

**ANALISIS KADAR ANDROGRAFOLID DARI TANAMAN
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burm.f) Nees) PADA
SAMPEL DARAH MANUSIA MENGGUNAKAN METODE
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

SKRIPSI

**SELVI NURAINI
A191039**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2023**

**ANALISIS KADAR ANDROGRAFOLID DARI TANAMAN
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burm.f) Nees) PADA
SAMPEL DARAH MANUSIA MENGGUNAKAN METODE
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**SELVI NURAINI
A191039**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2023**

**ANALISIS KADAR ANDROGRAFOLID DARI TANAMAN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* (Burm.f) Nees) PADA SAMPEL DARAH
MANUSIA MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI CAIR
KINERJA TINGGI**

**SELVI NURAINI
A191039**

Agustus 2023

Disetujui oleh:

Pembimbing



apt. Melvia Sundalian, M.Si.

Pembimbing



Sri Gustini Husein, M.Farm.

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebutkan nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Puji dan Syukur saya panjatkan kepada Allah SWT karena telah menuntun saya pada titik ini.

Skripsi ini saya persembahkan kepada ibunda tercinta Yeti Sumiati dan ayahanda Herman yang senantiasa memeberikan limpahan cinta, do'a, harapan, semangat, dukungan, dan kasih sayang yang luar biasa.

Kaka, adik, keponakan, nenek, kakek, bibi, paman, saudara, dan sahabat-sahabat terkasih yang selalu memberikan do'a dan semangat tiada henti.

Terima kasih untuk semua,

saya tidak akan ada di titik ini tanpa cinta kalian.

ABSTRAK

Sambiloto adalah tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional di Indonesia, yang mengandung senyawa andrografolid. Andrografolid memiliki aktivitas farmakologi seperti antiinflamasi, antikanker, hepatoprotektor, antimalaria, antioksidan, antidiabetes, antihiperlipidemia, dan antivirus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode analisis dan mengetahui pengaruh matriks darah terhadap kadar isolat andrografolid menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Pada penelitian ini, andrografolid diekstraksi dalam darah dengan metode pengendapan protein menggunakan metanol yang divortex selama 30 detik, dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Analisis dilakukan dengan isokratik pada kolom C18 (Zobrax Eclipse Plus 4.6 x 150 mm) dan fase gerak metanol-air (65:35v/v) pada laju alir 1,0 mL/menit. Deteksi dilakukan pada panjang gelombang 223 nm dan volume penyuntikan 10 μ L. Pada rentang konsentrasi 20-120 ppm dihasilkan kurva kalibrasi yang linear dengan (R^2) sebesar 0,9922. Nilai *%recovery* berada direntang 99,21-105,23% dengan *%RSD* berada pada rentang 0,49-2,33%. LOD berada pada konsentrasi 12,21 ppm dan LOQ 37,01 ppm. Rata-rata kadar andrografolid dalam sampel sebesar 75,80%. Dengan demikian, metode KCKT dapat digunakan untuk analisis kadar isolat andrografolid dalam sampel darah manusia dan terdapat pengaruh matriks darah terhadap kadar isolat andrografolid.

Kata kunci : Andrografolid, isolat, matriks dalam sampel darah, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

ABSTRACT

Sambiloto is a plant that is commonly utilized as traditional medicine in Indonesia, containing the compound andrographolide. Andrographolide exhibits pharmacological activities such as anti-inflammatory, anticancer, hepatoprotective, antimalarial, antioxidant, antidiabetic, anti-hyperlipidemia, and antiviral effects. This study aims to determine the analysis method and understand the influence of blood matrix on the level of isolated andrographolide using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). In this research, andrographolide is extracted from blood using a protein precipitation method with methanol, which is vortexed for 30 seconds and centrifuged at a speed of 3000 rpm for 15 minutes. The analysis is performed isocratically on a C18 column (Zorbax Eclipse Plus 4.6 x 150 mm) with a mobile phase of methanol-water (65:35v/v) at a flow rate of 1.0 mL/minute. Detection is conducted at a wavelength of 223 nm with an injection volume of 10 µL. Within the concentration range of 20-120 ppm, a linear calibration curve is generated with an R-squared (R^2) value of 0.9922. The %recovery values range from 99.21% to 105.23%, with %RSD in the range of 0.49% to 2.33%. The Limit of Detection (LOD) is at a concentration of 12.21 ppm and the Limit of Quantitation (LOQ) is 37.01 ppm. The average content of andrographolide in the samples is 75.80%. Thus, the HPLC method can be employed for the analysis of isolated andrographolide levels in human blood samples, and there is an influence of the blood matrix on the level of isolated andrographolide.

Keywords: *Andrographolide, isolated, blood sample matrix, High-Performance Liquid Chromatography (HPLC).*

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim.

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat segala rahmat dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **Analisis Kadar Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f) Nees) dalam Sampel Darah Manusia Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi** dibawah bimbingan apt. Melvia Sundalian, M.Si. dan Sri Gustini Husein, M.Farm.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dalam menyelesaikan skripsi ini juga, penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak akan sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Oleh karena itu dengan kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia
2. Dr. apt. Diki Prayugo W, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
3. Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia
4. Dr. apt. Sani Nurlaela Fitriansyah, M.Si., selaku Dosen Wali yang telah memeberikan arahan serta bimbingan kepada penulis selama menempuh perkuliahan di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
5. Rekan-rekan mahasiswa angkatan 2019 yang telah berjuang bersama dari awal hingga akhir program S1 Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
6. Semua pihak yang tidak dapat diucapkan satu persatu yang telah memberikan perhatiannya dan dukungannya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga penelitian ini akan memberikan manfaat khususnya bagi penulis sendiri dan umumnya bagi pihak lain yang berkepentingan untuk pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Bandung, Agustus 2023

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----|
| LEMBAR PENGESAHAN..... | i |
| KUTIPAN | ii |
| PERSEMBAHAN..... | iii |
| ABSTRAK | iv |
| <i>ABSTRACT</i> | v |
| KATA PENGANTAR | vi |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR TABEL | ix |
| DAFTAR GAMBAR..... | x |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xi |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Identifikasi Masalah..... | 2 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 2 |
| 1.4 Kegunaan Penelitian | 2 |
| 1.5 Tempat dan Waktu Penelitian | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> (Burm.f) Nees)..... | 4 |
| 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Sambiloto..... | 4 |
| 2.1.2 Morfologi Sambiloto | 5 |
| 2.1.3 Habitat dan Distribusi Sambiloto | 5 |
| 2.1.4 Kandungan Kimia..... | 5 |
| 2.2 Andrografolid..... | 6 |
| 2.3 Darah..... | 7 |
| 2.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi | 7 |
| 2.4.1 Teori Dasar..... | 7 |
| 2.4.2 Cara Kerja KCKT..... | 8 |
| 2.5 Analisis Kadar Andrografolid | 8 |
| 2.6 Kajian Analisis Andrografolid Menggunakan KCKT..... | 9 |
| 2.7 Validasi Metode | 10 |
| 2.7.1 Kurva Kalibrasi dan Linearitas | 10 |
| 2.7.2 Selektivitas | 10 |
| 2.7.3 Akurasi | 10 |
| 2.7.4 Presisi | 11 |
| 2.7.5 LOD (<i>Limit of Detection</i>) dan LOQ (<i>Limit of Quantification</i>)..... | 11 |
| BAB III TATA KERJA..... | 12 |
| 3.1 Alat..... | 12 |

| | | |
|----------------|---|----|
| 3.2 | Bahan | 12 |
| 3.3 | Metode Penelitian | 12 |
| 3.3.1 | Pembuatan Larutan Induk Isolat Andrografolid | 12 |
| 3.3.2 | Penentuan Kondisi Optimal KCKT | 12 |
| 3.3.3 | Preparasi Isolat Andrografolid pada Sampel Darah | 13 |
| 3.3.4 | Validasi Metode..... | 13 |
| 3.3.5 | Analisis Kadar Isolat Andrografolid pada Sampel Darah.. | 15 |
| BAB IV | HASIL DAN PEMBAHASAN | 16 |
| 4.1 | Pembuatan Larutan Induk Isolat Andrografolid | 16 |
| 4.2 | Penentuan Kondisi Optimal KCKT | 16 |
| 4.2.1 | Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Isolat Andrografolid..... | 16 |
| 4.2.2 | Optimasi Sistem Kromatografi | 17 |
| 4.2.3 | Uji Kesesuaian Sistem..... | 18 |
| 4.3 | Preparasi Isolat Andrografolid pada Sampel Darah | 20 |
| 4.4 | Validasi Metode | 21 |
| 4.4.1. | Kurva Kalibrasi dan Linearitas | 21 |
| 4.4.2. | Uji Selektivitas..... | 21 |
| 4.4.3. | Uji Akurasi..... | 23 |
| 4.4.4. | Presisi | 24 |
| 4.4.5. | LOD (<i>Limit of Detection</i>) dan LOQ (<i>Limit of Quantification</i>)..... | 25 |
| 4.5 | Analisis Kadar Isolat Andrografolid pada Sampel Darah | 26 |
| 4.5.1. | Pembuatan Kurva Baku dan Linearitas Isolat Andrografolid..... | 26 |
| 4.5.2. | Analisis Kadar Isolat Andrografolid pada Sampel Darah.. | 26 |
| BAB V | PENUTUP..... | 28 |
| 5.1. | Simpulan..... | 28 |
| 5.2. | Alur Penelitian Selanjutnya..... | 28 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 29 |
| LAMPIRAN | | 33 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 4.1 Hasil Uji Kesesuaian Sistem | 18 |
| 4.2 Hasil Uji Akurasi Isolat Andrografolid pada Sampel Darah..... | 24 |
| 4.3 Hasil Uji Presisi Isolat Andrografolid pada Sampel Darah | 25 |
| 4.4 Hasil Perhitungan Kadar Isolat Andrografolid pada Sampel Darah..... | 27 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Tanaman Sambiloto | 4 |
| 2.2 Struktur Kimia Andrografolid | 6 |
| 4.1 Hasil Pola Spektrum Isolat Andrografolid pada Spektrofotometer UV-Vis..... | 17 |
| 4.2 Kurva Kalibrasi Isolat Andrografolid pada Sampel Darah | 21 |
| 4.3 Hasil Kromatogram Metanol | 22 |
| 4.4 Hasil Kromatogram Isolat Andrografolid dengan Konsentrasi 120 ppm | 22 |
| 4.5 Hasil Kromatogra Sampel Darah dalam Metanol | 22 |
| 4.6 Hasil Kromatogram Isolat Andrografolid pada Sampel Darah dengan Konsentrasi 120 ppm | 22 |
| 4.7 Kurva Baku Larutan Standar Isolat Andrografolid | 26 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1. Hasil Perhitungan Pengenceran Larutan Isolat Andrografolid | 33 |
| 2. Preparasi Isolat Andrografolid pada Sampel Darah | 34 |
| 3. Hasil Uji Kesesuaian Sistem | 35 |
| 4. Hasil Uji Kurva Kalibrasi dan Linearitas Isolat Andrografolid pada Sampel Darah | 37 |
| 5. Hasil Uji Selektivitas | 39 |
| 6. Hasil Uji Akurasi | 41 |
| 7. Hasil Uji Presisi | 42 |
| 8. Hasil Uji LOD & LOQ | 43 |
| 9. Hasil Uji Kurva Baku Larutan Isolat Andrografolid | 44 |
| 10. Hasil Uji Kadar Isolat Andrografolid pada Sampel Darah | 45 |

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, S. (2011) 'Andrographis paniculata: A review of pharmacological activities and clinical effects', *Alternative Medicine Review*, 16(1), pp. 66–77.
- Aryani, T. (2005) 'Penguji-an Validasi Analisis Kadar Andrografolid Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Dengan Eluasi Gradien Terhadap Ekstrak Herba Sambiloto (Andrographis Paniculata Ness)', *Berkala Penelitian Hayati*, 11(1), pp. 73–76.
- Azzamy, (2017) 'Efek Samping, Khasiat dan Cara Pemakaian Daun Sambiloto untuk Pengobatan' Mitalom Tanaman Obat.
- Behnoush, B. *et al.* (2015) 'Comparison of UHPLC and HPLC in benzodiazepines analysis of postmortem samples', *Medicine (United States)*, 94(14), pp. 1–7.
- Beg, S., Swain, S., Singh, H. P., Patra, C. N., & Rao, M. B. (2012) 'Development, optimization, and characterization of solid self-nanoemulsifying drug delivery systems of valsartan using porous carriers', *Aaps Pharmscitech*, 13, pp. 1416-1427.
- Bharati, B. D., *et al.* (2011) 'Pharmacological Activity of Andrographis paniculata', *Pharmacologyonline*, 2, pp. 1–10.
- Cahyawati, P. N. (2021) 'A Mini Review: Efek Farmakologi Andrographis Paniculata (Sambiloto)', *WICAKSANA: Jurnal Lingkungan dan Pembangunan*, 5(1), pp. 19–24.
- Chao, W. W. and Lin, B. F. (2010) 'Isolation and identification of bioactive compounds in Andrographis paniculata (Chuanxinlian)', *Chinese Medicine*, 5, pp. 1–15.
- Chawla, G. and Ranjan, C. (2016) 'Principle, Instrumentation, and Applications of UPLC: A Novel Technique of Liquid Chromatography', *Open Chemistry Journal*, 3(1), pp. 1–16.
- Chen, L. *et al.* (2007) 'Determination of andrographolide and dehydroandrographolide in rabbit plasma by on-line solid phase extraction of high-performance liquid chromatography', 74, pp. 146–152.
- Dai, J. *et al.* (2017) 'Andrographolide inhibits angiogenesis by inhibiting the Mir-21-5p/TIMP3 signaling pathway', *International Journal of Biological Sciences*, 13(5), pp. 660–668.
- DEPKES RI. (2020) 'Farmakope Indonesia Jilid VI', Jakarta: Direktorat Jenderal Farmasi dan Alat Kesehatan Kemenkes RI.
- Desmawati. (2013) 'Sistem Hematologi dan Imunologi', Jakarta: Penerbit In Media.
- Devendar, P. *et al.* (2015) 'Synthesis and evaluation of anticancer activity of novel andrographolide derivatives', *MedChemComm*, 6(5), pp. 898–904.

- Dewi, R. T., Rifa'i, M., Mustofa, Lelo, A. (2019) 'Andrographolide Enhances Expression of Insulin Signaling Regulators and Glucose Transporters in 29 Skeletal Muscle of Diabetic Mice', *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 24, 2515690X19850496.
- Dhandhukia, P.C. dan J.N. Thakker. (2011) '*Quantitative Analysis and Validation of Method Using HPTLC*', Heidelberg: Springer. Hal. 11-15.
- Dong, M. W. (2019) '*HPLC and UHPLC for Practicing Scientists*', John Wiley & Sons.
- European Medicines Agency. (2011) '*Guideline on bioanalytical method validation*', Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP).
- Food and Drug Administration. (2001) '*Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation*', Rockville: Center for Veterinary Medicine.
- Gandjar, G. I., dan Rohman, A. (2007) '*Kimia Farmasi Analisis*', Pustaka Belajar, Yogyakarta.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2010) '*Kimia Farmasi Analisis Edisi IV*', Pustaka Pelajar, Yogyakarta, pp. 298, 305-312, 319.
- Gupta, S., Mishra, K. P. and Ganju, L. (2017) 'Broad-spectrum antiviral properties of andrographolide', *Archives of Virology*, 162(3), pp. 611–623.
- Hansen, S. H., & Pedersen-Bjergaard, S. (Eds.). (2015) '*Bioanalysis of pharmaceuticals: sample preparation, separation techniques and mass spectrometry*', John Wiley & Sons.
- Harahap, Y. (2010) '*Peran Bioanalisis dalam Penjaminan Kualitas Obat dan Peningkatan Kualitas Hidup Pasien*', Jakarta: UI Press.
- Harahap, Y. (2009) 'Validasi Metode Analisis Rebamipid dalam Plasma secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi-Ultraviolet', *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), pp. 156-167.
- Harmita. (2004). 'Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), pp. 117-135.
- Huber, Ludwig. (2007) '*Validation and Qualification in Analytical Laboratories*', London: Informa.
- ICH Harmonised Tripartite Duideline, ICH Q2 (R1). (2005) 'Validation of Analytical Procedures', Text and Methodology.
- Jayakumar, T. *et al.* (2013) 'Experimental and clinical pharmacology of andrographis paniculata and its major bioactive phytoconstituent andrographolide', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(Figure 1).
- Kazakevich, Y., and Lobrutto, R. (2007) '*HPLC for Pharmaceutical Scientist, John Wiley and Sons*', Inc: New Jersey, pp. 25 – 192.
- Kruve, A. *et al.* (2015) 'Tutorial review on validation of liquid chromatography-mass spectrometry methods: Part I', *Analytica Chimica Acta*, 870(1), pp. 29–44.
- Kumara, A., J. Dora, A. Sigh, and R. Tripathi, (2012) 'A Review on King of Bitter

- (Kalmegh)', *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, Vol. 2 (1), pp. 116-124.
- Larasuci, N. M. (2018) 'Pengaruh Perbedaan Waktu Pemeriksaan Terhadap Kadar Glukosa Darah', Denpasar: Politeknik Kementrian Kesehatan Denpasar.
- Lestari, S. W. (2014) 'Validasi Metode Penetapan Kadar Aliskiren dalam Plasma Darah secara In Vitro menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)'.
- Liu, L. *et al.* (2020) 'Synthesis and structure anti-inflammatory activity relationships studies of andrographolide derivatives', *Natural Product Research*, 34(6), pp. 782–789.
- Pandeti, S. *et al.* (2013) 'Synthesis of new andrographolide derivatives and evaluation of their antidyslipidemic, LDL-oxidation and antioxidant activity', *European Journal of Medicinal Chemistry*, 69, pp. 439–448.
- Patil, R., & Jain, V. (2021), 'Andrographolide: A review of analytical methods', *Journal of Chromatographic Science*, 59(2), pp. 191-203.
- Purwati, A. I., Yunianto, P., & Supriyono, A. (2017) 'Validasi Metode RP-HPLC untuk Penentuan Kadar Andrografolid Sebagai Senyawa Penanda pada Campuran Ekstrak', *Chimica et Natura Acta*, 5(3), pp. 101-106.
- Ratnani, R. D., Hartati, I., & Kurniasari, L. (2012) 'Potensi produksi andrographolide dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) melalui proses ekstraksi hidrotropi', *Momentum*, 8(1), pp.6-10
- Rizalina, H. *et al.* (2018) 'Optimasi Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan Gas Chromatography', *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3), pp. 254–261.
- Sajeed, B. K., Kumar, U., Halder, S., & Bachar, S. C. (2015) 'Identification and quantification of andrographolide from *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees by RP-HPLC method and standardization of its market preparations', *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(1), pp. 71-78.
- Sanjaya, I.G.M. (2017) 'Isolasi Senyawa Andrografolid dari Ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dengan Kromatografi Kolom', *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 39(1), pp. 39-45.
- Sebayang, R., Idawati, Y., & Sinaga, H. (2020) 'Analisis laktat dehidrogenase dalam serum darah menggunakan sentrifugasi', *Jurnal Keperawatan Silampari*, 4(1), pp. 274-280.
- Shargel, L., Wu-Pong, S., & Yu, A. B. C. (2017) '*Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics, 7th Edition*', New York: McGraw-Hill Education.
- Sivanantha, M. and M. Elamara (2013) 'Medicinal and Pharmacological Properties of *Andrographis paniculata*', *International Journal of Biomolecules and Biomedicine*, 3(2), pp. 1-12
- Suliasih, B. A. and Mun, A. (2022) 'Review : Potensi dan Masalah dalam

- Pengembangan Kemandirian Bahan Baku Obat Tradisional di Indonesia', 1(1), pp. 28–33.
- Suo, X. B., Zhang, H., & Wang, Y. Q. (2007) 'HPLC determination of andrographolide in rat whole blood: study on the pharmacokinetics of andrographolide incorporated in liposomes and tablets', *Biomedical Chromatography*, 21(7), pp. 730-734.
- Syukri, Y., Martien, R., Lukitaningsih, E., & Nugroho, A. E. (2016) 'Quantification of andrographolide isolated from andrographis paniculata nees obtained from traditional market in yogyakarta using validated HPLC', *Indonesian Journal of Chemistry*, 16(2), pp. 190–197
- U.S. Pharmacopeia. (2020) '*The United States Pharmacopeia, USP 43/ The National Formulary, NF 38*', Rockville, MD: U.S. Pharmacopeial Convention, Inc.
- Wang, L., Liang, Y., Li, Y., et al. (2017) 'Andrographolide induces apoptosis of breast cancer cells via the iNOS/NO signaling pathway', *Int J Mol Med*, 40(6), pp. 1801-1809.
- Warditiani, N. ., Widjaja, I. N. . and Noviyanti, N. W. R. (2011) 'Isolasi Andrografolid dari Andrographis paniculata (Burm. f.) Ness menggunakan Metode Purifikasi dan Kristalisasi', *Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana*, pp. 1–4.
- Zang, X., Wang, H., Gao, F., Chen, X., Liu, W., Liu, X., Sun, Y., Li, W., & Li, H. (2018) 'Andrographolide suppresses epithelial-mesenchymal transition in human hepatocellular carcinoma cells by inhibiting nuclear factor- κ B signaling', *Cancer Letters*, 416, pp. 11-19.