

UJI PENETAPAN STABILITAS RETENTION TIME *Megestrole acetate* DALAM ELUENT MOBILE PHASE MENGGUNAKAN HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

THE STABILITY DETERMINATION TEST OF RETENTION TIME *Megestrole acetate* IN ELUENT MOBILE PHASE USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Siti Chusnul Cholifah ¹⁾, M. Lazuardi ²⁾, Dadik Rahardjo ²⁾, Lilik Maslachah ²⁾, M. Sukmanadi ²⁾, Rochmah Kurnijasanti ²⁾

¹⁾ Mahasiswa, ²⁾ Dosen

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Kampus C UNAIR, Jl. Mulyorejo-Surabaya 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993015

Email: jbmvnair@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the level of stability of *Megestrole acetate*-retention time in storage period for six, eight and 12 hours using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The research method used posttest-only control group design by using three treatments and six repetitions. The three repetitions consist into six hours, eight hours and 12 hours. The data were obtained analyzed by Summery Independent T-Test with SPSS 24 for windows. The result showed six hours retention time of *Megestrole acetate* is stable and eight hours treatment and 12 hours treatment are not stable there is one unstable point of 12 hours treatment that indicates the substance is break down. Based on those result, it could be concluded that the storage time of *Megestrole acetate* in Eluent Mobile Phase began to show unstable at eight hours of storage.

Key words: stability, *Megestrole acetate*, retention time, High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

PENDAHULUAN

Megestrole acetate (MA) merupakan steroid sintetik suatu progesteron yang biasanya digunakan sebagai agen antikanker oral pada kanker (Morton and Hall, 1999). Zat ini pertama kali disintesis di Inggris pada tahun 1963 yang telah diuji sebagai terapi kanker payudara dan terapi kanker endometrium. (Berenstein, 2004). Menurut Burquets (2010) *Megestrole acetate* juga menurunkan produksi serotonin dan sitokin (IL-1, IL-6, dan TNF- α) *in vitro* melalui sel *mononuclear perifer* pasien kanker.

Megestrole acetate memiliki berbagai manfaat sehingga banyak diproduksi sebagai obat sintesis jenis

hormonal baik dalam bentuk kapsul maupun cair, namun tetap perlu dilakukan uji kontrol kualitas produk dengan cara analisis laboratorium (Megace, 2012). Uji stabilitas merupakan ketahanan suatu produk sesuai dengan batas-batas tertentu selama penyimpanan dan penggunaannya atau umur simpan suatu produk yang masih mempunyai sifat dan karakteristik yang sama seperti waktu pembuatan (Sabdowati, 2015).

Terdapat beberapa hal yang dapat mempengaruhi uji stabilitas obat dari sediaan farmasi diantaranya adalah interaksi bahan aktif dengan bahan aktif lainnya, faktor lingkungan seperti temperatur, faktor lain seperti pH dan sifat pelarut (Connors *et. al.*, 1994).

Uji stabilitas terhadap *retention time* suatu zat dapat dilakukan dengan menggunakan alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) adalah teknik analisis yang banyak digunakan untuk identifikasi, pemisahan, deteksi, dan kuantifikasi obat dan degradasi yang terkait (Rao and Goyal, 2016). Menurut Susanti dan Dachriyanus (2014) keunggulan metode ini dibanding metode pemisahan lainnya terletak pada ketepatan analisis dan kepekaan yang tinggi serta cocok untuk memisahkan senyawa-senyawa non volatile yang tidak tahan pada pemanasan. Pengembangan proses HPLC penting dalam kasus penemuan obat, pengembangan obat dan analisis produk farmasi. Menurut Bird (1989) prinsip dasar kromatografi adalah molekul tidak hanya larut dalam cairan tetapi juga dapat melarutkan atau berinteraksi dengan sediaan padat. Molekul yang dilarutkan dalam cairan dilewatkan ke dalam kolom partikel padat yang bisa berinteraksi akan bergerak lebih lambat daripada pelarut dan membutuhkan beberapa waktu untuk dilarutkan dalam cairan.

Pengujian stabilitas *retention time Megestrole acetate* dilakukan dengan lama penyimpanan yang berbeda yaitu enam, delapan, dan 12 jam. Menurut Lazuardi dan Bambang (2018) ketentuan enam, delapan, dan 12 jam didasarkan atas pertimbangan struktur *Megestrole acetate* yang memiliki derivat dari androgenik hormon seperti progesteron, sehingga menurut peneliti tersebut dalam jarak antara enam hingga 12 jam memiliki wilayah yang stabil seperti pada progesteron.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Eluent Mobile Phase* yang terdiri dari *Water pro HPLC 30%* dan *Methanol pro HPLC 70%*. Menurut Lazuardi dan Bambang (2017) penggunaan *Eluent Mobile Phase* memiliki viskositas rendah dan memiliki kelarutan yang tinggi terhadap

Megestrole acetate ketika di dalam kolom sehingga tidak menyebabkan tekanan menjadi tinggi di dalamnya. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan non polar. Metanol juga dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Astarina dkk., 2013).

Manifestasi pembacaan hasil kromatografi yang digunakan sebagai dasar dari identifikasi analit *Megestrole acetate* adalah nilai *retention time* kromatogram. Menurut Megace (2012) *Megestrole acetate* memiliki sifat tidak stabil terutama dalam suasana asam, sementara teknik pembacaan yang dilakukan menggunakan pelarut asam supaya konsep adsorpsi-partisi dapat terjadi.

Suasana asam dari pelarut dan komponen pengikutnya di dalam kolom HPLC memiliki keterbatasan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap uji stabilitas *Megestrole acetate* untuk mengetahui stabilitas sampel, reagen dan baku pada waktu tertentu (Gandjar dan Rohman, 2014).

Menurut Nuriyazizah (2017) Uji stabilitas *retention time* dilakukan supaya dapat mengetahui daerah paling stabil dalam daerah yang beresiko tidak stabil. Daerah beresiko tidak stabil merupakan daerah dengan waktu yang struktur molekul zat atau analit menjelang pecah akibat rendaman pelarut, sehingga beresiko menghasilkan banyak partisi hasil pecahan karena terikat pada fase diam di dalam kolom dan sebagai manifestasinya akan ditemui pecahan-pecahan *peak* (Lazuardi dan Bambang, 2018).

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Bahan dan Sampel Penelitian

Standar *Megestrole acetate*, *Water pro HPLC* (Merck), *Methanol pro HPLC* (Merck), Aquades.

Pembuatan Larutan Induk *Megestrole acetate*

Megestrole acetate diambil sebanyak 9,2 mg kemudian ditambah larutan metanol sebanyak 1 ml setelah itu divortex supaya larut. Larutan induk lalu dibuat pengenceran menjadi 20ppm ke dalam botol dengan mengambil larutan campuran tersebut sebanyak 100µl dan ditambahkan *Eluent Mobile Phase* (EMP) yang terdiri dari *Water pro HPLC* 30% dan *Methanol pro HPLC* 70% sebanyak 360µl kemudian divortex kembali dan disimpan di dalam ruang pendingin dengan suhu 4°C berdasarkan tiga perlakuan yaitu lama penyimpanan enam, delapan, dan 12 jam.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Spektrum diatur pada panjang gelombang 254 nm menggunakan Spektrofotometer *UV-Visible*.

Penentuan Kondisi Optimum

Larutan *Eluent Mobile Phase* (EMP) yang terdiri dari fraksi *Water pro HPLC* 30% dan *Methanol pro HPLC* 70% (pH 6,8-7) dibuat dan diinjeksi menggunakan *injector rheodyne* universal dengan volume injeksi 40 µL kemudian dilihat dan dalam gerbang suntik dua kali kapasitas gerbang suntik. Hasil *retention time Megestrole acetate* diperhatikan kromatogram pengganggu lainnya di depan atau di belakang analit. Nilai alfa (selektifitas) yang ditentukan tidak boleh sama dengan satu.

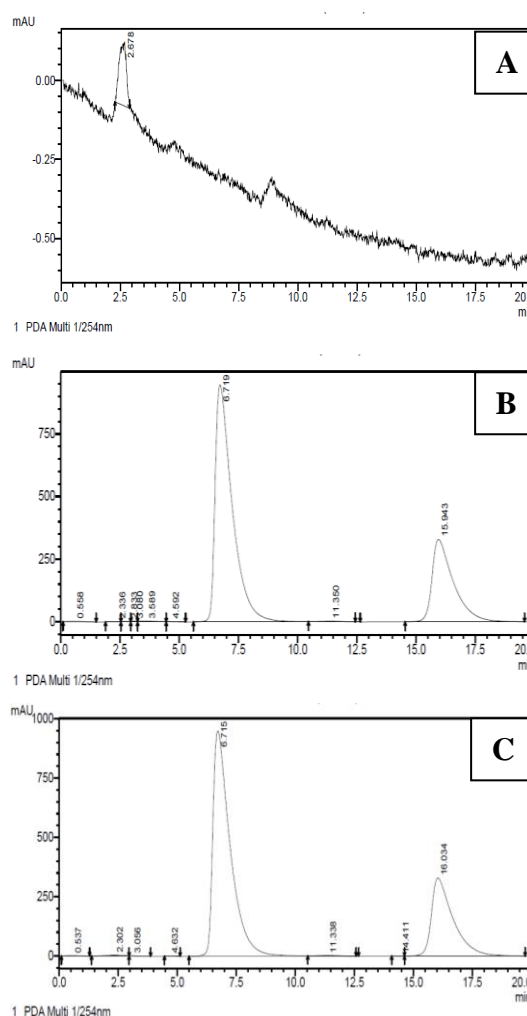
Analisis Data

Data berupa kuantitatif hasil *retention time* kromatogram dianalisis menggunakan *Summary Independent T-Test* dalam aplikasi *SPSS 24 for windows Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS).

HASIL PENELITIAN

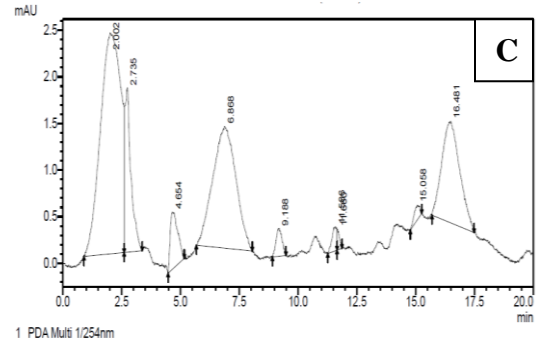
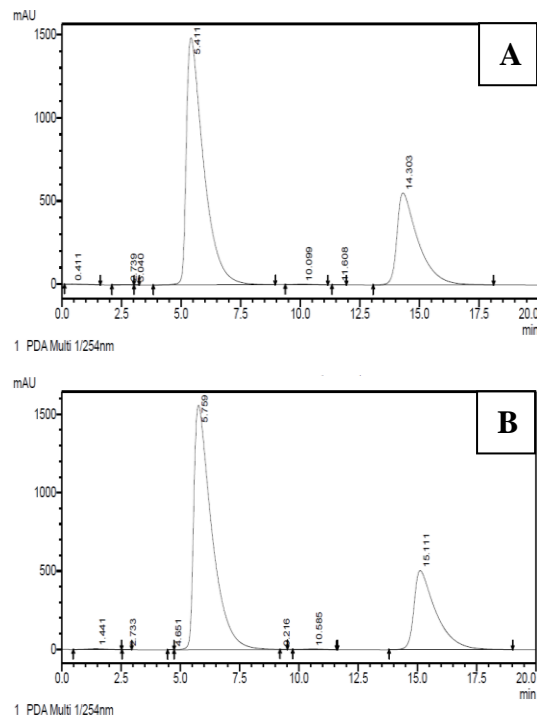
Tabel 1 Jumlah rata-rata *retention time Megestrole acetate* yang dilarutkan dalam EMP dalam waktu penyimpanan enam, delapan dan 12 jam yang diinjeksi pada *High Performance Liquid Chromatography*

Lama waktu penyimpanan	Mean ± SD
P1 (6 Jam)	6,360 ± 0,504
P2 (8 Jam)	5,550 ± 0,327
P3 (12 Jam)	5,237 ± 1,509

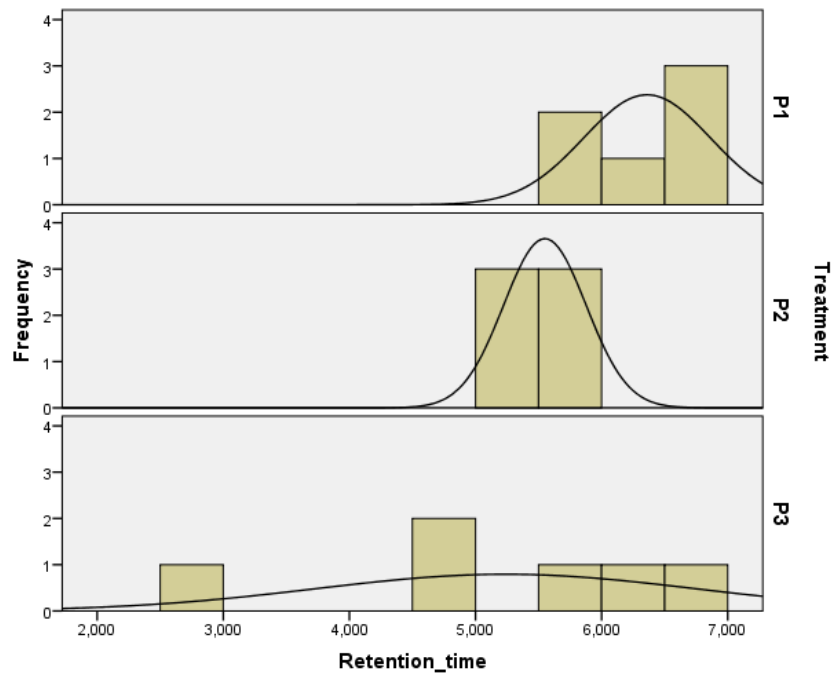


Gambar 1 Hasil kromatogram: (A) kontrol dilakukan penyuntikan larutan EMP (B) kontrol *Megestrole acetate* (crm) dalam pelarut EMP tanpa waktu penyimpanan (C) *Megestrole acetate* (crm) terlarut dalam pelarut EMP selama enam jam pada HPLC,

pengenceran 20ppm, kecepatan aliran 0,3µl/menit, λ= 254nm, menggunakan kolom ODS/C-18



Gambar 2 Hasil Kromatogram: (A) *Megestrole acetate* (crm) terlarut dalam pelarut EMP selama delapan jam tidak stabil (B) *Megestrole acetate* (crm) terlarut dalam pelarut EMP selama 12 jam yang tidak stabil (C) *Megestrole acetate* (crm) terlarut dalam pelarut EMP selama 12 jam yang tidak stabil dengan *irrelevant peak* pada HPLC, pengenceran 20ppm, kecepatan aliran 0,3µl/menit, λ=254nm, menggunakan kolom ODS/C-18



Grafik 1 Histogram hasil penyimpanan enam, delapan, dan 12 jam *Megestrole acetate* dalam pelarut *Eluent Mobile Phase* menggunakan *High Performance Liquid Chromatography*

Hasil dari sampel *Megestrole acetate* dalam pelarut *Eluent Mobile Phase* pada penyimpanan enam dan delapan jam dengan enam pengulangan memperlihatkan adanya puncak maksimum *retention time* \pm pada menit ke 6 dan 5, selanjutnya data pada Tabel 1 diolah dengan program SPSS 24 for windows menggunakan *Summary Independent T-Test* menunjukkan nilai *Sig.(2-tailed)* $0,008 \leq 0,05$ terdapat perbedaan yang berarti pada enam jam masih menunjukkan kestabilan, namun setelah delapan jam mulai menunjukkan ketidakstabilan *Megestrole acetate* (crm). Hasil dari sampel *Megestrole acetate* dalam pelarut *Eluent Mobile Phase* pada penyimpanan 12 jam dengan enam pengulangan memperlihatkan adanya puncak maksimum *retention time* \pm pada menit ke 5. Gambar 2 tidak sesuai kontrol *Megestrole acetate* menggambarkan \pm pada menit ke 5 sejumlah satu yang sudah tidak stabil.

Pengujian statistik pada perlakuan delapan dan 12 jam yang dianalisis berdasarkan Tabel 1 dengan *Summary Independent T-Test* menunjukkan nilai *Sig.(2-tailed)* $0,631 \geq 0,05$ tidak terdapat perbedaan yang berarti pada penyimpanan delapan dan 12 jam sudah tidak stabil dan salah satu uji penyimpanan 12 jam terdapat puncak *irrelevant peak* yang mengikuti, menunjukkan banyak zat mulai pecah dan rusak.

Hasil kromatogram dari sampel kontrol pelarut *Eluent Mobile Phase* yang diinjeksikan 40 μ l tanpa ditambahkan *Megestrole acetate* memperlihatkan tidak adanya puncak maksimum *retention time* (Gambar 1A). Pada menit 2,678 merupakan gambaran mulai masuknya sampel kontrol pelarut *Eluent Mobile Phase* ke dalam gerbang suntik (*Rheodyn*) yang berarti pada saat itu juga terjadi proses adsorpsi-partisi oleh kolom analitik. Daerah analit puncak *impurity* pengotor pada menit 2,678 mendapatkan resolusi α (alfa) dari metode yang digunakan sangat

sempurna yang berarti $\alpha \neq 1$. Sampel kontrol disuntikan melalui gerbang suntik kemudian ditutup oleh *valve* terjadi pengaruh bising listrik dan proses gerakan sentripetal dan sentrifugal dari gerakan pelarut *Eluent Mobile Phase* dalam *tubing* HPLC.

Hasil kromatogram kontrol dari sampel *Megestrole acetate* tanpa dilarutkan dalam EMP dan tanpa waktu penyimpanan memperlihatkan adanya puncak maksimum *retention time* pada menit 6,719 (Gambar 1B) yang menunjukkan bahwa *Megestrole acetate* (crm) stabil pada menit tersebut. Pada Gambar 1C merupakan hasil kromatogram dari sampel *Megestrole acetate* yang terlarut dalam EMP dengan suhu 26,7°C dan pH 6,88 pada waktu enam jam antara pembuatan larutan analit dan waktu injeksi dengan enam pengulangan menunjukkan adanya puncak maksimum *retention time* yang masih stabil \pm pada menit ke 6.

Gambar 2A merupakan hasil kromatogram dari sampel *Megestrole acetate* yang terlarut dalam EMP dengan suhu 25,2°C dan pH 6,86 terjadi pada penyimpanan delapan jam dengan enam pengulangan menunjukkan adanya puncak maksimum *retention time* \pm pada menit ke 5. Sedangkan hasil kromatogram dari sampel *Megestrole acetate* yang terlarut dalam EMP dengan suhu 23,2°C dan pH 6,85 pada waktu 12 jam antara pembuatan larutan analit dan waktu injeksi dengan enam pengulangan menunjukkan adanya puncak maksimum *retention time* tidak stabil \pm pada menit ke 5 (Gambar 2B) dan disertai *irrelevant peak* seperti pada Gambar 2C.

PEMBAHASAN

Pengujian *retention time* *Megestrole acetate* dalam fase gerak *Eluent Mobile Phase* (EMP) berdasarkan waktu lama penyimpanan. Stabilitas secara arti luas didefinisikan sebagai ketahanan suatu produk sesuai dengan batas-batas

tertentu selama penyimpanan dan penggunaannya atau umur simpan suatu produk dimana produk tersebut masih mempunyai sifat dan karakteristik yang sama seperti pada waktu pembuatan (Sabdowati, 2015). Tujuan pengujian stabilitas adalah untuk memberikan bukti tentang bagaimana kualitas zat obat atau produk obat bervariasi dari waktu ke waktu di bawah pengaruh berbagai faktor-faktor (Cione *et al.*, 2010).

Uji stabilitas *Megestrole acetate* diuji berdasarkan parameter perbedaan waktu lama penyimpanan. Waktu yang ditentukan dalam pengujian sampel adalah enam, delapan, dan 12 jam. Menurut Lazuardi dan Bambang (2018) ketentuan enam, delapan, dan 12 jam didasarkan atas pertimbangan struktur *Megestrole acetate*. Struktur *Megestrole acetate* adalah derivat dari androgenik hormon seperti progesteron, sehingga menurut peneliti tersebut dalam jarak antara enam hingga 12 jam memiliki wilayah yang stabil seperti pada progesteron. Perlakuan kontrol berupa pelarut *Eluent Mobile Phase* (EMP) yang terdiri dari fraksi *Water pro* HPLC 30%, *Methanol pro* HPLC 70%, (pH 6,8-7) tidak menunjukkan adanya puncak *retention time* karena *Eluent Mobile Phase* merupakan fase gerak (*Mobile*) sehingga tidak boleh ada puncak apapun dalam analit tersebut. Jika terdapat ada puncak pada analit kontrol *Eluent Mobile Phase* (EMP), berarti kolom tersebut tidak mengalami proses pembersihan atau EMP tersebut terkontaminasi oleh larutan yang lain. Pada perlakuan kontrol larutan *Megestrole acetate* (crm) tanpa lama penyimpanan menunjukkan puncak *retention time* pada menit ke 6 berarti *Megestrole acetate* stabil pada waktu tersebut. Pada perlakuan interval lama penyimpanan enam jam terdapat enam pengulangan yang stabil. Pada perlakuan interval lama penyimpanan delapan jam terdapat enam pengulangan sudah tidak stabil. Prinsip adsorpsi-partisi tidak sempurna yang

menyebabkan jarak interval waktu delapan jam tidak stabil lagi karena kemampuan mengikat stasioner fase diam tidak bisa seluruhnya mengikat *Megestrole acetate* semua yang sudah terlalu lama dalam pelarut EMP.

Pada perlakuan interval lama penyimpanan 12 jam terdapat enam pengulangan yang terdiri dari lima tidak stabil dan satu tidak stabil dengan *irrelevant peak*. Hal tersebut menunjukkan bahwa *Megestrole acetate* pada perlakuan 12 jam sudah tidak stabil karena lamanya penyimpanan *Megestrole acetate* yang dilarutkan dalam *Eluent Mobile Phase* (EMP). Disamping itu terdapat *irrelevant peak* yang muncul menunjukkan banyaknya fraksi molekul murni yang terpisah pada fase diam sehingga struktur molekul zat mulai rusak atau pecah.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Sabdowati (2015) yang menyebutkan bahwa banyak faktor yang mempengaruhi stabilitas dari sediaan farmasi, antara lain stabilitas bahan aktif, interaksi antara bahan aktif dengan bahan tambahan, proses pembuatan bentuk sediaan, kemasan, cara pengemasan dan kondisi lingkungan yang dialami selama pengiriman, penyimpanan, penanganan dan jarak waktu antara pembuatan dan penggunaannya. Faktor lingkungan seperti temperatur, radiasi cahaya dan udara (khususnya oksigen, karbondioksida, dan uap air), pH, sifat dalam air dan sifat pelarutnya dapat mempengaruhi stabilitas obat (Osol *et al.*, 1980). Obat yang disimpan dapat membuat obat yang ada didalam matriks biologis dapat terurai sehingga tidak dapat terdeteksi saat sampel dianalisis (Kurniawati, 2016).

Bahan aktif *Megestrole acetate* diketahui memiliki struktur molekul berikatan kuat yang sulit terputus, maka diperlukan energi yang tinggi untuk memutuskannya. Struktur yang memiliki bentuk cincin aromatik tunggal maupun ganda tanpa tambahan

gugus penarik elektron rata-rata memiliki kemampuan resonansi, dengan demikian perpindahan energi awal orbital sangatlah tinggi, itulah yang menyebabkan zat tersebut sangat stabil. Seandainya struktur aromatik tersebut mengandung gugus-gugus elektron kuat maka keseimbangan resonansi energi yang dimilikinya akan terganggu. Apabila molekul terlarut sempurna pada pelarut *Eluent Mobile Phase* maka resiko putus ikatan semakin tinggi. Hal itu disebabkan ikatan O paling ujung akan terikat pada gugus positif dari pelarutnya sehingga senyawa ini bila disimpan dalam EMP lebih dari delapan jam akan terpisah akibat proses adsorpsi-partisi dari kolom, maka akan muncul anak kromatogram yang tidak stabil. Ikatan yang paling memungkinkan bertahan adalah enam jam, disebabkan faktor daya tarik-menarik ujung O masih belum begitu kuat dengan energi resonansi pada molekul-molekulnya (Lazuardi dan Bambang, 2017).

Apabila struktur *Megestrole acetate* terputus saat berada dalam kolom HPLC maka ada tiga kemungkinan yang terjadi: (1)seluruh molekul yang dimiliki tidak bisa terdeteksi sehingga tidak memunculkan kromatogram, (2)struktur molekul terdeteksi tetapi area pendeteksian menjadi kecil, dan (3)semua dapat terdeteksi sehingga memunculkan *irrelevant peak*. Sementara diketahui bahwa pada fase diam memiliki kejenuhan waktu tertentu yang artinya kemampuan untuk mengikat analit berbanding lurus dengan kemampuan permukaan Oktatdensisilat (ODS/C18) menangkap analit itu. Apabila struktur yang sudah tidak stabil diinjeksikan ke dalam kolom yang sudah jenuh maka resiko ketigalah yang akan muncul, untuk menghindari hal tersebut dilakukan: (1) *System Suitability Testing* (SST) dengan cara menyuntikkan *Eluent Mobile Phase* hingga tidak terjadi *irrelevant peak*. Apabila SST sudah memenuhi syarat

maka kolom tersebut layak dipakai dengan ciri-ciri tekanan kolom stabil. Kolom yang memiliki kesiapan dalam pemakaian zat *Megestrole acetate* yang diinjeksikan maka akan muncul seperti Gambar 1C pada lama penyimpanan enam jam. Sebagai ilustrasi struktur molekul yang telah pecah sehingga sudah mulai tidak stabil dan kemampuan kolom yang perkiraan sudah jenuh seperti Gambar 2 pada lama penyimpanan delapan dan 12 jam. (2) memastikan tekanan di dalam kolom tidak naik. Pada keadaan demikian analisis harus dihentikan artinya *Eluent Mobile Phase* tetap berjalan namun tidak diperlukan penyuntikkan analit.

Menurut Lazuardi dan Bambang (2018) proses pembuatan sediaan mempengaruhi kestabilan suatu zat yang berarti apabila analit mudah larut dalam pelarut *Eluent Mobile Phase* (EMP) sementara tingkat keasaman pelarutnya semakin tinggi maka molekul yang dilarutkan akan mudah pecah sehingga diperlukan pelarut yang baru. Semakin lama pelarut tersebut disimpan tingkat keasamannya akan meningkat dan apabila pelarut tersebut digunakan maka akan muncul pecahan molekul bahan aktif obat tersebut.

Kemasan mempengaruhi tingkat stabilitas analit dalam pelarut *Eluent Mobile Phase* (EMP), oleh sebab itu kemasan yang mampu tertembus sinar matahari harus dihindarkan dalam penelitian ini kemasan selalu dibungkus dengan Alumunium foil. Cara pengemasan dan kondisi lingkungan juga mempengaruhi stabilitas sediaan analit sebagai contoh pengemasan dalam penelitian ini menggunakan wadah khusus yang tidak boleh dicuci kembali dengan demikian tidak akan terkontaminasi zat lain. (Lazuardi dan Bambang, 2017).

Ketidakstabilan produk obat dapat mengakibatkan terjadinya penurunan sampai hilangnya khasiat obat. Obat dapat berubah menjadi toksik atau terjadinya perubahan penampilan

sediaan seperti warna, bau, rasa, dan konsistensi yang mengakibatkan kerugian pada pemakainya (Lachman *et al.*, 1994).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa lama penyimpanan *Megestrole acetate* yang dilarutkan dalam pelarut *Eluent Mobile Phase* (EMP) menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) mulai menunjukkan tidak stabil pada waktu delapan jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Astarina, N.W.G., Asturi, K.W., dan Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb). Bali: Universitas Udayana. 2(4).
- Berenstein, E.G. and Ortiz, Z. 2004. Megestrol Acetate for The Treatment of Anorexia-Cachexia Syndrom (Protocol for A Cochrane Review). In: The Cochrane Library. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd (4).
- Bird, I.M. 1989. High Performance Liquid Chromatography: Principles and Clinical Applications. British Medical Journal. 299: 783-787.
- Burquets, S. 2010. Megestrol Acetate: Its Impact on Muscle Protein Metabolism Support Its Use in Cancer Cachexia. Clinical Nutrition. Spain: Universitat de Barcelona. 29: 733-7.
- Cione, A.P.P., Liberale, M.J., and da Silva, P.M. 2010. Development and Validation of an HPLC Method for Stability Evaluation of nystatin. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 46: 305-310.
- Connors, K.A., Amidon, G.L., and Stella, V.J. 1994. Chemical Stability of Pharmaceuticals. John Willey and Sons. New York. 8-17.
- Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2014. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta : Pustaka Belajar.
- Kurniawati, A. 2016. Validasi Metode Analisis Etil p-metoksisinamat dalam Plasma secara In Vitro menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) [Skripsi]. Jakarta. 58.
- Lachman, L., Lieberman, H. A., and Kanig, J.L. 1994. Teori dan praktek farmasi industry (Edisi III) Penerjemah S. Suyatmi. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Lazuardi, M. and Bambang H. 2017. High-Performance Liquid Chromatography Ultraviolet Photodiode Array Detection Method for Aflatoxin B1 in Cattle Feed Supplements. Veterinary World. 932-938.
- Lazuardi, M. and Bambang H. 2018. Technique Separation Phyto-hormones of Progesterone on Crude Extract Benalu Duku Leaf By Analytical Column of High Performance Liquid Chromatography. Book Section. Universitas Airlangga: Surabaya.
- Megace [package insert]. Princeton, NJ: Bristol-Myers Squibb Company; 2012.
<http://www.rxlist.com/megace-drug.htm> Diakses pada 18 Juni 2018 10:30 WIB.
- Morton, Land and Hall, Judith. 1999. Concise Dictionary of Pharmacological Agents: Properties and Syndroms. Springer. 173.

- Nuriyazizah, Amanda. 2017. Uji Stabilitas Waktu Tambat Kromatogram Clenbuterol Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi [Skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Rao, Gunjan dan Goyal, Anju. 2016. An Overview on Analytical Method Development and Validation by Using HPLC. India: B.N. Institute of Pharmaceutical Sciences, Udaipur. 3(2):280-289.
- Sabdowati, R.A. 2015. Uji Stabilitas Obat Spironolakton Terhadap Perubahan pH dengan Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) [Skripsi]. Jakarta UIN Syarif Hidayatullah.
- Susanti, Meri dan Dachriyanus. 2014. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Padang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.