sebelumnya. Rekoverti uji dan rekoverti absolute dievaluasi seperti hasil yang terlihat pada table 1. Rekoverti absolut terendah yang didapat sebesar 106.10%, sedangkan rekoverti uji terendah sebesar 81.92%.

Research Article**Tabel 1.** Rekoveri gendarusin A dalam urin (n =5)

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Rekoveri Absolut Mean (%)	Rekoveri Uji Mean (%)
0.5	108.40	102.80
5.0	110.04	81.92
10.0	106.10	96.14

Presisi

Urin blanko ditambah dengan standar gendarusin A pada konsentrasi yang berbeda (0.5, 5.0, 10.0 $\mu\text{g/ml}$) digunakan sebagai uji presisi metode. Presisi intra-day (RSD) ditentukan dengan menganalisa keseragaman sampel dalam lima replikasi. Seluruh nilai RSD dari presisi intra-day kurang dari 8.12% (table 2). Hasil tersebut menunjukkan presisi dari metode analisis gendarusin A dalam urin ini cukup memuaskan.

Table 2 Presisi gendarusin A dalam urin (n =5)

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Presisi R.S.D. (%)
0.5	8.12
5.0	6.02
10.0	6.37

LOD dan LOQ

Batas deteksi (*limit of detection/LOD*) didefinisikan sebagai jumlah konsentrasi terkecil analit dalam sample kontrol yang dapat dideteksi. Batas kuantitasi (*limit of quantification/LOQ*) didefinisikan sebagai jumlah konsentrasi terkecil analit dalam sample kontrol yang dapat dihitung atau diukur. Dari slope persamaan regresi gendarusin A dalam urin dan juga nilai residual standar deviasi (RSD) area gendarusin A, dapat ditentukan batas deteksi (LOD dan batas kuantitasi (LOQ). Hasil yang diperoleh dari perhitungan yakni LOD sebesar 0.0817 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan LOQ sebesar 0.2724 $\mu\text{g/ml}$ berdasarkan R.S.D. = 0.9356.

Research Article**Penentuan Nilai K_{el} dan $t_{1/2}$**

Penentuan Nilai K_{el} dan $t_{1/2}$ dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rekapitulasi nilai K_{el} dan $t_{1/2}$

Subyek	K_{el} (jam^{-1})	$t_{1/2}$ (jam)
AMN	0.20	3.47
MAR	0.28	2.44
IRM	0.08	8.53
ARF	0.21	3.31
TYB	0.16	4.29
AND	0.15	4.60
Rata-rata	0.18	4.44
SD	0.07	2.14

SIMPULAN

Setelah pemberian sediaan ekstrak etanol daun *Justicia gendarussa* Burm. f. terhadap 6 subyek pria, dapat disimpulkan harga parameter farmakokinetika gendarusin A sebagai berikut :

1. $t_{1/2}$ gendarusin A = 2,44 – 8,53 jam (rata-rata $4,44 \pm 2,14$ jam)
2. K_{el} gendarusin A = 0,08 – 0,28 jam^{-1} (rata-rata $0,18 \pm 0,07$ jam^{-1})

DAFTAR PUSTAKA

1. Suprihastuti, D, dkk. 2000 <http://hqweb01.bkkbn.go.id/hqweb/pria/artikel01-9I.html> 3 November 2005
2. Soehadi, K., dan K.M. Arsyad, Analisis Sperma Homosapiens. Airlangga University Press.Surabaya 1983: 9 – 23, 166 – 167.
3. Farnsworth, N.R. and D. P. Walker, Current Status of Plant Product to Inhibit Sperm. In: Research Frontiers in Fertility Regulation. 1982.2(1) Cambridge Harper and Row.
4. Soerjowinoto, M., dan A.Pujorianto, Laporan Perjalanan ke Jayapura Sentani Irian Jaya.Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta 1985.hal 19.
5. Prajogo, B, E. W., Aktivitas Antifertilitas Flavonoid Daun *Gendarusa vulgaris* Ness. Penelitian Eksperimental Pencegahan Penetrasi Spermatozoa Mencit dalam Proses Fertilisasi In Vitro. Disertasi. 2002.Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
6. Ganiswara, S.G., Farmakologi dan Terapi Edisi IV, 1995.Jakarta. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
7. Shargel, Leon, Andrew B.C. YU, and Susanna Wu-Pong, Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics 5th Ed. 2007, : The McGraw-Hill Companies.