

Determination of Quercetin in Soursop (*Annona muricata* Linn.) Leaves 10 ml Liquid Preparation Using UV-Spectroscopic Method

Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan cair Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) 10 ml dengan Metode Spektrofotometri-UV

Sudjarwo Sudjarwo^{1)*}, Siti Husnul Khatimah¹⁾, Febri Annuryanti¹⁾

¹Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

*Corresponding author

E-mail: sudjarwo@ff.unair.ac.id

Article History:

Received: August 1, 2022; Revised: September 22, 2022; Accepted: October 29, 2022; Online: December 1, 2022

ABSTRACT

Quercetin was a flavonoid compound that was found in *Annona muricata* L. leaves. The UV Spectrophotometric method was used to determine quercetin from *Annona muricata* in liquid. The degradation was determined by selectivity, linearity, accuracy, precision, LOD, and LOQ. Selectivity showed that spectra had maximum absorbance at λ 374 nm. Good linearity was shown by $y = 0,07368x - 0,01937$ ($r = 0,9984$; $p < 0,05$). The precision of standard quercetin in a concentration of 6,4 ppm showed a relative standard deviation (RSD) of 0,19%. LOD and LOQ of standard quercetin were 0,0240 $\mu\text{g/ml}$ and 0,0801 $\mu\text{g/ml}$, and the accuracy was $91,867 \pm 7,59\%$. Determination of quercetin in *Annona muricata* leaf extract showed a concentration of $12,62 \pm 3,29\%$ and $(263,96 \pm 6,69)$ mg in 10 ml liquid.

Keywords: Quercetin, *Annona Muricata* L., UV Spectrophotometry, Method of Validation

ABSTRAK

Kuersetin adalah senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun *Annona muricata* L. telah digunakan metode spektrofotometri UV dalam penetapan kadar kuersetin dari *Annona muricata* dalam sediaan cair. Derajat validitas ditentukan berdasarkan selektivitas, linieritas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ. Selektivitas menunjukkan bahwa spektra memiliki serapan maksimum λ 374 nm. Linearitas yang baik ditunjukkan dengan $y = 0,07368x - 0,01937$ ($r = 0,9984$; $p < 0,05$). Presisi kuersetin standar pada konsentrasi 6,4 ppm menunjukkan standar deviasi relatif (RSD) 0,19%. LOD dan LOQ kuersetin standar adalah 0,0240 $\mu\text{g/ml}$ dan 0,0801 $\mu\text{g/ml}$, dan nilai akurasi 91,867 $\pm$ 7,59%. Penentuan kadar kuersetin ekstrak daun *Annona muricata* dalam sediaan cair 10 ml menunjukkan kadar 12,62 $\pm$ 3,29% dan (263,96 $\pm$ 6,69) mg.

Kata kunci: Kuersetin, *Annona muricata* Linn, Spektrofotometri UV, Metode Validasi

PENDAHULUAN

Annona muricata Linn. (suku *Annonaceae*) atau yang dikenal masyarakat dengan nama daerah sirsak merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat obat di Indonesia. Tanaman ini dimanfaatkan untuk membantu pengobatan kanker, demam, diare, anti kejang, anti jamur, anti parasit, anti mikroba, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu dan lain lain (Mardiana, 2011). Daun sirsak mengandung berbagai jenis senyawa kimia, salah satunya adalah kuersetin. Kuersetin memiliki khasiat sebagai antioksidan, penghambat radikal bebas, antikanker, dan antivirus (Wiwi Pertiwi, 2020; Dina Fatmawati et al, 2018). Sebagai pengembangan produk herbal dibuat sediaan minuman herbal dari ekstrak daun sirsak yang dosisnya disesuaikan dengan dosis terapi kuersetin yaitu 250-500 mg tiga kali sehari (Lakhanpal, 2007).

Untuk menjamin kualitas, efektivitas, khasiat dan reproduibilitas, maka dilakukan penetapan kadar kuersetin dalam sediaan minuman herbal cair dengan metode Spektrofotometri. Metode Spektrofotometri sering digunakan untuk menganalisis senyawa karena metode yang cukup sederhana, cepat, dan biaya yang relatif murah (Mulja dan Syahrani, 1989). Pada penelitian yang dilakukan oleh Pieme et al (2014), kadar flavonoid total yang dihitung sebagai kuersetin dalam daun sirsak adalah 9,96 mg/g daun kering. Untuk mendapatkan hasil yang dapat dipertanggung jawabkan, perlu dilakukan validasi metode spektrofotometri. Menurut USP 32 (2008), uji validasi dapat dibedakan menjadi empat kategori dan berdasarkan pembagian empat kategori tersebut. minuman herbal termasuk dalam kategori satu yaitu penentuan kadar senyawa bahan aktif, parameter validasi yang dilakukan adalah uji selektivitas, linieritas, presisi dan akurasi. Kandungan kuersetin di dalam tanaman dan jumlahnya rendah maka perlu dilakukan

Cite this as Sudjarwo, S., Khatimah, S. H., and Annuryanti, F. (2022) 'Determination of Quercetin in Soursop (*Annona muricata* Linn.) Leaves 10 ml Liquid Preparation Using UV-Spectroscopic Method', *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 9(2), pp. 31-35. DOI: 10.20473/bikfar.v9i2.42688



Copyright: ©2022 by the authors. Submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA) license

penentuan LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantity*).

METODOLOGI PENELITIAN

Pada penelitian ini akan dilakukan pengembangan sediaan herbal dan metode penetapan kadar kuersetin dari tanaman *Annona muricata* dalam sediaan cair 10,0 ml dengan metode Spektrofotometri UV.

Bahan

Standar kuersetin *pharmaceutical grade* (Sigma Aldrich), sukrosa *pharmaceutical grade*, etanol 96% p.a (Merck), aquadest, aseton p.a (Merck), daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang dikumpulkan dari perkebunan Purwodadi, Jawa Timur dan dideterminasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi.

Alat

Spektrofotometer UV single-beam (Hewlett Pakard), kuvet, timbangan analitik (O-Haus Adventurer), alat Freeze dryer (Model FD-81 EYELA) dan alat-alat gelas yang umum digunakan untuk analisis kimia.

Pembuatan Simplisia

Daun *Annona muricata* (sirsak) diambil dari pohonnya dan dikumpulkan. kemudian dipisahkan dari kotoran-kotoran yang tidak diinginkan. dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya, daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan terlindung dari cahaya matahari langsung. Simplisia yang telah kering dipilah kembali untuk memisahkan bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lain yang tertinggal, kemudian dibuat serbuk dengan menggunakan blender (Kresnanugraha, 2012).

Maserasi

Satu bagian serbuk kering simplisia ditambah 10 bagian pelarut aseton dan direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara penyaringan. Proses penyarian diulangi sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dikumpulkan, kemudian pelarut diuapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak (Depkes RI, 2008). Penetapan kadar air dengan metode gravimetri. Daun *Annona muricata* Linn. yang akan ditetapkan kadar airnya ditimbang satu sampai dua gram zat dalam wadah yang telah ditara. Kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI., 2000)

Formula Sediaan Cair 10,0 ml

Setiap sediaan cair 10,0 ml mengandung ekstrak daun sirsak yang setara dengan 280 mg kuersetin, sukrosa 6,5 g dan aquades sampai 10,0 ml. Pembuatan Sediaan Sirup. Ditimbang ekstrak daun sirsak yang setara dengan 280,0 mg kuersetin (2,2401 g), kemudian dilarutkan dengan aquadest, dan tambahkan sukrosa sebanyak 6,5 g sampai semua bahan larut dan homogen, masukkan labu ukur kemudian tambahkan aquadest sampai 10,0 ml.

Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin

Ditimbang 50,0 mg kuersetin standar, dilarutkan dalam etanol 96% sampai larut kemudian tambahkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur sampai batas tanda 25,0 mL.

Selektivitas pada Sediaan Sirup Daun Sirsak

Larutan sampel sediaan cair 1,0 ml dimasukkan kedalam labu ukur 10,0 ml, ditambahkan etanol 96% sampai batas tanda 10,0 ml. Larutan sampel sediaan cair 1 ml ditambah larutan standar kuersetin 6,4 ppm dan etanol 96% sampai batas tanda 10,0 ml di labu ukur 10,0 ml. Larutan standar kuersetin 6,4 ppm dalam etanol 96%. Dan pelarut etanol 96% sebagai blanko. Masing-masing diamati spektranya pada panjang gelombang 220 – 400 nm. Ditentukan panjang gelombang terpilih.

Linieritas

Larutan baku kuersetin 3,2 ppm – 9,6 ppm diukur absorbannya dengan pada panjang gelombang terpilih dan cara terpilih kemudian dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi.

Presisi

Dibuat satu konsentrasi dari larutan baku kerja kuersetin 6,4 ppm dalam etanol 96%, diamati absorbannya sebanyak 10 kali pengamatan.

LOD dan LOQ

Amati absorbansi blanko sebanyak 10 kali pada panjang gelombang terpilih dan hitung Standart Deviasi (SD). Selanjutnya membuat larutan standar sebanyak lima konsentrasi yang berbeda dan diamati absorbannya. Dibuat kurva hubungan antara konsentrasi terhadap absorbansi yang selanjutnya dihitung LOD dan LOQ dari kuersetin.

Akurasi

Akurasi dilakukan pada kadar 80-120% dari kadar secara teoritis. Pada kadar 80%. 100%. 120% masing-masing ditambahkan larutan standar kuersetin tersebut diambil 0,5 ml ditambah dengan berbagai volume (0,5 ml; 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml) dari larutan ekstrak di dalam labu ukur 10,0 ml, tambahkan etanol 96% sampai batas tanda 10,0 ml. Kemudian diamati absorbannya pada panjang gelombang terpilih. Replikasi sebanyak 3 kali.

Penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak daun sirsak

Penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 450,0 mg yang dilarutkan dalam 50,0 ml etanol 96 %. Dari larutan tersebut diambil 0,5 ml dan ditambah etanol sampai 50,0 ml. Kemudian dari larutan tersebut diambil 0,5 ml sebanyak 5 kali. masing-masing ditambah dengan berbagai volume (2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml; 6,0 ml) larutan baku kuersetin 16 ppm dalam etanol 96% di dalam labu ukur 10,0 ml. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan diamati absorbannya pada panjang gelombang terpilih.

Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Cair 10,0 ml

Penetapan kadar kuersetin dilakukan dengan memipet 1,0 ml sediaan cair yang ditambah etanol 96%

sampai batas tanda 50,0 ml di dalam labu ukur (larutan A). Kemudian dari larutan A tersebut diambil 1.0 ml dan ditambah etanol 96% sampai 50,0 ml di dalam labu ukur 50,0 ml (larutan B). Larutan B diambil 0,5 ml sebanyak 5 kali. masing-masing ditambah dengan berbagai volume (2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml; 6,0 ml) larutan baku kuersetin 16,0 ppm dalam etanol 96% di dalam labu ukur 10,0 ml. Diamati absorbannya pada panjang gelombang terpilih dan dilakukan tiga kali replikasi.

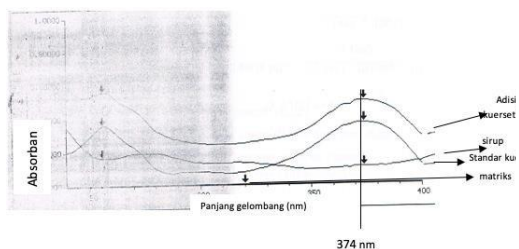
HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia yang diperoleh dari Purwodadi. dan telah dideterminasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi. Pencucian daun tanaman sirsak dilakukan untuk memisahkan dari kotorannya dan dikeringkan pada suhu ruang. Simplisia kering diperkecil ukurannya partikelnya dengan menggunakan blender. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dengan aseton. Penetapan kadar air dilakukan pada simplisia *Annona muricata* L. dan ekstrak daun *Annona muricata* L pada suhu 105°C di oven selama 5 jam dengan metode gravimetri. Hasil dari penetapan kadar air ini adalah 13,59% untuk simplisia dan 8,38% untuk ekstrak daun *Annona muricata* L (Tabel 1).

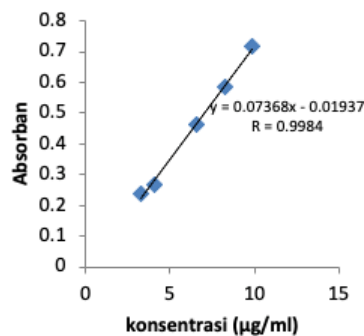
Tabel 1. Kadar Air dalam Ekstrak Daun Sirsak

Bahan	Kadar air (%;b/b)			Rata-rata (%;b/b)
	1	2	3	
Simplisia Daun Sirsak	13,55	13,36	13,86	13,59
Ekstrak Daun Sirsak	8,31	8,48	8,35	8,38

Metode yang digunakan untuk penentuan kadar di dalam matriks sampel tertentu perlu melalui tahapan validasi metode untuk menjamin metode analisis penetapan kadar akurat, spesifik, reproduisibel. dan tepat pada kisaran analit yang akan dianalisis (Gandjar dan Rohman. 2010). Tahap validasi yang pertama dilakukan adalah selektivitas. dimana tahapan ini bertujuan untuk menentukan panjang gelombang terpilih yang akan digunakan untuk proses analisis selanjutnya. Panjang gelombang maksimal kuersetin dari Merck Index (2008) adalah 256 nm dan 375 nm. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sorayanova (2009), panjang gelombang maksimal kuersetin adalah 374 nm. Pada penelitian ini panjang gelombang maksimum kuersetin adalah 374 nm. Perbedaan panjang gelombang sebesar 1 nm dianggap sama. sehingga panjang gelombang terpilih adalah 374 nm. Pada uji selektivitas dapat dijelaskan bahwa matriks sediaan cair tidak mengganggu pada penentuan kadar kuersetin. Spektra selektivitas kuersetin dalam ekstrak



Gambar 1. Spektra selektivitas kuersetin dalam sediaan sirup dari ekstrak daun *Annona muricata* L.



Gambar 2. Linieritas Kuersetin

daun *Annona muricata* L. dan dalam sediaan cair dapat dilihat pada (Gambar 1).

Tabel 2. Presisi Alat

Replikasi	A374 kuersetin
1	0,42949
2	0,43233
3	0,43175
4	0,43080
5	0,43216
6	0,43175
7	0,43181
8	0,43102
9	0,43102
10	0,43172
Rata-rata	0,43138
SD	$8,3351 \times 10^{-4}$
KV	0,19 %

Pada linieritas diperoleh $y = 0,07368x - 0,01937$ ($r = 0,9984$; $p < 0,05$) (Gambar 2). Penelitian yang dilakukan oleh Sejati (2012), linieritas yang dilakukan antara konsentrasi 2-10 ppm diperoleh persamaan regresi $y = 0,07385x + 0,0159$ ($r = 0,9980$) (Gambar 2).

Paramater presisi alat adalah koefisien variasi (KV) yaitu 0,19% (Tabel 2) dimana hasil tersebut memenuhi persyaratan $KV < 2\%$. Hasil ini sama dengan yang dilakukan oleh Arman (2012) $KV < 2\%$, yang dapat dijelaskan alat yang digunakan masih memberikan hasil yang akurat.

LOD dan LOQ dilakukan untuk mengetahui jumlah terkecil analit yang dapat dideteksi yang masih

Tabel 3. LOD dan LOQ Kuersetin

Replikasi	Absorban
1	$8,2 \times 10^{-4}$
2	$6,3 \times 10^{-4}$
3	$1,8 \times 10^{-4}$
4	$2,1 \times 10^{-4}$
5	$7,6 \times 10^{-4}$
6	$2,1 \times 10^{-4}$
7	0,00211
8	$3,5 \times 10^{-4}$
9	$9,6 \times 10^{-4}$
10	0,00117
S.D	$5,9 \times 10^{-4}$
LOD	0,0240 µg/ml
LOQ	0,0801 µg/ml

Tabel 4. Uji Akurasi Kuersetin

%	Konsentrasi diketahui (µg)	Konsentrasi yang diperoleh (µg)	% Recovery (b/b)
80	32,64	27,1029	83,04
	32,96	27,4389	83,25
	33,34	33,6048	100,79
	40,24	39,4540	98,05
100	41,20	36,5011	88,59
	41,68	39,0053	93,58
	48,29	45,8352	101,13
120	49,44	41,0206	82,97
	50,02	47,6678	95,30
Rata-rata			91,86%
Standar deviasi			7,59
Koefisien Variasi (KV)			8,26%

memberikan respon signifikan oleh instrumen. Pada penelitian ini, diperoleh LOD sebesar 0,0240 µg/ml dan LOQ sebesar 0,0801 µg/ml (Tabel 3). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Arman (2012), diperoleh LOD sebesar 0,229 µg/ml dan LOQ sebesar 0,76 µg/ml. Perbedaan data batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) diatas membuktikan bahwa ketelitian analisis dalam penelitian ini lebih teliti dibandingkan pada penelitian Arman (2012).

Akurasi dilakukan dengan metode adisi standar, pada tiga kadar 80%, 100%, dan 120%. Persen recovery dengan rata-rata 91,86±7,59% dan koefisien variasi (KV) 8,26% (Tabel 4). Persyaratan akurasi pada validasi metode 80-120% dan KV untuk sampel biologis adalah ≤15%. Dari hasil persen recovery yang diperoleh, maka parameter akurasi memenuhi persyaratan validasi metode. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Arman (2012) 87,59%-99,98% dengan nilai KV < 2%.

Tabel 5. Kadar Kuersetin Dalam Ekstrak

Replikasi	Ekstrak (mg)	Kuersetin diperoleh (mg)	Kadar (%;b/b)
I	450,5	55,980	12,43
II	450,2	58,142	12,91
III	444,0	56,912	12,82
IV	450,1	53,898	11,97
V	449,0	58,130	12,95
Rata-rata			12,62
SD			0,42
KV			3,29%

Kadar kuersetin di dalam ekstrak daun sirsak perlu diketahui untuk menentukan jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan sediaan cair 10,0 ml. Pada ekstrak daun *Annona muricata*. Rata-rata kadar kuersetin sebesar (12,62±3,29%) atau bila dikonversi dalam daun kering diperoleh 10,43 mg/g (Tabel 5). Kadar ini lebih tinggi daripada literatur yaitu 9,96 mg/g daun kering (Pieme et al, 2014). Perbedaan kadar inidapat disebabkan oleh berbagai factor, seperti lokasi tanaman, iklim, struktur tananah dan sebagainya.

Penetapan kadar kuersetin pada sediaan cair 10,0 ml dari ekstrak daun *Annona muricata* dilakukan setelah kadar kuersetin pada ekstrak daun *Annona muricata* diketahui. Pembuatan sediaan cair 10,0 ml dilakukan dengan menimbang 2,2401 g ekstrak daun *Annona*

Tabel 6. Penetapan Kadar Kuersetin di dalam Sediaan Cair 10,0 ml

Replikasi	Berat kuersetin (mg)
I	270,720
II	263,830
III	257,335
Rata-rata	263,96
SD	6,69
KV	2,54 %

muricata yang mengandung 280,0 mg kuersetin, ditambahkan sukrosa 65% dan ditambahkan aquades sampai batas tanda di labu ukur 10,0 ml. Penetapan kadar kuersetin pada sediaan cair 10,0 ml ini dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Hasil rata-rata dalam tiap 10,0 ml sirup adalah (263,96 ± 6,69) mg (Tabel 6).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa metode Spektrofotometri-UV dapat digunakan untuk penetapan kadar kuersetin dalam sediaan cair daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) 10,0 ml yang mengandung kuersetin 263,96±6,69 mg. Penetapan kadar kuersetin pada sediaan cair 10,0 ml dapat digunakan metode Spektrofotometri UV.

DAFTAR PUSTAKA

- Arman, E. (2012) *Penetapan Kadar Kuersetin dalam Plasma secara In Vitro Dengan Spektrofotometer Ultraviolet*, Padang: Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
- Departemen Kesehatan RI. (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, pp. 9-12.
- Departemen Kesehatan RI. (2008) *Farmakope Herbal Indonesia*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fatmawati, D., Suparmi, Yusuf, I. & Israhanto. (2018) 'Selektifitas antikanker ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) pada lini sel kanker payudara', *Bio-site*, 4(2), pp. 78-83.
- Kresnanugraha, Y. (2012) *Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase Dari Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Dari Fraksi Aktif*, Depok: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Farmasi, p. 22.
- Lakhanpal, P. & Kumar Rai, D.K. (2007) 'Quercetin: A Versatile Flavonoid', *Internet Journal of Medical Update*, 2(2).
- Mardiana, L. & Ratnasari, J. (2011) *Ramuan dan Khasiat Sirsak*, Depok: Penebar Swadaya.
- Merck and Company Incorporated. (2009) *The Merck*

Index, 13th edn. USA: Merck and Co., Inc.

Mulja, M. & Syahrani, A. (1989) *Aplikasi Analisis Spektrofotometri UV-Vis*, Surabaya: Mephiso Grafika.

Pertiwi, W., Arisanty, D. & Linosefa. (2020) 'Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* linn) Terhadap Viabilitas Cell Line Kanker Payudara T47D Secara In Vitro', *Jurnal Kesehatan Andalas*, 9(Supplement 1), pp. 165-170.

Pieme, C.A., Kumar, S.G., Dongmo, M.S., Moukette, B.M., Boyoum, F.F., Ngogang, J.Y. & Saxena, A.K. (2014) 'Antiproliferative activity and induction of apoptosis by *Annona muricata* (Annonaceae) extract on human cancer cells', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, p. 4.

Sejati, A.D. (2012) *Penetapan Kadar Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Air Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) dan Uji Sitotoksik pada Sel Kanker Payudara MCF-7 dari Tiga Daerah: Habasyah, India,*

Indonesia, Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Sorayanova, E. (2009) *Penetapan Kadar Kuersetin dalam Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dan Bawang Bombay (*Allium cepa* L.) secara Spektrofotometri Ultraviolet dengan Metode Adisi Baku*, Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.

USP Pharmacopeia. (2008) *The National Formulary 30th Edition*, The United State Pharmacopeia Convention.