

## Analisis Etakridin Laktat pada Daging Ayam dengan Metoda Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

<sup>1</sup>Linda Susilawati, <sup>2</sup>Anggi arumsari, <sup>3</sup>Rully Nugraha

<sup>1,2,3</sup>Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung.

Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116

e-mail: <sup>1</sup>indhaSusilawati@yahoo.com, <sup>2</sup>anggiarumsari@yahoo.com, <sup>3</sup>rully\_np@yahoo.com

**Abstrak:** Pada penelitian kali ini telah dilakukan analisis terhadap residu etakridin laktat yang berada didalam daging ayam dengan menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT Agilent 1220 dengan menggunakan kolom Zorbax C-18 (250 x 4,6 mm), fase gerak methanol: 0,05% sodium dodecylsulfonate pH 3 (85:15) dengan laju alir 1,5 mL/menit dan detektor UV dengan panjang gelombang 272 nm. Daging ayam dipreparasi dengan penambahan trikloroasetat 1% (TCA) dan digunakan pelarut asetonitril, preparasi dilakukan melalui tahapan sentrifugasi dan Ekstraksi Cair-Cair (ECC). Hasil kualitatif menunjukkan daging ayam mengandung etakridin laktat dengan ditandai perubahan warna merah setelah direaksikan dengan NaOH, dan hasil KLT, menunjukan nilai Rf sebesar 0,75. Analisis kuantitatif menunjukan kadar pada sampel sebesar 377,5 ppm. Hasil kurva kalibrasi menghasilkan linieritas yang baik yaitu ( $r^2=0,993$ ). Nilai akurasi yang didapat pada konsentrasi 20 ppm adalah 258,205%, 30 ppm adalah 232,478%, dan 40 ppm adalah 184,969%. Hasil presisi yang di dapat darinilai simpangan baku relatif (RSD) adalah 0,6546 % telah memenuhi syarat RSD < 2%, Batas deteksi yaitu 5,198 ppm dan batas kuantisasi yaitu 17,327 ppm.

**Kata kunci :** daging ayam, etakridin laktat, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

### A. Pendahuluan

Pada zaman modern ini perkembangan dunia kuliner di Indonesia telah mengalami perkembangan yang cukup baik. Pada dasarnya masyarakat membutuhkan makan untuk memenuhi kehidupannya sehari-hari. Salah satu kuliner yang berkembang saat ini yaitu olahan daging ayam.

Dengan meningkatnya konsumsi daging ayam, menyebabkan ketidaktelitian masyarakat dalam memilih makanan yang dikonsumsi. Hal ini menyebabkan masyarakat tidak mengetahui kandungan yang ada di daging ayam. Selama ini para penjual yang tidak bertanggung jawab menambahkan bahan-bahan yang berbahaya pada daging ayam berupa rivanol. Etakridin laktat, dengan nama dagang Rivanol<sup>®</sup> digunakan pada olahan ayam untuk membuat ayam menjadi lebih lunak (Sera, 2012).

Berdasarkan peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan bab 1 pasal 1 ayat 1 bahwa Bahan Tambahan Pangan (BTP) adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan. Etakridin laktat merupakan salah satu bahan yang tidak termasuk ke dalam BTP hal ini membuat etakridin laktat tidak dibenarkan dalam penggunaannya dalam makanan. Jika etakridin laktat dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama akan menimbulkan terjadinya penyakit kanker. Etakridin laktat dapat dianalisis diantaranya dengan menggunakan instrumen HPLC dan pemantauan KLT (BPOM, 2013: 2-3).

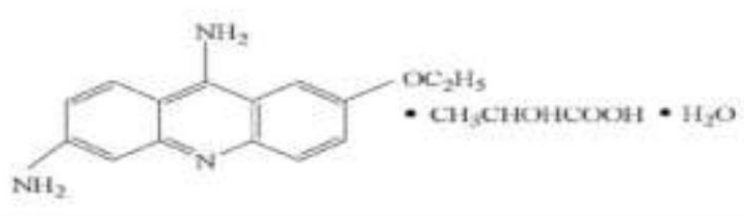
Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis secara kuantitatif dan kualitatif etakridin laktat didalam daging ayam dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi.

### B. Landasaan Teori

Ayam broiler merupakan ayam hasil budidaya peternakan yaitu ayam pedaging. Daging ayam merupakan jenis bahan pangan yang bernilai gizi tinggi dan berperan penting dalam memperbaiki kualitas sumberdaya manusia. Penggolongan ayam berdasarkan produk atau jasa utama yang dihasilkan oleh ayam untuk kepentingan manusia menurut tujuan pemeliharanya dibagi atas beberapa tipe: petelur, pedaging, aduan. Daging unggas tersusun atas komponen bahan pangan seperti, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan air. Komposisi daging tersebut akan tergantung pada macam otot atau daging, jenis kelamin, umur dan spesies (Riskawati, 2006:3).

Etakridin laktat merupakan serbuk hablur, kuning, tidak berbau, rasa sepat dan pahit. Etakridin laktat larut dalam 50 bagian air, dan 9 bagian air panas dan dalam 100 ml etanol (95%) P mendidih. Berat molekul etakridin laktat adalah 361,41. Nama lain dari etakridin laktat yaitu rivanol dengan nama IUPAC 2-(etoksi-6,9-diaminoakridina monolaktat) (Depkes R.I, 1979: 62)..

Sifatnya tidak terlalu menimbulkan iritasi dibandingkan dengan povidon iodine (yodium).x



Struktur etakridin laktat (Depkes RI, 1979: 62)

Etakridin laktat merupakan senyawa turunan akridin bekerja sebagai antibakteri dengan mengikat secara kuat asam nukleat, menghambat sintesis DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein (Siswandono, 1995).

Sebagai obat pengkompres luka rivanol dapat juga digunakan sebagai obat cuci luka, dan obat kulit. Senyawa dari ammonium kuartener dapat bersifat bakteristatis dan bakterisid tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Etakridin laktat umumnya merupakan derivat dari basa amonium kuartener, merupakan turunan akridin. Efektivitas etakridin laktat cenderung lebih kuat pada bakteri gram positif dari pada gram negative (Mansjoer, 2000:390; WHO, 2004).

Etakridin laktat merupakan antimikroba yang mempunyai mekanisme umumnya kurang selektif. Antimikroba yang mempengaruhi sintesis asam nukleat dan protein. Antimikroba mempengaruhi proses transkripsi dan pembentukan aminoacyl tRNA. Antimikroba yang mempengaruhi sintesis protein dan asam nukleat, mayoritas aktif pada bagian translasi, salah satu contoh antimikroba tersebut yaitu rivanol (Gupte, 1990).

Penyalahgunaan Etakridin laktat yang digunakan sebagai bahan tambahan pada pengolahan daging ayam dimaksudkan untuk melunakkan dan proses pengolahan menjadi lebih singkat.

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas (Depkes RI, 1995:1002).

Berdasarkan pada mekanisme pemisahannya, kromatografi dibedakan menjadi:

(a) kromatografi adsorpsi; (b) kromatografi partisi; (c) kromatografi pasangan ion; (d) kromatografi penukaran ion; (e) kromatografi eklusi ukuran; dan (f) kromatografi afinitas.

Pada penelitian ini digunakan kromatografi cair kinerja tinggi. Metode ini memiliki sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sensitif telah menyebabkan perubahan kromatografi kolom cair menjadi suatu sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. (Depkes RI, 1995: 1009; Gandjar, 2007: 378-379)

Mekanisme kerja KCKT adalah dengan bantuan pompa fase gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor. Cuplikan dimasukkan ke dalam aliran fase gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran. Karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut-solut terhadap fase diam. Solut-solut yang kurang kuat interaksinya dengan fase diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Setiap komponen campuran yang keluar kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram (Hendayana, 2006: 69).

Kromatografi merupakan teknik yang mana solut atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut ini diatur oleh distribusi solut dalam fase gerak dan fase diam (Gandjar, 2007: 379). Instrumentasi KCKT pada dasarnya terdiri atas delapan komponen pokok yaitu wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung, dan suatu komputer atau integrator atau perekam (Gandjar, 2007: 379).

Validasi metode menurut United States Pharmacopeia (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis bersifat akurat, spesifik, reproduisible, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis (Gandjar, 2007: 465).

Validasi merupakan aksi konfirmasi bahwa metode analisis yang akan digunakan sesuai dengan tujuan yang diinginkan. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kerjanya cukup mampu untuk mengatasi problem analisis (Rohman, 2009: 217).

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relative dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan spiking pada suatu sampel (Gandjar, 2007: 465). Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil –hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang membangun antara respon (y) dengan konsentrasi (x).

Ekstraksi cair-cair berguna untuk memisahkan analit yang dituju dari pengganggu dengan cara melakukan partisi sampel antara 2 pelarut yang tidak saling

bercampur. Salah satu fasenya seringkali berupa air dan fase yang lain adalah pelarut organik seperti kloroform atau petroleum eter. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan ditemukan di dalam fase air, sementara senyawa-senyawa yang bersifat hidrofobik akan masuk pada pelarut organik. Analit yang terekstraksi ke dalam pelarut organik akan mudah diperoleh kembali dengan cara penguapan pelarut, sementara analit yang masuk ke dalam fase air seringkali diinjeksikan secara langsung ke dalam kolom. (Rohman, 2009: 30-31).

Pada kromatografi lapis tipis, zat penjerap merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapisi pada lempeng kaca, plastik atau logam secara merata, umumnya digunakan lempeng kaca. Lempeng yang dilapisi dapat dianggap sebagai kolom kromatografi terbuka dan pemisahan yang tercapai dapat didasarkan pada adsorpsi, partisi, atau kombinasi kedua efek, tergantung dari jenis zat penyangga, cara pembuatan, dan jenis pelarut yang digunakan (Depkes RI, 1995: 1004).

Beberapa keuntungan kromatografi lapis tipis adalah (Rohman, 2009: 45-46).

1. KLT memberikan fleksibilitas yang lebih besar, dalam hal memilih fase gerak.
2. Berbagai macam teknik untuk optimasi pemisahan seperti pengembangan 2 dimensi, pengembangan bertingkat, dan pembacaan penjerap dapat dilakukan pada KLT.
3. Proses kromatografi dapat diikuti dengan mudah dan dapat dihentikan kapan saja.
4. Semua komponen dalam sampel dapat dideteksi.

### **C. Metodologi Penelitian**

Analisis dilakukan terhadap etakridin laktat yang terkandung dalam daging ayam yang diolah menggunakan etakridin laktat sebagai pengempuk daging. Penelitian diawali dengan pembuatan daging ayam yang diempukkan dengan penambahan rivanol.

Rivanol yang terdapat dalam daging ayam diekstraksi sehingga mendapatkan larutan yang diduga mengandung rivanol, kemudian ditambahkan dengan aquabidest lalu dilakukan serangkaian analisis. Kondisi pengujian dilakukan dengan kromatografi cair kinerja tinggi yang digunakan untuk analisis etakridin laktat menggunakan kolom Zorbax C-18 (250 x 4,6 mm) sebagai fasa diam, dan fase gerak yaitu methanol : 0,05% sodium dodecylsulfonate dengan perbandingan (85:15), laju alir 1,5 mL/menit, dan detektor yang digunakan adalah detektor UV dengan panjang gelombang 272 nm.

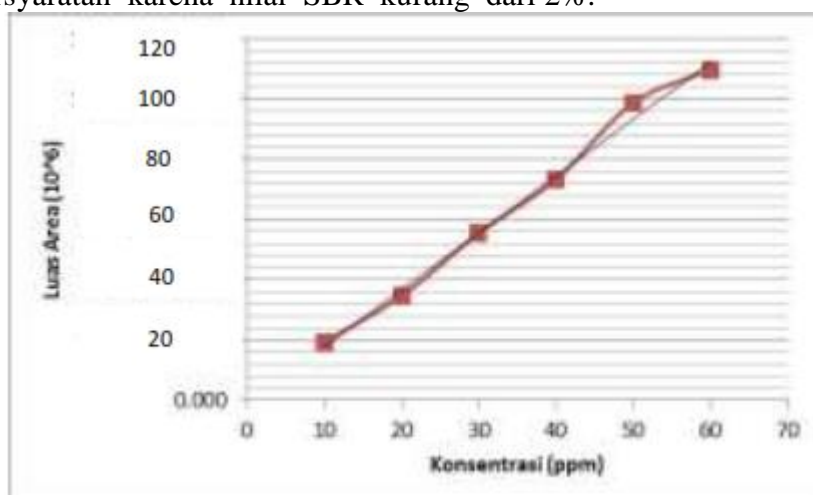
Etakridin laktat dalam daging ayam dianalisis dengan pengujian kerja analitik yang meliputi linieritas, akurasi, presisi, dan penetapan batas deteksi. Pengerjaan ekstraksi dan analisis rivanol dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi dilakukan di Laboratorium Penelitian Farmasi, FMIPA, Unisba, Bandung.

### **D. Hasil Penelitian dan Pembahasan**

Uji kesesuaian sistem dilakukan bertujuan untuk memastikan bahwa instrument KCKT yang digunakan telah siap digunakan.

Konsentrasi	Luas Area
1	29793949
2	30060558
3	29891691
4	30265868
5	30634813
6	30592261
7	30609061
Jumlah	211848201
Rata-rata	30264028.71
SD	357136.4641
SBR	0.011800691

Dari data diatas dihasilkan perhitungan yang mendapatkan nilai simpangan baku relatif (SBR) sebesar 1,18 %. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode ini memenuhi persyaratan karena nilai SBR kurang dari 2%.



**Gambar** Kurva Kalibrasi

Dari hasil kurva kalibrasi didapat persamaan garis  $y = -850965,333 + 1889258,343x$ , dan nilai koefisien korelasi yaitu 0,993. Nilai koefisien korelasi ( $r$ ) kalibrasi standar etakridin laktat yang didapat mendekati 1 sehingga dapat disimpulkan bahwa pengujian ini memenuhi syarat karena nilai koefisien korelasi ( $r$ ) mendekati 1.

Validasi metode analisis dilakukan bertujuan untuk menjamin bahwa metode yang dikerjakan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Parameter-parameter yang digunakan yaitu linieritas, akurasi (kecermatan), presisi (kesesamaan), batas deteksi, dan batas kuantisasi.

Linieritas dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan (Rohman, 2009: 230).

Dihasilkan persamaan regresi linier yaitu  $1889258,343x - 850969,333$  dengan

koefisien korelasinya 0,993. Analisis tersebut valid karena nilai koefisien korelasinya ( $r$ ) mendekati 1. Dari persamaan tersebut selanjutnya diperoleh harga simpangan baku residual ( $Sy/x$ ) sebesar 3273627,123. standar deviasi ( $Sx_0$  atau SD) 1,732757796 dan koefisien variansi ( $Vx_0$ ) 4,951%. Berdasarkan nilai tersebut bahwa nilai koefisiensi korelasi telah berdekatan dengan nilai 1 dan nilai koefisiensi variansi < 5% sehingga memenuhi persyaratan.

Nilai batas deteksi yang diperoleh dari perhitungan linieritas yaitu 5,198 ppm dan diperoleh batas kuantitasi yaitu 17,327 ppm.

Akurasi dilakukan bertujuan untuk melihat ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima sebagai nilai sebenarnya, dimana metode dengan proses satu sampel ditambahkan dengan larutan standar dengan tiga konsentrasi yang berbeda 20, 30, dan 40 ppm. Diperoleh data sebagai berikut ;

Tabel.Data Akurasi

Konsentrasi	Teoritis	Luas Area	Hasil Hitung	% Recovery	Rata" % Recovery
3.775 ppm + 20ppm	23.775	115617889	61.468	258.540	
3.775 ppm + 20ppm	23.775	112730322	60.12	252.871	258.205
3.775 ppm + 20ppm	23.775	117373613	62.577	263.205	
3.775 ppm + 30ppm	33.775	146715287	78.108	231.260	
3.775 ppm + 30ppm	33.775	148182302	78.88	233.546	232.478
3.775 ppm + 30ppm	33.775	147596661	78.57	232.628	
3.775 ppm + 40ppm	43.775	151633729	80.711	184.377	
3.775 ppm + 40ppm	43.775	152518071	81.179	185.446	184.969
3.775 ppm + 40ppm	43.775	152216449	81.02	185.083	

Dari data tersebut didapatkan persen perolehan kembali pada setiap konsentrasi dan hasil persen perolehan kembali yang didapat kemudian dirata-ratakan untuk konsentrasi 20 ppm adalah 258,205%, untuk 30 ppm adalah 232,478%, dan 40 ppm adalah 184,969%. Nilai akurasi perolehan kembali yang umum untuk senyawa dalam suatu campuran adalah kurang lebih  $\pm 80-120$  % dan dari hasil yang diperoleh untuk semua rata-rata nilai persen perolehan kembali pada 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm tidak sesuai dengan yang dipersyaratkan.

Presisi dilakukan bertujuan untuk melihat kedekatan hasil antara serangkaian percobaan analisis yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada sampel yang sama. Hasil data yang diperoleh sebagai berikut:

Dari presisi ini didapatkan nilai simpangan baku (SD) dan simpangan baku relatif (RSD). Uji presisi dilakukan untuk melihat kedekatan antara hasil uji yang dilakukan secara berulang pada sampel. Konsentrasi yang diambil untuk menghitung presisi ini adalah 30 ppm kemudian dilakukan penginjeksian sebanyak 6 kali. Dari hasil perhitungan didapatkan bahwa nilai simpangan baku (SD) adalah 0,5119, dan nilai simpangan baku relatif (RSD) adalah 0,6546 %. Suatu metode analisis dianggap baik jika memiliki nilai simpangan baku relatif sama dengan atau kurang dari 2%, sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil presisi memenuhi persyaratan dimana syaratnya adalah nilai simpangan baku relatif kurang dari 2%.

Hasil analisis kualitatif dari etakhrudin dengan metode KLT. Berdasarkan hasil menunjukkan bahwa setiap tahapan dari mulai proses sentrifuga, ECC, pemekatan

ekstrak, dan sebelum penginjeksian ke dalam HPLC semua tahapan menghasilkan hasil bercak dengan nilai Rf 0,75 hal ini menunjukkan bahwa bahan dipakai adalah benar etakridin laktat, selain itu fase gerak yang digunakan telah tepat, karena Rf yang dihasilkan berada pada kisaran 0,2-0,8. Pemantauan etakridin laktat pada sampel menggunakan KLT ini dilakukan terhadap filtrat asetonitril hasil sentrifuga, ekstraksi cair-cair menggunakan n-heksan.

#### **E. Kesimpulan dan Saran**

Analisis dilakukan secara kualitatif dengan identifikasi dilakukan dengan metode KLT. Berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh bercak dan Rf sama dengan standar yaitu sebesar 0,75. hal ini menunjukkan bahwa bahan dipakai adalah benar etakridin laktat, selain itu fase gerak yang digunakan telah tepat, karena Rf yang dihasilkan berada pada kisaran 0,2-0,8.

Analisis kuantitatif dapat menggunakan KCKT. Berdasarkan hasil penelitian analisis etakridin laktat yang terdapat di dalam daging ayam menunjukkan kadar etakridin laktat dalam daging ayam 377,5 ppm. hasil uji akurasi yang didapat yaitu pada konsentrasi 20 ppm adalah 258,205%, untuk 30 ppm adalah 232,478%, dan 40 ppm adalah 184,969%. Uji presisi 0,6546%, batas deteksi 5,198 ppm, batas kuantitasi 17,327 ppm, dan linieritas 0,993.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk analisis etakridin laktat pada daging ayam dengan menggunakan metode terbaik.

#### **Daftar Pustaka**

- Arum, I.P.S (2014). Pengembangan Metode Analisis Parasetamol pada Daging Bebek Olahan [Skripsi], Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2013). Batas maksimum penggunaan Bahan Tambah Pangan Pewarna Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 37.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). Farmakope Indonesia, Edisi IV direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta.
- Diese (2015). Fachinformation zu Rivanol® Salbe van Dermaphar, 20 juni: 2015.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. (2007). Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Guo, Z., DanyiWei., Gan,N., Xie,H, and Xufei Yu ((2007) Determination of ng Rivanol in Human Plasma by SPE-HPLC Method. Journal of Chromatographic Science, Vol. 45, 2007
- Gupte, S. (1900). Mikrobiologi Dasar. Binarupa Aksara. Jakarta Handayana, S. (2006) Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern, Universitas Pendidikan Indonesia. Jakarta
- Isadiartuti, D. dan Retno, S. (2005). Uji Efektifitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan yang Mengandung Etanol dan Triklosan. Majalah Farmasi Air langga, 5(3),hal 27
- Mansjoer.Arif, dkk. (2000). Kapita Selekta Kedokteran. Edisi III. Media Aesculapius FKUI. Jakarta
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. (1986). Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press. Jakarta

- Pratiwi, S. (2008). Mikrobiologi Farmasi. Erlangga: Jakarta
- Rasyaf, M. Dr.Ir. (2012). Panduan Beternak Ayam Pedaging. Penebar Swadaya Jakarta.
- Riskawati,E. (2006). Komposisi Kimia Daging dan Kulit Paha itik Lokal Jantan yang diberi Pakan Tepung Daun Beluntas (*Pluceaindica.L*) pada Taraf Berbeda [Skripsi], Program Studi Teknologi Hasil Ternak,Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rohman, A. (2009). Kromatografi untuk Analisis Obat. Pustaka Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Sera, K. (2012) Ayam pengompres luka ([http://blogdetik.com/indexdari transTV](http://blogdetik.com/indexdari%20transTV)) pada tanggal 13 Oktober 2012.
- Srigando, B. (1991). Ilmu Unggas Air. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tjay, T. H. dan Rahardja, K. (2002). Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya, Edisi ke VI. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- World Health Organization (WHO). (2004). Laboratory Biosafety Manual. The Third Edition. 82-90.
- Siswandono dan Soekardjo. (1995). Kimia Medisinal. Airlangga university. Surabaya
- Tien, KH. (1983). Intraamniotic Injection of Erhakridine for Second-trimester Induction of Labor [abstract], *Obstet Gynecol* 6:733-6.