

UJI FOTOTOKSISITAS SEDIAAN KRIM MUKA "X" TERHADAP KELINCI PUTIH JANTAN

Catur Siwi Handayani, Indri Hapsari, Susanti

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Jl. Raya Dukuwaluh PO BOX 202 Purwokerto 53182

Abstrak

Telah dilakukan penelitian uji fototoksisitas krim muka " X " terhadap kelinci putih jantan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan apakah produk " X " menimbulkan efek fototoksik. Penelitian dilakukan menggunakan tiga kelinci putih jantan yang dicukur punggungnya sebanyak 1x1 inchi, kemudian diberi perlakuan dengan sampel untuk kontrol positif dan ethanol untuk kontrol negatif. Setelah 30 menit kelinci dipaparkan dengan sinar ultra violet dengan panjang gelombang 320 – 400 nm. Hewan uji diamati setelah 24 dan 48 jam, kemudian diberi skore sesuai dengan tabel tingkat keparahan eritema. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa krim muka " X " positif menimbulkan fototoksik sebesar 100 % dengan rata- rata skor eritema 2,33 yang berarti eritema terbatas jelas.

Kata Kunci : Krim muka " X ", fototoksisitas, eritema.

Abstract

A research on phototoxicity testing of a " X " moisturizing cream. The aim of this research is to prove phototoxic effect on a " X " moisturizing cream. The research was done by to weigh three rabbits further to shave the hair from a 1x1 inchi on the whole back skin. There are two sites per animal, one side should be for a sample " X " moisturizing cream and another for a negative control. Thirty minute after dosing, animals was exposed to Uv – light 320-400 n exposure according the table of erythema formation score. The result of this research shows that " X " moisturizing cream give positif rate phototoxic effect 100% with mean score is 2,33 (well – defined erythema), and can be conducted that " X " moisturizing cream was proved have positif phototoxic effect.

Key word : Moisturizing cream " X ", phototoxic, erythema.

Pendahuluan

Kosmetika adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ genital bagian luar) atau gigi dan mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik (Tranggono dan latifah,2007)

Menurut penelitian Dr. Retno I.S. Tranggono,SpKK di Indonesia pada bulan januari 1978 terhadap 244 pasien RSCM (Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta) yang menderita noda-noda hitam, 18,3 persen diantaranya disebabkan oleh kosmetik.

Kosmetik yang mengandung zat aktif berbahaya banyak dijual bebas dipasaran. Hal ini tentu saja dapat merugikan konsumen. Bahaya yang sering kali timbul dari penggunaan kosmetik adalah iritasi baik iritasi ringan, iritasi yang diperparah oleh pemaparan sinar matahari (fotoiritasi), ataupun iritasi parah yang dapat menyebabkan kulit rusak baik jangka pendek maupun jangka panjang. Sinar

yang paling aktif menyebabkan eritema dan pigmentasi adalah sinar ultra violet yang pendek yaitu dengan panjang gelombang 320nm-400nm (Lu, 1995).

Untuk memastikan potensi efek fototoksik perlu dilakukan uji fototoksisitas. Uji fototoksisitas ini dilakukan secara in vivo dengan jalur perkutan terhadap hewan uji kelinci yang dipaparkan pada sinar ultra violet atau lampultra violet dengan panjang gelombang 320-400nm. Setelah beberapa hari diamati apakah iritasi yang timbul seperti kemerahan, gatal-gatal, pruritis, dan jerawat semakin parah. Parameter tingkat keparahan diamati dengan cara membandingkan bagian yang terkena paparan ultra violet dengan yang tidak (control) (Loomis, 1978).

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode survai dan eksperimen yaitu mencari produk yang mungkin mengalami fototoksik pada kebanyakan orang, kemudian produk yang dicurigai tersebut diujikan pada hewan uji kelinci putih jantan.

Bahan Yang Digunakan

Bahan yang digunakan adalah sampel kosmetik produk “ X “, kelinci putih jantan, akuades, kassa, etanol, aluminiumfoil, plester dan pakan hewan.

Penentuan jumlah sampel

Jumlah sampel diperoleh dari hasil perhitungan jumlah populasi mahasiswi yang masih aktif sampai semester gasal 2007 – 2008 di Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Teknik pengambilan sampel dihitung dengan rumus (Notoatmojo,2002).

$$n = \frac{N}{1+N(d^2)}$$

Keterangan :

$$r = \frac{n(\sum XY) - (\sum X \sum Y)}{\sqrt{[n \sum X^2 - (\sum X)^2][n \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

Keterangan :

r = korelasi *product moment*

X = skor butir (pertanyaan)

Y = skor factor (variabel)

n = jumlah sampel

Dengan menggunakan taraf signifikansi 95%, maka apabila :
 r hitung > r tabel maka pengukuran adalah valid
 r hitung ≤ r tabel maka pengukuran adalah tidak valid.

n = besar sampel

N = besar populasi

d = taraf kepercayaan, 95%(0,05)

$$n = \frac{2468}{1+2468(0,05)}$$

Jadi jumlah sampel yang diambil yaitu sebanyak 344 orang.

Penyebaran kuisisioner

Sebelum kuisisioner disebar kepada sejumlah responden terlebih dahulu dilakukan uji validitas. Uji validitas dilakukan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh melalui kuisisioner sudah valid atau belum. Pengujian dilakukan dengan teknik korelasi *product moment* (Singarimbun dan Sofyan, 1989) menggunakan rumus :

Penyebaran kuisisioner evaluasi penggunaan kosmetik yaitu kosmetik pelembab (krim muka) disebar kepada 344 responden mahasiswa, dengan kisaran umur antara 18 – 23 tahun, yang berada di daerah sekitar

Universitas Muhammadiyah
Purwokerto.

Pemilihan produk uji.

Pemilihan produk uji berdasarkan hasil kuisisioner yang diperoleh yaitu kosmetik yang paling banyak digunakan serta menimbulkan efek berupa kemerahan. Dari hasil penyebaran kuisisioner didapat sebanyak 158 responden menggunakan kosmetik produk " X ".

Pemilihan dosis uji

Proses senyawa uji mengacu pada dosis baku sesuai dengan metode *Draize test* yaitu sebesar 0,5 ml untuk bahan padat 0,5 gram untuk bahan setengah padat per 1 inchi (Tranggono dan latifah,2007:167).

Tetapi dalam pemejanaan digunakan 1 gram sampel untuk 1x1 inchi. Hal ini dikarenakan untuk mendapatkan area uji yang lebih luas sehingga pengamatan akan lebih mudah.

Pemilihan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci putih jantan lokal, karena memiliki beberapa keunggulan dibandingkan hewan uji yang lain yaitu ukuran tubuh (termasuk punggung tersebut) yang cukup luas sebagai area

uji sehingga memudahkan pencukuran rambut, kemudahan dalam menanganinya (tidak mudah stress).

Tidak menggunakan mencit atau marmot karena permukaan tubuh mencit lebih sempit sedangkan marmot mudah sekali stress, padahal pencukuran memerlukan waktu yang relatif lama dan juga harus dilakukan hati-hati agar tidak melukai kulit hewan uji.

Pengkondisian hewan uji

Hewan uji yang akan digunakan pengujian foto toksisitas harus berada dalam tingkatan kesehatan yang baik dan harus diamati selama satu kurun waktu (satu minggu untuk tikus, mencit mauoun kelinci dan 3-4 minggu untuk anjing) (Loomis, 1978: 229).

Pencukuran hewan uji

Rambut pada punggung kelinci dengan hati-hati agar tidak terjadi lecet. Oleh karena punggung kelinci lebar maka untuk satu ekor kelinci dibuat dua area uji dengan ukuran masing-masing 1x1 inchi.

Pemejanaan senyawa uji

Pemejanaan senyawa uji dilakukan dengan mengikuti *draize test* yaitu dengan cara satu gram senyawa uji dioleskan pada area uji dan satu ml etanol dioleskan pada area blanko yang

digunakan sebagai control negative. Setelah itu, area tersebut ditutup dengan kain kassa dan dilakukan dengan aluminium foil. Selama 30 menit, dibuat sedemikian rupa sehingga dipastikan hewan uji tidak menelan senyawa uji serta untuk menghindari terjadinya penguapan senyawa uji (Gad an Chengelis, 1998).

Pemaparan terhadap sinar UV

Setelah 30 menit, kain kassa dibuka kemudian hewan dimasukkan kedalam kardus yang telah di pasang lampu UV dengan panjang gelombang 320-400 nm (Lu, 1995: 245). Sinar UV yang lebih panjang memang tidak begitu eritogenik tetapi bertanggung jawab terhadap reaksi foto toksik terhadap zat kimia. (Lu, 1995 :240). Pemaparan dilakukan selama 30 menit (Spielmann, *et al.*,1993); dengan jarak lampu 10 cm dari hewan uji (Okumura, *et al.*,2004). Selama pemaparan kardus ditutup dengan kain hitam, dibuat sedemikian rupa sehingga dipastikan

tidak ada sinar yang keluar melalui lubang.

Pengamatan Gejala Toksik

Pengamatan gejala toksik ada 2 macam yaitu kualitatif dan kuantitatif. Pengamatan secara kualitatif dengan melihat timbul tidaknya eritema setelah terpejani oleh senyawa uji. Sedangkan analisis kuantitatif dilakukan dengan mengelompokkan eritema kedalam skor yang sesuai dengan tabel 3.1

Pengamatan kualitatif gejala toksik berupa eritema

Iritasi yang diamati secara kualitatif yaitu eritema yang merupakan efek toksik yang muncul akibat pejanan senyawa uji produk "X".

1. Pengamatan kuantitatif gejala toksik

Analisis kuantitatif dimulai dengan mengkuantifikasikan eritema yang terjadi kedalam skor untuk mengetahui tingkat keparahan yang terjadi sesuai dengan tabel 3.1

Tabel 1 Skoring tingkat keparahan

Score	Reaksi Kulit
0	Tidak ada eritema / tidak ada reaksi
1	Eritema sedikit
2	Eritema berbatas jelas
3	Eritema sedang
4	Eritema banyak / merah bit sampai membentuk kerak

Menurut (Okumura *et al*,2004:22), setelah dilakukan *scorsing*, maka dilakukan perhitungan rata – rata

$$\text{Rata-rata score} = \frac{\text{jumlah score eritema 24 jam} + \text{jumlah score eritema 24 jam}}{\text{Jumlah hewan yang digunakan}}$$

$$\text{Nilai positif (\%)} = \frac{\text{jumlah hewan yang menunjukkan reaksi positif fototoksik} \times 100\%}{\text{Jumlah hewan yang digunakan}}$$

score dan presentase reaksi positif dengan rumus :

Hasil dan Pembahasan

Pada uji fototoksik krim muka “ X “ dilakukan melalui beberapa tahap yaitu penentuan jumlah sampel, penyebaran kuisisioner, pemilihan produk uji, penentua diosis, pemilihan hewan uji, pengkondisian hewan uji, pencukuran hewan uji, pemejanaan hewan uji, pemaparan terhadap sinar UV serta pengamatan efek toksik berupa eritema.

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci putih local jantan yang dicukur punggungnya, punggungnya itu digunakan sebagai area uji. Pengamatan kualitatif dilakukan 24 dan 48 jam setelah pemejanaan senyawa uji dengan melihat tanda-tanda eritema kemudian diberi skor sesuai dengan tabel 3.1. perhitungan kuantitatif dilakukan untuk mendapatkan nilai rata-rata score eritema dan presentase reaksi fototoksik. Nilai rata-rata score eritema

adalah 2,33 dan presentase reaksi fototoksik adalah 100%.

Uji Validitas Kuesioner

Sebelum kuisisioner disebar kepada sejumlah responden terlebih dahulu dilakukan uji validitas. Uji validitas dilakukan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh melalui kuisisioner sudah valid atau belum. Pengujian dilakukan dengan teknik korelasi *product moment* (Singarimbun dan Sofyan, 1989:137) dengan taraf kepercayaan 95%.

Kuesioner terdiri dari 7 pertanyaan yang harus dijawab menurut pilihan yang disediakan (kuisisioner bersifat tertutup). Dari masing-masing pilihan tersebut diberi skor yaitu : pilihan a =1; b=2; c=3; d=4 dan 0 untuk pertanyaan yang tidak diisi. Dalam pengujiannya, kuisisioner disebar kepada 30 orang responden kemudian dihitung total skor jawaban tiap pertanyaan. Selanjutnya dilakukan

perhitungan korelasi *product moment*, dengan hasil sebagai berikut : pertanyaan no 1 = 0,240; pertanyaan no 2 = 0,468; pertanyaan no 3 = 0,368; pertanyaan no 4 = 0,365; pertanyaan no 5 = 0,597; pertanyaan no 6 = 0,7; pertanyaan no 7 = 0,724. Angka kritik diketahui dengan cara melihat baris N-2 pada tabel angka kritik nilai r. jika jumlah responden 30 orang, maka jalur yang dilihat adalah baris 30-2=28. Untuk taraf signifikan 5% angka kritiknya adalah 0,361.

Angka korelasi yang diperoleh dari pertanyaan nomor 2 sampai 7 diatas angka kritik taraf 5%, maka pertanyaan nomor 2 sampai 7 adalah signifikan. Hal ini berarti bahwa dalam pertanyaan tersebut terdapat konsistensi internal, yang artinya pertanyaan-pertanyaan tersebut mengukur aspek yang sama (Singarimbun dan Sofyan,1989:139). Pertanyaan nomer 1 tidak signifikan karena angka korelasi yang diperoleh di bawah angka kritik. Selain itu angka korelasi yang diperoleh adalah negative. Korelasi yang negative menunjukkan bahwa pertanyaan tersebut bertentangan dengan pertanyaan lainnya, karena itu pertanyaan nomer 1 tidak valid. Hal ini menunjukkan

pertanyaan nomer 1 tidak konsisten dengan pertanyaan yang lain dan tidak mengukur aspek yang sama dengan yang diukur oleh pertanyaan nomer 2 sampai dengan nomer 7. Adanya pertanyaan yang tidak valid sebaiknya dihilangkan atau diganti dengan pertanyaan yang baru, namun karena hanya satu pertanyaan yang tidak valid dari 7 pertanyaan yang ada maka kuesioner tetap digunakan.

Penentuan jumlah sampel dan penyebaran kuesioner

Jumlah sampel diperoleh dari hasil perhitungan jumlah populasi mahasiswa yang masih aktif sampai semester gasal 2007-2008 dengan jenis kelamin perempuan sebanyak 2468 orang. Dari data tersebut dihitung jumlah responden yang akan diambil dengan menggunakan rumus perhitungan jumlah sampel dari populasi yang besarnya kurang dari 10.000 orang (Notoatmodjo,2000).

Jumlah responden yang diambil yaitu sebanyak 344 orang. Kuesioner yang telah valid kemudian disebar kepada 344 orang mahasiswi UMP. Penyebaran kuesioner dilakukan secara acak (random), yang merupakan cara pemilihan sejumlah elemen dari populasi untuk menjadi anggota sampel

dimana pemilihannya dilakukan sedemikian rupa sehingga setiap elemen mendapat kesempatan yang sama untuk dipilih menjadi anggota sampel (Notoatmodjo,2002).

Kuesioner yang telah kembali direkapitulasi sehingga diperoleh data krim muka yang paling banyak digunakan. Dari 344 responden, sebanyak 158 responden menggunakan krim muka "X", serta 73 diantaranya menimbulkan efek negative berupa kemerahan. Dalam penelitian ini digunakan produk krim muka "X".

Sampel yang digunakan

Sampel yang digunakan adalah produk krim muka "X" produksi PT Unilever Indonesia Tbk, Surabaya dengan nomor registrasi POM CD 1006501908 krim pelembab "X" mengandung bahan aktif yaitu vitamin B3, vitamin B6, vitamin C, vitamin E dan UV protection.

Perhitungan dosis sampel mengikuti metode metode Draize test, yaitu 0,5 ml untuk bahan berupa cairan atau 0,5 gr bahan yang berbentuk padat tiap 1 inchi (Tranggono dan Latifah,2007). Dalam penelitian digunakan dosis sebanyak 1 gram tiap 1x1 inchi. Hal ini dikarenakan untuk mendapatkan area uji yang lebih luas

sehingga pengamatan akan lebih mudah.

Hewan uji yang digunakan

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci putih jantan lokal, karena memiliki beberapa keunggulan dibandingkan hewan uji yang lain yaitu ukuran tubuh (termasuk punggung tersebut) yang cukup luas sebagai area uji sehingga memudahkan pencukuran rambut, kemudahan dalam menanganinya (tidak mudah stress).

Uji fototoksisitas

Pertama kali dilakukan pemejanaan yang sebelumnya kelinci dicukur bulunya didaerah punggung sebesar 1x1 inchi sebanyak 2 area yaitu satu area untuk blanko dan satu area untuk senyawa uji. Pencukuran ini bertujuan untuk memudahkan pemejanaan karena kelinci memiliki bulu yang tebal dan memudahkan dalam pengamatan efek toksik. Pemejanaan dilakukan dengan mengoleskan senyawa uji yaitu produk krim "X" sebanyak 1 gram pada area uji dan mengoleskan 1 ml etanol 96% pada area blanko untuk control negatif. Area tersebut ditutup dengan aluminium foil dan kassa selama 30 menit yang bertujuan untuk menghindari penguapan.

Aluminium foil dan kassa dibuka setelah 30 menit, kemudian hewan uji dipaparkan dengan sinar ultraviolet panjang gelombang 320-400 nm (Lu, 1995), selama 20-30 menit (Spielman, *et al.*,1993). Sinar tersebut menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 320nm merk Osram. Jarak antara kulit dengan sumber cahaya kira-kira 10 cm (Okumura, *et al.*,2004). Sebelum dilakukan pemaparan, hewan uji ditutup matanya untuk menghindari efek radiasi dari lampu UV yang berbahaya jika mengenai mata hewan uji hewan tersebut. Namun dalam melakukan penutupan mata menjadi kendala karena kelinci berusaha untuk melepas penutup. Hal ini dapat menyebabkan kelinci stress. Pemaparan dilakukan dalam sebuah kotak yang sudah dipasang lampu UV dan ditutup dengan kain hitam. Setelah dipaparkan selama 20-30 menit, hewan uji dikembalikan ke kandang.

Efek toksik diamati setelah 24 dan 48 jam pemaparan (Gad dan Chengelis,1998). Pengamatan efek toksik ada 2 macam yaitu kualitatif dan kuantitatif. Pengamatan secara

kualitatif dengan melihat gejala toksik yaitu dengan melihat timbul tidaknya eritema setelah terpejani oleh senyawa uji. Sedangkan analisis kuantitatif dilakukan dengan mengelompokkan eritema kedalam skor yang sesuai dengan tabel 3.1.

Pengamatan kualitatif efek toksik berupa eritema

Iritasi yang diamati secara kualitatif yaitu eritema yang merupakan efek toksik yang muncul akibat pejanan senyawa uji produk "X". hasil pengamatan kualitatif senyawa uji yang dipejankan setelah 24 dan 48 jam secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 1. Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa sampel uji produk "X" ternyata dapat menimbulkan iritasi setelah pemejanan tunggal pada hewan uji, artinya sampel uji berpotensi menimbulkan reaksi fototoksik. Pengamatan kuantitatif efek toksik Dari hasil pengamatan kualitatif dilakukan analisis kuantitatif. Analisis ini dimulai dengan mengkuantifikasikan eritema yang terjadi ke dalam skor untuk mengetahui tingkat keparahan yang terjadi sesuai dengan tabel 3.1.

Tabel 1. Hasil pengamatan iritasi secara kualitatif yang timbul akibat pemejanan senyawa uji

kelinci	Blanko		Sampel	
	24 jam eritema	48 jam eritema	24 jam eritema	48 jam eritema
1	-	-	+	+
2	-	-	-	+
3	-	-	+	+

Keterangan : + = Ada
- = Tidak ada

Tabel 2. Data pengamatan iritasi secara kuantitatif yang berupa score eritema

No	Kelinci	Score			
		Blanko		Sampel	
		24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
1	1	0	0	1	1
2	2	0	0	0	2
3	3	0	0	1	2
	Σ	0	0	2	5

Hasil pengamatan kuantitatif senyawa uji yang dipejarkan setelah 24 dan 48 jam secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 2. Skor eritema yang diperoleh dari pengamatan menunjukkan adanya eritema sedikit dan eritema terbatas jelas pada sampel kelinci 24 jam serta sampel kelinci 48 jam. Selanjutnya dihitung rata-rata skor eritema dan nilai positif fototoksik. Rata-rata skor eritema yang diperoleh yaitu 2,33 yang artinya eritema terbatas jelas, dan nilai positif fototoksik yaitu 100%. Hal ini dapat diketahui bahwa krim muka "X" memiliki potensi fototoksik sebesar

100% setelah diuji pada kelinci sebanyak 3 ekor.

Dilihat dari kandungannya, krim muka "X" mengandung vitamin B, vitamin B6, vitamin C, vitamin E serta UV protection. Niasinamid merupakan derivat larut air dari vitamin B3 yang mempunyai efek dapat mengurangi gejala penuaan, termasuk mengurangi garis dan kerutan, mengecilkan pori, memperbaiki warna kulit dengan mengurangi hiperpigmentasi dan mengurangi bintik / noda di kulit (Anonim,2008).

Vitamin C yang digunakan sebagai kosmetik secara topical dapat diserap dalam kulit 20X lebih banyak

dibandingkan secara oral. Asam askorbat yang terkandung dalam vitamin C dapat melindungi kulit dari pengaruh buruk sinar UV (yang dapat menyebabkan penuaan dini bahkan kanker kulit) (Tranggono dan Latifah,2007:119).

Vitamin E berfungsi sebagai antioksidan yang melindungi asam lemak tak jenuh terhadap oksidasi oleh radikal bebas. Kerja antioksidan diperkuat oleh vitamin C yang berdaya mereduksi kembali vitamin E yang sudah dioksidasi oleh radikal bebas sehingga dapat melanjutkan fungsinya kembali (Tranggono dan Latifah,2007:120).

UV protection yang terkandung dalam kosmetik berfungsi untuk melindungi kulit dari bahaya radiasi sinar matahari yang dapat menyebabkan penuaan dini (Tranggono dan Latifah, 2007).

Bahan aktif yang terkandung dalam krim muka "X" tidak bersifat *photosensitizer*, sedangkan dari bahan tambahannya zat pewarna dan zat pewangi yang terkandung dalam kosmetik bersifat *photosensitizer* (Tranggono dan Latifah,2007:45) seperti fragrance (sebagai pewangi).

Kesimpulan

Dari penelitian dapat disimpulkan bahwa krim muka "X" terbukti menimbulkan efek fototoksik berupa kemerahan setelah diuji pada kelinci sebanyak 3 ekor. Dari hasil uji fototoksik didapat nilai positif fototoksik sebesar 100% dengan rata-rata skor eritema adalah 2,33 yang artinya eritema terbatas jelas.

Daftar Pustaka

- Anonim. 2008. *Niacinamide*.<http://.google.co.id/search?q=niacinamide>.
- Gad, Shayne C. and Chengelis, Christoper. P. *Acute of Toxicology Testing Second Edition*. 1998. USA: Academic Press.
- Loomis, T.A, 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi 3 (Terjemahan). Imono, A.D. Semarang: IKIP Semarang Press
- Lu, F., 1995. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ sasaran dan penilaian*. Edisi 2, Terjemahan Edi Nugroho. Jakarta : Universitas Indonesia (UI Press)
- Notoatmojo.S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan* Edisi

- Revisi. Jakarta : PT. Rineka Cipta.
- Okumura, Y., Yamauchi, H., Takayama, S., Kato, H., Kokubu, M. 2004. *Phototoxicity Study of a Ketoprofen Poultice in Guinea Pigs*. <http://www.jstage.jst.90.jp/article/jst/30/1/19/-pdf>
- Singarimbun, M., Efendi, S. 1989. *Metode Penelitian Survey*, LP3ES, Jakarta: LP3ES
- Spielmann, H., Lovell, W.W., Holze, E., Johnson, B.E., Maurer, T., Miranda, M. A., Pape, W.J.W., Spora, O., dan Sladowski, D. 1993. <http://altweb.jhsph.edu/index.htm>
- Tranggono, R.I., Latifah, F., 2007, *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Editor, Joshita D (ED). Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.