

**OPTIMASI SABUN CAIR ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
RIMPANG JAHE MERAH (*Zingiber officinale* Rosc. var. *rubrum*)
VARIASI *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) DAN KALIUM
HIDROKSIDA (KOH) MENGGUNAKAN
*SIMPLEX LATTICE DESIGN***

NASKAH PUBLIKASI



Oleh :

Haris Fadillah

NIM. I21110008

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2014

**OPTIMASI SABUN CAIR ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
RIMPANG JAHE MERAH (*Zingiber officinale* Rosc. var. *rubrum*)
VARIASI *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) DAN KALIUM
HIDROKSIDA (KOH) MENGGUNAKAN
*SIMPLEX LATTICE DESIGN***

NASKAH PUBLIKASI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi
(S. Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura Pontianak**



Oleh :

Haris Fadillah

NIM. I21110008

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2014

NASKAH PUBLIKASI

OPTIMASI SABUN CAIR ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL RIMPANG
JAHE MERAH (*Zingiber officinale* Rosc. var. *Rubrum*) VARIASI VIRGIN
COCONUT OIL (VCO) DAN KALIUM HIDROKSIDA (KOH)
MENGUNAKAN SIMPLEX LATTICE DESIGN

Oleh :
HARIS FADILLAH
NIM : I211 10 008

Telah Dipertahankan Dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura
Tanggal : 27 Oktober 2014

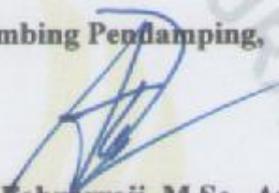
Disetujui,

Pembimbing Utama,



Bambang Wijianto, M.Sc., Apt.
NIP. 1984 1231 2009 121 005

Pembimbing Pendamping,



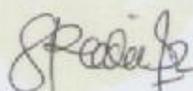
Andhi Fahrurroji, M.Sc., Apt.
NIP. 1984 0819 2008 121 003

Penguji Pertama,



Wintari Taurina, M.Sc., Apt.
NIP. 1983 0421 2008 012 007

Penguji Kedua,



Hi. Sri Wahdaningsih, M.Sc., Apt.
NIP. 1981 1101 2008 012 011

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura



dr. Bambang Sri Nugroho, Sp.PD.
NIP. 1951 1218 1978 111 001

Lulus tanggal : 27 Oktober 2014
No. SK Dekan FK Untan : 4171/UN22.9/DT/2014
Tanggal : 24 Oktober 2014

OPTIMASI SABUN CAIR ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL RIMPANG JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) VARIASI VIRGIN COCONUT OIL (VCO) DAN KALIUM HIDROKSIDA (KOH) MENGGUNAKAN SIMPLEX LATTICE DESIGN

ANTIBACTERIAL LIQUID SOAP OPTIMIZATION OF RED GINGER (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) ETHANOLIC EXTRACT WITH VIRGIN COCONUT OIL (VCO) AND POTASSIUM HYDROXIDE (KOH) VARIATION USING SIMPLEX LATTICE DESIGN

Haris Fadillah, Bambang Wijianto, Andhi Fahrurroji
Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak

Abstrak:

Sabun cair dengan zat antibakteri dapat membantu mencegah infeksi bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang merupakan penyebab penyakit kulit dan diare. Rimpang jahe merah merupakan salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai zat antibakteri pada sabun dan juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Sabun terbentuk dari hasil reaksi antara asam lemak dan alkali sehingga kualitas sabun juga ditentukan oleh kesempurnaan reaksi tersebut. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui komposisi optimum *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan Kalium Hidroksida (KOH) menggunakan metode *Simplex Lattice Design* (SLD) dan sifat fisikokimia sabun cair yang dihasilkannya. Ekstraksi dilakukan dengan metode sokletasi menggunakan etanol 96%. Hasil pengujian antibakteri ekstrak menunjukkan bahwa konsentrasi optimumnya adalah 50 mg/mL. Sabun yang diformulasikan dengan variasi VCO dan KOH memiliki rentang bobot jenis 0,955-1,045; viskositas 0,3-2,1; pH 9,366-10,566; dan alkali bebas $7,48 \times 10^{-5}$ - $1,664 \times 10^{-2}$ %. Komposisi VCO dan KOH formula optimum hasil prediksi SLD adalah 27,726% (26,386 g) VCO dan 72,275% (6,414 g) KOH. Sabun formula optimum yang diuji memiliki bobot jenis 1,03148; viskositas 0,723; pH 10,066; dan kandungan alkali bebas 0,0086%. Hasil uji beda menunjukkan bahwa sifat fisikokimia hasil pengujian tidak berbeda signifikan dengan hasil prediksi SLD ($p > 0,05$). Aktivitas antibakteri formula optimum juga tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif ($p > 0,05$).

Kata kunci: sabun cair, jahe merah, *virgin coconut oil*, kalium hidroksida, *simplex lattice design*

Abstract:

Antibacterial liquid soap help prevent the infection of pathogenic bacteria, such as *S. aureus* and *E. coli* that can cause skin infection and diarrhea. Red ginger is one of natural plants that has the potential as an antibacterial agent in soaps and also known to have antibacterial activity. Soap is formed from the reaction between a fatty acid and base so its quality is affected by the perfection of that reaction. The purpose of this study was to determine the optimum composition of VCO and KOH using Simplex Lattice Design (SLD) and its physicochemical properties. The extraction was done by soxletation method using ethanol 96%. Antibacterial test showed that the optimum concentration of the extract was 50 mg/mL. Soap with variation of the VCO and KOH had specific gravity 0,955-1,045; viscosity 0,3-2,1; pH 9,366-10,566; and free alkali $7,48 \times 10^{-5}$ - $1,664 \times 10^{-2}$ %. The composition of the VCO and KOH that predicted by SLD is 26,386 g VCO and 6,414 g KOH. This optimum formula had specific gravity 1.03148; viscosity 0.723; pH 10,066; and 0.0086% free alkali. Independent two-sample test between the physicochemical properties resulted from the test and results predicted by SLD showed no significant difference ($p > 0,05$). The antibacterial activity of optimum formula didn't differ significantly with the control ($p > 0,05$).

Keywords: liquid soap, red ginger, virgin coconut oil, potassium hydroxide, simplex lattice design

PENDAHULUAN

Sanitasi yang buruk merupakan salah satu penyebab mudahnya seseorang terserang penyakit seperti penyakit kulit dan diare akibat infeksi bakteri seperti *S. aureus* dan *E. coli*. Data statistik membuktikan bahwa sebanyak 501.280 jiwa penduduk Indonesia menderita penyakit kulit dan juga pada tahun 2010 terdapat 4204 kasus KLB diare di Indonesia^(1,2). Penggunaan produk pembersih kulit, seperti sabun dapat meminimalisir dan bahkan mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri-bakteri ini.

Sabun merupakan persenyawaan garam alkali karboksilat hasil reaksi saponifikasi antara basa/alkali (kalium atau natrium) dan asam lemak⁽³⁾. Sabun cair cenderung lebih diminati karena sabun cair lebih praktis, lebih higienis dan lebih efisien dalam pemakaiannya⁽⁴⁾. Minyak kelapa umum digunakan dalam produk-produk perawatan kulit, termasuk sabun sebab kandungan asam lauratnya yang tinggi⁽⁵⁾. *Virgin Coconut Oil* (VCO) merupakan bentuk olahan minyak kelapa yang di-buat tanpa mengubah sifat kimianya.

Karakteristik fisikokimia sabun dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu kekuatan dan kemurnian basa yang digunakan, jenis minyak yang digunakan, dan kesempurnaan proses saponifikasi yang terjadi. Konsentrasi alkali dan minyak yang digunakan menentukan kesempurnaan reaksi saponifikasi yang terjadi⁽⁶⁾. Penentuan proporsi terbaik dari dalam suatu formula sediaan (optimasi formula) dapat menggunakan metode *Simplex Lattice Design* (SLD). Metode ini akan menentukan proporsi komponen teroptimum yang disesuaikan dengan variabel atau respon yang telah ditentukan⁽⁷⁾.

Saat ini banyak ditemui produk sabun yang mengandung bahan aktif antibakteri seperti *triclosan*⁽⁸⁾. Akan tetapi, sabun yang menggunakan *triclosan* kurang efektif dalam mengurangi jumlah bakteri dan juga berdampak buruk bagi lingkungan khususnya organisme air^(9,10). Oleh sebab itu, penggunaan zat antibakteri alami dalam sabun perlu dilakukan sehingga dapat menjadi alternatif dalam menghasilkan sabun antibakteri dengan efek yang optimum. Salah satu bahan alam yang diketahui memiliki efek antibakteri

adalah jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*).

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa ekstrak etanol rimpang jahe merah pada 0,25 mg/mL dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*⁽¹¹⁾. Minyak atsiri rimpang jahe merah juga terbukti memiliki aktivitas terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan KHM 0,31 mg/mL⁽¹²⁾. Ekstrak jahe yang diperoleh secara sokletasi dengan pelarut etanol (95%) memiliki aktivitas antibakteri paling baik dibandingkan dengan ekstrak n-heksan, etil asetat, dan air yang diperoleh secara maserasi terhadap *S. aureus*⁽¹³⁾.

Penggunaan jahe merah sebagai pengganti zat antibakteri sintetik dalam sabun perlu untuk dilakukan. Diharapkan metode SLD dapat menghasilkan sabun cair dengan sifat fisikokimia yang optimum dan mampu memberikan efek antibakteri.

ALAT DAN BAHAN

Alat

Glassware (Iwaki Pyrex), otoklaf (tipe HL 36Ae), *Biological Safety Cabinet* (BSC) (ESCO class II type B2), blender (Cosmos 289-G), cawan penguap (Iwaki Pyrex), desikator, krusibel porselen, *Laminar Air Flow Cabinet* (Airtech class 100 type vertical LAF), mikropipet (acura tipe manual 825), mikroskop (Olympus tipe CX 21), mortir dan stamper, ose, oven (memmert Beschickung-Loading Model 100-800), pembakar bunsen, pH meter digital (ATC tipe pH108), *rotary evaporator* (BUCHI Rotavapor II), timbangan digital (Precisa tipe XB 4200C), viskometer Brookfield (Viscotester VT-04F), dan *waterbath* (Memmert tipe WNB14).

Bahan

akuades, alkohol 70%, anhidrida asetat (Merck), asam asetat glasial (Merck), asam oleat, asam sulfat pekat. (Merck), asam stearat, butil hidroksi toluen (BHT), etanol 96% (Merck), gliserin, HCL pekat (Merck), kalium hidroksida (KOH), kertas sampul, kertas saring Whatman no. 1, magnesium (Merck), *Mueller-Hinton Agar* (MHA) (Oxoid), natrium klorida (NaCl) 0,9%, *Nutrient Agar* (NA) (Oxoid), pereaksi besi (III) klorida 1 %, pereaksi Dragendorff, pereaksi ge-latin 1 %, pereaksi Mayer, plastik

ta-han panas (Wayang), rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *rubrum*), sabun mandi Biore PLUS, spiritus, dan *virgin coconut oil* (VCO).

Bakteri Uji

Kultur murni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang merupakan koleksi dari Unit laboratorium Kesehatan (ULK) Pontianak dan Laboratorium Departemen Mikrobiologi Universitas Indonesia.

METODE

Ekstraksi Rimpang Jahe Merah

Rimpang jahe merah dengan rentang umur 9-10 bulan diperoleh dari kebun daerah Jl. 28 Oktober, Pontianak, Kalimantan Barat. Rimpang dibentuk menjadi simplisia lalu diekstraksi dengan etanol 96% teknis menggunakan metode sokletasi dengan perbandingan 1 g sampel berbanding 10 mL pelarut. Ekstrak cair dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C dengan kecepatan putaran 100 rpm untuk menghilangkan pelarutnya. Ekstrak tersebut diuapkan lebih lanjut di atas waterbath suhu ±60°C untuk menghilangkan sisa pelarut yang mungkin masih tertinggal sehingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Jahe Merah (Uji Pendahuluan)

Metode *disc diffusion* digunakan dalam pengujian ini. Kapas ulas steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri uji yang telah disesuaikan kekeruhannya dengan larutan Mc. Farland 0,5. Kemudian diulaskan pada permukaan *MHA* ⁽¹⁴⁾.

Cakram kertas yang berukuran 6 mm diteteskan dengan larutan ekstrak rimpang

$$\rho \text{ (Bobot jenis (25°C))} = \frac{WS}{WA} \dots\dots\dots \text{persamaan 1}$$

Keterangan: ρ = bobot jenis sampel

WS = massa jenis sampel (g/mL)

WA = massa jenis akuades (g/mL)

2. Pemeriksaan Viskositas

Viskositas diukur dengan menggunakan viskometer Brookfield (Viscotester VT-04F). Sampel uji ditempatkan dalam wadah dengan nomor yang disesuaikan dengan nomor pada rotor. Rotor yang digunakan disesuaikan dengan batas viskositas yang dapat diukur. Viskositas sediaan terlihat langsung pada alat.

jahe merah dengan konsentrasi 50 mg/mL, 100 mg/mL, dan 200 mg/mL masing-masing sebanyak 20 μ L. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 15%. Setelah kering, cakram tersebut ditempatkan pada permukaan media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati zona hambat ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram ⁽¹⁴⁾.

Pembuatan Sediaan Sabun Cair Ekstrak Rimpang Jahe Merah

Rancangan formula sabun cair terlihat pada tabel 1. KOH dilarutkan dalam akuades terlebih dahulu. Larutan KOH tersebut dicampurkan dengan VCO di dalam mortir panas (80-90°C) sambil digerus selama 15-20 menit untuk memastikan proses saponifikasi sempurna. Kemudian sabun ditambahkan gliserin, asam stearat yang sebelumnya telah dilelehkan di atas penangas, dan sedikit air (± 10 mL). Akan terlihat gumpalan-gumpalan putih pada larutan. Setelah itu, ditambahkan asam oleat dan BHT lalu aduk hingga homogen (ditandai dengan tidak adanya gumpalan pada sabun). Sabun diencerkan hingga 100 mL dengan akuades sambil terus diaduk hingga homogen ⁽¹⁵⁾.

Pemeriksaan Sifat Fisikokimia Sediaan Sabun Cair

1. Pemeriksaan Bobot Jenis

Ditimbang piknometer ke-ring. Didinginkan hingga suhu 25°C. Masukkan sampel ke dalam piknometer tersebut dan tutup rapat lalu ditimbang. Sebagai pembandingan lakukan pemeriksaan terhadap akuades ⁽¹⁶⁾. Bobot jenis dihitung berdasarkan persamaan 1.

3. Pemeriksaan pH

Diambil sedikit sediaan dan ditempatkan dalam gelas beaker. pH sampel diukur menggunakan pH meter digital yang telah dikalibrasi. Ditunggu hingga pH meter stabil dan menunjukkan pH yang konstan ⁽¹⁶⁾.

4. Pemeriksaan Alkali Bebas

Dilarutkan 5 g sampel dalam 100 mL etanol 96%, Sampel dimasukkan ke dalam

labu alas bulat, diikuti dengan beberapa batu didih dan beberapa tetes phenolphthalein. Dipasang pendingin tegak pada labu, lalu labu dipanaskan di atas jaket pemanas ±30 menit. Larutan dititrasi dengan HCl dalam alkohol hingga warna merah tepat hilang ⁽¹⁶⁾. Kadar alkali bebas dihitung dengan persamaan 2.

Pembuatan dan Pemeriksaan Sifat Fisikokimia Sediaan Sabun Cair Formula Optimum

Data-data hasil pengujian respon diolah dengan menggunakan program *Design*

$$\% \text{ alkali bebas} = \frac{V \times N \times 0,04}{W} \times 100\% \dots\dots\dots \text{persamaan 2}$$

- Keterangan: V = Volume HCl yang digunakan untuk titrasi (mL)
 N = Normalitas HCl (N)
 W = Bobot sampel (g)
 0,04= Bobot setara NaOH

Pengujian Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair Formula Optimum

Prosedur pengujian sama dengan saat pengujian aktivitas ekstrak. Sampel sabun cair formula optimum, kontrol negatif (sabun cair formula optimum tanpa zat aktif), dan kontrol positif (sabun cair dengan *triclosan*) ditetaskan sebanyak 20 µL pada cakram. Cakram diletakkan pada permukaan media *MHA* yang telah ulas bakteri uji. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diamati zona bening yang terbentuk ⁽¹⁴⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Skrining Fitokimia Sampel

Ekstraksi dilakukan dengan metode sokletasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode sokletasi dinilai lebih efektif dalam menyari zat antibakteri dalam jahe dibanding maserasi ⁽¹³⁾. Senyawa-senyawa metabolit aktif yang berefek antibakteri seperti polifenol, tanin, flavonoid, dan terpenoid yang terkandung dalam rimpang jahe merah mudah larut di dalam etanol ⁽¹⁷⁾. Ekstraksi rimpang jahe merah dengan pelarut organik polar memiliki rendemen hasil yang lebih besar ⁽¹⁸⁾. Hasil sokletasi terlihat pada tabel 2.

Hasil skrining menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang jahe merah mengandung senyawa alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, dan terpenoid. Hal ini dikarenakan sifat etanol sehingga dapat mengekstraksi senyawa-senyawa tersebut. Hasil skrining

Expert 9.0.3.1 Trial untuk menentukan komposisi VCO dan KOH dengan menghasilkan respon (bobot jenis, viskositas, pH dan persen alkali bebas) terbaik. Formula optimum hasil prediksi *SLD* dibuat dan diuji sifat fisikokimianya untuk mengetahui apakah hasil prediksi program dan hasil pengujian (aktual) berbeda signifikan atau tidak. Prosedur pembuatan sediaan dan pemeriksaan fisikokimia sabun cair optimum sama dengan saat pembuatan dan pemeriksaan formula F1-F5.

fitokimia ekstrak rim-pang jahe merah dapat dilihat pada tabel 3.

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Jahe Merah

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak rimpang jahe merah terhadap bakteri uji dapat dilihat pada tabel 4. Perbedaan konsentrasi efektif dan diameter zona hambat yang dihasilkan diduga diakibatkan adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram positif (*S. aureus*) memiliki struktur yang lebih sederhana dibanding dinding sel bakteri Gram negatif (*E. coli*) yakni hanya tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam teikoat. Lapisan-lapisan tersebut terdiri dari polimer yang dapat larut air sehingga memudahkan senyawa antibakteri yang bersifat polar, seperti senyawa fenolik (flavonoid dan tanin), untuk berpenetrasi ke dalam sel. Dinding sel bakteri Gram negatif (*E. coli*) lebih kompleks dan terdiri dari substansi seperti lipid (non polar), yakni fosfolipid, polipeptida, dan lipopolisakarida (LPS) sehingga mempersulit senyawa polar yang terkandung di dalam ekstrak untuk menebusnya ^(19,20). Tingginya konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk dapat menghasilkan efek antibakteri terhadap *E. coli* dibandingkan terhadap *S. aureus* diduga disebabkan oleh sedikitnya senyawa non polar yang memiliki aktivitas antibakteri, seperti terpenoid yang terkandung di dalam ekstrak.

Tabel 1. Formula Sabun Cair Ekstrak Rimpang Jahe Merah

Bahan	Komposisi				
	F1	F2	F3	F4	F5
Ekstrak etanol rimpang jahe merah			X		
VCO	30 g	28,75 g	27,5 g	26,25 g	25 g
KOH	2,8 g	4,05 g	5,3 g	6,55 g	7,8 g

Keterangan: Setiap formula terdiri dari Asam stearat 2,5 g; Asam oleat 5 g; Gliserin 5 g; BHT 0,1 g; dan akuades hingga 100 mL.

Perbandingan VCO:KOH (F1=100:0; F2=75:25; F3=50:50; F4=25:75; F5=0:100)

X = konsentrasi optimum ekstrak rimpang jahe merah hasil uji pendahuluan.

Senyawa *marker* yang terkandung dalam rimpang jahe merah adalah gingerol. Senyawa ini akan berinteraksi dengan dinding sel bakteri melalui proses adsorpsi dengan melibatkan ikatan hidrogen. Kompleks protein-fenol yang terbentuk tersebut memiliki ikatan yang lemah dan segera mengalami

peruraian. Setelah terurai, fenol akan bebas kembali dan akan berpenetrasi ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein di dalam sel bakteri. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein sehingga membran sel mengalami lisis⁽²¹⁾.

Tabel 2. Hasil Sokletasi Simplisia Rimpang Jahe Merah

Berat awal simplisia (g)	Pelarut Etanol 96% (mL)	Berat ekstrak yang diperoleh (g)	Rendemen (% b/b)	Warna ekstrak kental
323,08 g	3150 mL	52,2 g	17,223 %	Coklat tua

Analisis statistik menunjukkan bahwa diameter zona hambat dipengaruhi secara nyata oleh konsentrasi ekstrak ($p < 0,05$). Konsentrasi ekstrak optimum berdasarkan analisis statistik adalah 50 mg/mL sebab zona hambat yang dihasilkan tidak berbeda signifikan antar kelompok konsentrasi ($p > 0,05$). Tidak digunakannya konsentrasi 200 mg/mL dikhawatirkan sabun yang diformulasikan dapat menyebabkan iritasi kulit sebab kandungan shogaol ekstrak mampu memberikan rasa pedas pada kulit⁽¹⁸⁾.

Tabel 4. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (n=3; $\bar{X} \pm SD$)

Konsentrasi (mg/mL)	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
50	11±1,732	0
100	13±2,645	0
200	7,667±1,527	12,333±2,309
Kontrol (-)	0	0

Keterangan: 0 = tidak terdapat zona hambat (memiliki diameter 6 mm)

n = jumlah data

\bar{X} = rata-rata

SD = simpangan baku

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah

No.	Metabolit Sekunder	Reagen	Pengamatan		Hasil
			Sebelum	Sesudah	
1.	Alkaloid	Mayer	Merah kecoklatan	endapan putih	+
		Dragendroff	Merah kecoklatan	endapan merah bata	+
2.	Fenol	FeCl ₃ 1%	Merah kecoklatan	warna biru kehitaman	+
3.	Tanin	Gelatin 1%	Merah kecoklatan	endapan putih	+
4.	Flavonoid	Mg, HCl	Merah kecoklatan	warna kuning	+
5.	Saponin	Air	Merah kecoklatan	Tidak berbuih	-
6.	Uji Lieberman – Burchard	As. Sulfat, Anhidrida asetat	Merah kecoklatan	cincin merah (terpenoid)	+

Keterangan: (-) = negatif/tidak ada, (+) = positif/ada

Hasil Pemeriksaan Sifat Fisikokimia Sediaan Sabun Cair

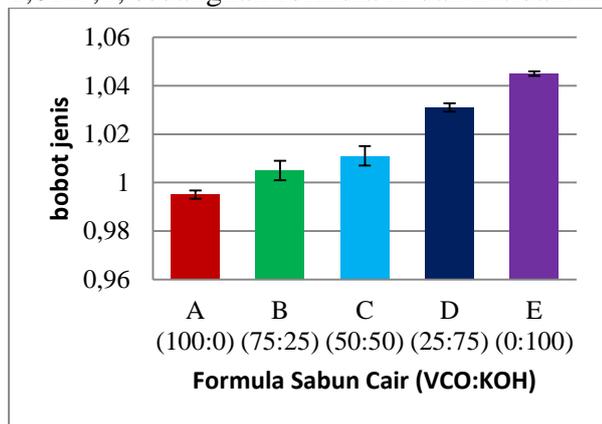
Hasil pengujian sifat fisikokimia dapat dilihat pada tabel 5. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa sifat fisikokimia

sabun dipengaruhi secara signifikan oleh variasi VCO dan KOH ($p < 0,05$).

Hasil Pemeriksaan Bobot Jenis

Optimasi terhadap bobot jenis sabun cair bertujuan untuk mengetahui apakah

sabun yang diformulasikan telah memenuhi standar yang dipersyaratkan oleh SNI, yaitu 1,01-1,1⁽¹⁶⁾. Selain itu juga untuk mengetahui apakah variasi VCO dan KOH dapat memengaruhi nilai bobot jenis dari sabun yang terbentuk. Hasil tersebut menunjukkan bahwa formula C (50:50), D (25:75), dan E (0:100) memiliki bobot jenis yang sesuai dengan rentang yang dipersyaratkan SNI yaitu 1,01-1,1; sedangkan formula A dan B tidak.



Gambar 1. Diagram Pengaruh Variasi VCO dan KOH Terhadap Bobot Jenis

Gambar 1 menunjukkan bahwa perubahan nilai bobot jenis dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi bahan dalam larutan tersebut. Semakin tinggi nilai berat molekul dan massa jenis bahan baku yang ditambahkan, maka akan semakin tinggi pula bobot jenis produk sabun yang dihasilkan⁽²²⁾. Jadi semakin banyak KOH yang digunakan dan semakin sedikit VCO-nya maka semakin besar bobot jenis sabun tersebut sebab KOH memiliki massa jenis (2,04 g/mL) yang lebih besar dibanding VCO (0,915-0,920 g/mL)^(23,24). Hal inilah yang menyebabkan formula E (0:100) dengan bagian KOH lebih banyak memiliki bobot jenis terbesar dan formula A (100:0)

dengan bagian VCO lebih banyak memiliki bobot jenis terkecil (di bawah 1).

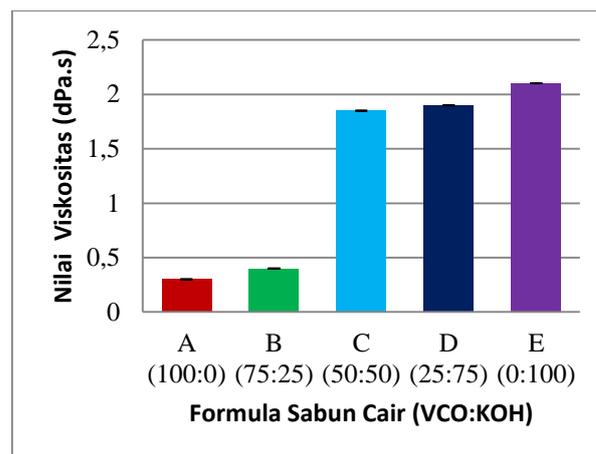
Respon bobot jenis diatur kriterianya dengan *goals in range* dengan rentang 1,01-1,1 sebab bobot jenis sabun yang dihasilkan harus sesuai dengan bobot jenis yang dipersyaratkan oleh SNI. Berdasarkan hasil analisis program model polinomial yang disarankan untuk bobot jenis adalah *quartic*. Persamaan polinomial untuk respon bobot jenis ditunjukkan pada persamaan 3.

$$\text{Bobot jenis} = 1 A + 1,05 B - 0,034 AB - 9,53 \times 10^{-3} AB(A-B) + 0,095 AB(A-B)^2 \dots \dots \dots \text{persamaan 3}$$

Keterangan: A = proporsi VCO
B = proporsi KOH

Hasil Pemeriksaan Viskositas

Viskositas sabun cair ikut berpengaruh terhadap *acceptable* dari konsumen. Selain itu, nilai viskositas yang tinggi akan mengurangi frekuensi tumbukan antar partikel di dalam sabun sehingga sediaan lebih stabil⁽²⁵⁾.



Gambar 2. Diagram Pengaruh Variasi VCO dan KOH terhadap Viskositas

Tabel 5. Hasil Uji Sifat Fisikokimia Sabun Cair F1-F5 (n=3; $\bar{X} \pm SD$)

Formula (VCO:KOH)	Respon			
	Bobot Jenis	Viskositas (dPa.s)	pH	Alkali Bebas (%)
A (100:0)	0,995±0,001	0,3±0	9,366±0,057	7,480 x 10 ⁻⁵ ±1,619 x 10 ⁻⁵
B (75:25)	1,005±0,004	0,4±0	9,566±0,057	4,675 x 10 ⁻⁴ ±1,619 x 10 ⁻⁴
C (50:50)	1,011±0,004	1,85±0	9,866±0,057	2,150 x 10 ⁻³ ±1,619 x 10 ⁻⁴
D (25:75)	1,031±0,001	1,9±0	10,033±0,057	2,711 x 10 ⁻³ ±4,284 x 10 ⁻⁴
E (0:100)	1,045±0,001	2,1±0	10,566±0,057	1,664 x 10 ⁻² ±8,569 x 10 ⁻⁴

Keterangan: n = jumlah data
 \bar{X} = rata-rata
SD = simpangan baku

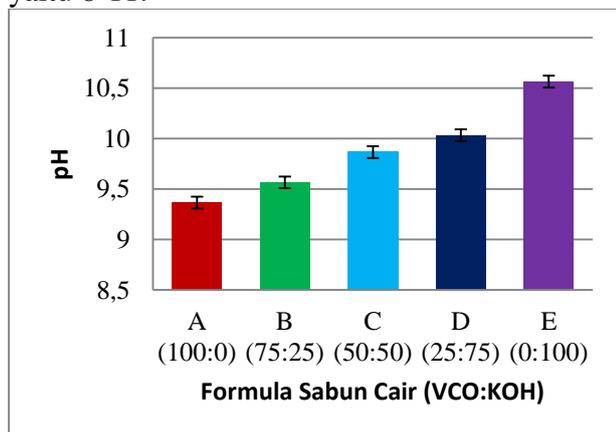
Respon viskositas diatur kriterianya dengan *goals maximize* dengan tingkat *importance* +++ (cukup penting). Nilai viskositas yang tinggi diharapkan dapat meningkatkan nilai *acceptable* dari konsumen serta lebih stabil. Nilai limit viskositas yang digunakan adalah 0,85 dPa.s untuk nilai terendah (sebab rata-rata viskositas sabun cair adalah 85 mP⁽²⁶⁾). dan 2,1 dPa.s untuk nilai tertinggi (berdasarkan nilai tertinggi hasil pengukuran). Berdasarkan hasil analisis program model polinomial yang disarankan untuk viskositas adalah *cubic*. Persamaan polinomial untuk viskositas ditunjukkan pada persamaan 4.

$$\text{Viskositas} = 0,24 A + 2,04 B + 1,37 AB - 3,2 AB(A-B) \dots \dots \dots \text{persamaan 4}$$

Keterangan: A = proporsi VCO
B = proporsi KOH

Hasil Pemeriksaan pH

pH dapat mempengaruhi daya adsorpsi kulit yang dapat berakibat pada iritasi kulit, oleh karena itu produk kosmetik sebaiknya dibuat dengan menyesuaikan pH kulit, yaitu berkisar 4,5–7,0⁽³⁾. SNI mensyaratkan pH sabun cair adalah 8-11⁽¹⁶⁾. Walaupun pH sabun tinggi, kenaikan pH kulit saat pemakaian sabun tidak akan melebihi 7⁽²⁸⁾. Hasil menunjukkan bahwa semua formula memiliki pH yang sesuai dengan rentang standar yang dipersyaratkan oleh SNI, yaitu 8-11.



Gambar 3. Diagram Pengaruh Variasi VCO dan KOH terhadap pH

Gambar 3 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi KOH yang digunakan maka semakin tinggi pula pH sabun yang dihasilkan. KOH merupakan senyawa basa kuat dan bila terionisasi akan sempurna menjadi OH⁻ yang dapat mempengaruhi nilai pH secara signifikan⁽²⁹⁾.

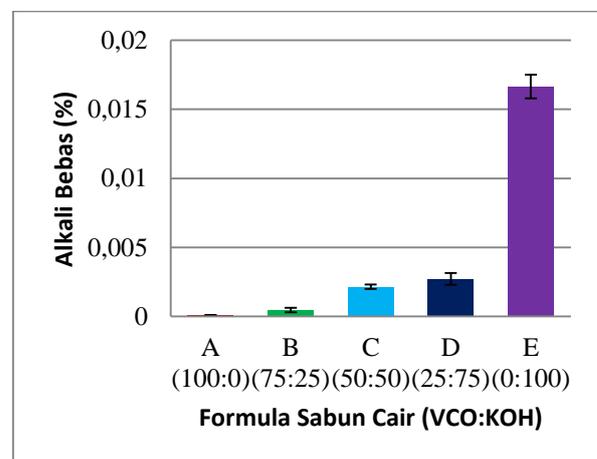
Respon pH diatur kriterianya dengan *goals in range* dengan rentang 8-11 yang disesuaikan dengan syarat pH SNI. Berdasarkan hasil analisis program model polinomial yang disarankan untuk pH adalah *quartic*. Persamaan polinomial untuk respon pH ditunjukkan pada persamaan 5.

$$\text{pH} = 9,37 A + 10,57 B - 0,4 AB + 0,71 AB(A-B) - 1,96 AB(A-B)^2 \dots \dots \dots \text{persamaan 5}$$

Keterangan: A = proporsi VCO
B = proporsi KOH

Hasil Pemeriksaan Persen Alkali Bebas

Persen alkali bebas yang tinggi (di atas 0,22 %) dapat menyebabkan kulit kering dan iritasi karena basa yang digunakan merupakan basa kuat. pH bukanlah parameter utama yang menyebabkan kulit menjadi teriritasi. Parameter utama penyebab iritasi kulit pada sabun adalah alkali bebas. Biasanya kadar alkali bebas yang tinggi ditandai pula dengan pH sabun yang terlalu basa (pH di atas 11)⁽¹⁵⁾. Standar maksimum persen alkali bebas yang telah ditetapkan oleh SNI untuk sabun dengan basa KOH tidak boleh melebihi 0,14%⁽¹⁶⁾. Hasil pengukuran tersebut menunjukkan bahwa semua formula memiliki kandungan alkali bebas yang masih diperbolehkan oleh SNI.



Gambar 4. Diagram Pengaruh Variasi VCO dan KOH terhadap Persen Alkali Bebas

Gambar 4 menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah KOH yang digunakan tanpa diimbangi dengan jumlah VCO atau minyak yang cukup maka semakin tinggi pula kandungan alkali bebasnya sebab reaksi saponifikasi yang terjadi tidak sempurna. Jumlah minyak yang tersedia tidak cukup untuk menyabunkan atau mengikat KOH yang

berlebih sehingga jumlah alkali yang bebas pun besar ^(6,15). Walaupun demikian, perlu diketahui bahwa substansi alkali inilah yang berperan menetralkan lapisan asam pada kulit dengan kata lain alkali pada sabun juga ikut memberikan efek pembersihan bagi kulit ⁽³⁰⁾.

Respon persen alkali bebas diatur kriterianya dengan *goals minimize* dan tingkat *importance* ++++ (penting). Hal ini dikarenakan parameter alkali bebas merupakan parameter terpenting dalam menentukan tingkat keamanan sabun. Kadar alkali bebas yang tinggi dapat menyebabkan kulit iritasi akibat basa kuat yang digunakan dalam sabun sehingga kadar alkali bebas dalam sabun haruslah seminimal mungkin. Batas nilai yang ditentukan untuk respon ini adalah 0-0,1 sesuai dengan standar SNI ⁽¹⁶⁾. Berdasarkan hasil analisis program model polinomial yang disarankan untuk viskositas adalah *quartic*. Persamaan polinomial untuk respon persen alkali bebas ditunjukkan pada persamaan 6.

$$\% \text{ Alkali Bebas} = 7,48 \times 10^{-5} A + 0,017 B - 0,025 AB + 0,032 AB(A-B) - 0,045 AB(A-B)^2 \dots \dots \dots \text{persamaan 6}$$

Keterangan: A = proporsi VCO
B = proporsi KOH

Hasil Pemeriksaan Sifat Fisikokimia Sabun Cair Formula Optimum

Formula optimum hasil prediksi program terdiri dari 27,726% (26,386 g) VCO dan 72,275% (6,414 g) KOH dengan nilai untuk tiap respon adalah sebagai berikut: bobot jenis sebesar 1,029; viskositas sebesar 2,1 dPa.s; pH sebesar 10,012; dan % alkali bebas sebesar 0,00240%. Nilai *desirability* yang diperoleh untuk prediksi ini adalah sebesar 0,986. Nilai *desirability* yang mendekati 1 menunjukkan bahwa nilai respon aktual akan memiliki kemungkinan yang besar untuk tidak berbeda signifikan dengan

nilai respon hasil prediksi. Hasil pengujian dan analisis statistik sifat fisikokimia sediaan sabun cair formula optimum dapat dilihat pada tabel 6.



Gambar 5. Formula optimum sabun cair ekstrak rimpang jahe merah

Berdasarkan hasil uji pada tabel 6 menunjukkan bahwa nilai aktual dan nilai prediksi yang dihasilkan oleh formula optimum tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Hal ini berarti bahwa persamaan yang disarankan oleh program *Design Expert 9.0.3.1 Trial* dengan metode *SLD* dapat memprediksi nilai-nilai yang akan dihasilkan oleh setiap respon pada formula optimum sabun cair. Hasil perbandingan antara nilai aktual dan dengan nilai PI (*Prediction Interval*) juga menunjukkan bahwa nilai aktual masih masuk ke dalam rentang 95% PI *low* dan 95% PI *high*. Hal ini juga membuktikan bahwa formula optimum dengan nilai *desirability* tertinggi memiliki hasil pengujian yang sesuai dengan prediksi yang direkomendasikan oleh program. Bentuk sediaan sabun cair formula optimum dapat dilihat pada gambar 5 ⁽³¹⁾.

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair Formula Optimum

Hasil pengujian aktivitas antibakteri formula optimum dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 6. Hasil Pengujian dan Analisis Sifat Fisikokimia Formula Optimum (n=3, $\bar{x} \pm SD$)

Parameter	Hasil Prediksi	95% PI low	95% PI high	Hasil Uji	Signifikansi
Bobot Jenis	1,029	1,02	1,04	1,03148±0,0007	p>0,05
Viskositas (dPa.s)	2,1	1,44	2,76	0,723±0,032	p>0,05
pH	10,012	9,87	10,16	10,066±0,057	p>0,05
Alkali Bebas (%)	0,00240	0,00129	0,00351	0,0086±0,00085	p>0,05

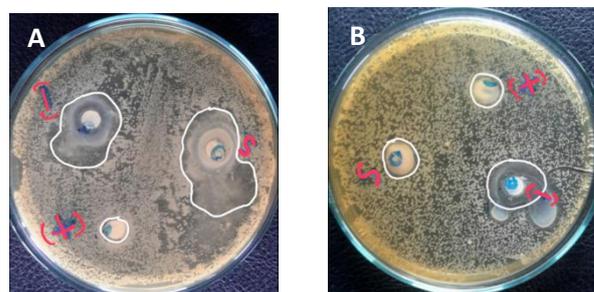
Keterangan: n = jumlah data
 \bar{X} = rata-rata
SD = simpangan baku

Tabel 7 menunjukkan bahwa terdapat peningkatan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak jahe merah dengan

konsentrasi 50 mg/mL saat diformulasikan ke dalam sabun cair. Peningkatan aktivitas ini diduga dikarenakan keberadaan zat *enhancer*

yakni asam oleat sehingga difusi ekstrak jahe merah ke dalam media meningkat. Selain itu, sediaan sabun itu sendiri merupakan sediaan yang bersifat surfaktan sehingga sediaan sabun ini dapat membantu penghantaran senyawa aktif ke dalam media yang bersifat hidrofilik atau pun hidrofobik^(32,33). Saat sabun diaplikasikan pada kulit, pori-pori lapisan *stratum corneum* akan melebar (*swelling*) sehingga permeabilitas kulit pun akan meningkat. Hal ini menyebabkan mudahnya senyawa aktif sabun untuk menembus lapisan *stratum corneum* kulit dan sampai pada bagian kulit yang merupakan habitat bakteri seperti kelenjar minyak^(3,34). Diduga hal ini juga terjadi pada media saat pengujian aktivitas antibakteri. Hasil pengujian juga menunjukkan bahwa sabun cair tanpa zat aktif juga memiliki aktivitas antibakteri. Diduga aktivitas ini muncul dari komponen-komponen penyusun seperti *VCO* dan gliserin. Monolaurin, senyawa monogliserida, yang terkandung di dalam minyak kelapa memiliki aktivitas antibakteri termasuk terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*⁽³⁵⁾. Senyawa monolaurin ini akan merusak lapisan dinding dan membran sel bakteri sehingga mengakibatkan kebocoran sel dan akhirnya berujung pada kematian sel^(36,35). Gliserin dengan penggunaan di bawah 20% dapat berfungsi sebagai pengawet (*antimicrobial preservative*)⁽²⁴⁾. Zona hambat sabun cair dapat dilihat pada

gambar 5. Hasil analisis ragam data *S. aureus* menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri tidak dipengaruhi secara signifikan oleh jenis sabun ($p>0,05$). Sedangkan *E. coli* menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan oleh jenis sabun terhadap aktivitas antibakterinya ($p<0,05$). Zona hambat yang dihasilkan terhadap *S. aureus* tidak berbeda antara satu dengan lainnya ($p>0,05$). Hasil uji beda membuktikan bahwa formula optimum sabun cair baik yang plasebo maupun yang mengandung ekstrak memiliki aktivitas yang tidak berbeda signifikan dengan sabun cair pasaran yang mengandung *triclosan*.



Keterangan: (-) = sabun cair formula optimum tanpa ekstrak jahe merah
 (+) = sabun cair yang beredar dipasaran dengan zat aktif *triclosan*
 S = sampel formula optimum

Gambar 6. Zona hambat sabun cair terhadap bakteri *S. aureus* (A) dan *E. coli* (B)

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Sabun Cair Formula Optimum (n=3, $\bar{x}\pm SD$)

Bakteri Uji	Bahan Uji	Diameter Zona Hambat (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ekstrak Jahe merah (50 mg/mL)	11±1,732
	Formula Optimum	12,666±5,773
	Kontrol (-)	12,833±1,892
	Kontrol (+)	11,583±2,402
<i>Escherichia coli</i>	Ekstrak jahe merah (50 mg/mL)	0
	Formula Optimum	15,916±3,891
	Kontrol (-)	13,583±4,002
	Kontrol (+)	12,166±2,696

Keterangan: Kontrol (-) = sabun cair formula optimum tanpa ekstrak jahe merah
 Kontrol (+) = sabun cair yang beredar dipasaran dengan zat aktif *triclosan*
 n = jumlah data
 \bar{X} = rata-rata
 SD = simpangan baku

KESIMPULAN

Komposisi *VCO* dan KOH optimum berturut-turut adalah 26,386 g dan 6,414 g (27,726:72,274). Hasil prediksi *SLD* dan hasil

aktual tidak berbeda signifikan yang artinya metode *SLD* dapat memprediksi formula optimum dan respon bobot jenis, viskositas, pH, serta persen alkali bebas sabun cair yang dibuat. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan

oleh sabun cair formula optimum tidak berbeda signifikan dengan sabun yang mengandung *triclosan*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Clinical Pathway di Rumah Sakit: Penyakit Kulit dan Jaringan Subkutan*. Jakarta: Direktorat Jendral Bina Pelayanan Medik; 2006.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Situasi Diare di Indonesia*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI; 2011.
3. Wasitaadmadja. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press; 1997. Hal. 97-100.
4. Albari, Liriswati A. Analisis Minat Beli Konsumen Sabun Cair Lux, Biore dan Lifebuoy di Kotamadya Yogyakarta Ditinjau Dari Pengaruh Sikapnya Setelah Melihat Iklan Di Televisi dan Norma Subyektif. *Jurnal Siasat Bisnis*. 2004; 2: Hal. 215 – 239.
5. Duryatmo S. Kombinasi VCO dan Buah Merah. Dalam *Trubus* No.431. Jakarta; 2005. Hal. 11-15.
6. Mak-Mensah EE, Firempong CK. Chemical Characteristics of Toilet Soap Prepared From Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Seed Oil. *Asian J Pl Sci and Res*. 2011; 1(4): Hal. 1-7.
7. Kurniawan DW, Sulaiman TNS. *Teknologi Sediaan Farmasi*. Yogyakarta: Graha Ilmu; 2009. Hal 92, 93, 97.
8. Simon, Kenny. Penghambatan Sabun Mandi Cair Berbahan Aktif Triclosan Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Di Daerah Babarsari, Sleman, Yogyakarta. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Fakultas Teknobiologi; 2012.
9. Aiello AE, Larson EL, Levy SB. Consumer antibacterial soaps: effective or just risky? *Clinical Infectious Diseases*. 2007; 45(2): Hal. 137-147.
10. Tatarazako N, Ishibashi H, Teshima K, Kishi K, Arizono K. Effects of Triclosan on Various Aquatic Organisms. *Environ Sci: Int J Environ Physiol and Toxicol*. 2004; 11(2): Hal. 133-140.
11. Prasti S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *rubrum*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Skripsi*. Pontianak: Universitas Tanjungpura, Fakultas Kedokteran; 2012.
12. Sivasothy Y, Chong WK, Hamid A, Eldeen IM, Sulaiman SF, Awang K. Essential Oils of *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and Their Antibacterial Activities. *Fd Chem*. 2011; 124: Hal. 514–517.
13. Malu SP, Obochi GO, Tawo EN, Nyong BE. Antibacterial Activity and Medicinal Properties of Ginger (*Zingiber officinale*). *Glo J Pure and Appl Sci*. 2009; 15(3): Hal. 365-368.
14. ICMR. Detection of Antimicrobial Resistance in Common Gram Negative and Gram Positive Bacteria Encountered in Infectious Diseases-An Update. *ICMR Bulletin*. 2009; 39: Hal. 2-5.
15. Hernani, Bunasor TK, Fitriati. Formula Sabun Transparan Antijamur Dengan Bahan Aktif Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga* L.Swartz.). *Bul. Littro*. 2010; 21(2): Hal. 192-205.
16. Dewan Standardisasi Nasional. *SNI 06-4085-1996: Sabun Mandi Cair*. Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional; 1996.
17. Akintobi O, Onoh C, JO O, Idowu A, Ojo O, Okonko I. Antimicrobial Activity Of *Zingiber Officinale* (Ginger) Extract Against Some Selected Pathogenic Bacteria. *Nat and Sci*. 2013; 11(1): Hal. 7-15.
18. Rahminiwati M, Aulia AMP, Saadiah S, Andriyanto , Soeripto , Unang P. Bioprospeksi Ekstrak Jahe Gajah Sebagai Anti-CRD: Kajian Aktivitas Antibakteri Terhadap *Mycoplasma galliseptikum* dan *E. coli* *In Vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 2010; 15(1): Hal. 7-13.
19. Radji M. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2010. Hal. 125-127, 180.
20. Madigan M, Martinko JM, Parker J. *Brock Biology of Microorganisms*. 10th ed. Upper Saddle River, New Jearsey: Pearson Education, Inc; 2003. Hal. 58, 59, 81, 730.

21. Juliantina F, Citra D, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo E. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakteri Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2008; 15: Hal. 1-10.
22. Musy R. Efek Sabun Asam Salisilat 2% Sebagai Penunjang Terapi Topikal Gel Bensoil Peroksida 10% untuk *Acne vulgaris* Derajat Ringan Sampai Sedang. *Jurnal Ilmu Kedokteran*. 2003; 35(4): Hal. 211-218.
23. Kamariah L, Azmi A, Rosmawati A, Ching MGW, Azlina MD, Sivapragasam A, et al. Physico-chemical and Quality Characteristics of Virgin Coconut Oil – A Malaysian Survey. *J Trop Agric and Fd Sci*. 2008; 36(2): Hal. 1-10.
24. Rowe R, Paul JS, Sian CO. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 5th ed. Washington DC: Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association; 2006. Hal. 81, 82, 301-303, 494, 495, 605, 606, 737-739.
25. Suryani A, Sailah I, Hambali E. *Teknologi Emulsi Bogor*: Institute Pertanian Bogor; 2000. Hal. 32.
26. Burkle G. Viscosity of Fluids. [Online]; 2011 [diakses tanggal 19 September 2014]. https://www.buerkle.de/media/files/Downloads/Viscosity_EN.pdf.
27. Wijana S, Pranowo D, Taslimah MY. Penggandaan Skala Produksi Sabun Cair Dari Daur Ulang Minyak Goreng Bekas. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2010; 11(2): Hal. 114-122.
28. Qisty R. Sifat Kimia Sabun Transparan dengan Penambahan Madu pada Konsentrasi Yang Berbeda. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, Ilmu Peternakan; 2009.
29. Oxtoby WD, Gillis HP, Norman HN. *Prinsip-Prinsip Kimia Modern*. Jakarta: Erlangga; 2001. Hal. 52.
30. Kaoru T. *Surface Activity: Principles, Phenomena and Application*. San Diego: Academic Press; 1998. Hal. 21, 22.
31. Buxton R. Design Expert 7: Introduction, Mathematics Learning Support. [Online]; 2007 [diakses tanggal 25 September 2014]. http://mls/boro.ac.uk/resources/statistics/design_expert.7.pdf.
32. Swarbrick J, Boylan J. *Percutaneous Absorption, in Encyclopedia of Pharmaceutical*. New York: Marcel Dekker Inc.; 1995. Hal. 413-418.
33. Sukmawati A, Suprpto. Efek Berbagai Peningkat Penetrasi Terhadap Penetrasi Perkutaneal Gel Natrium Diklofenak Secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. 2010; 11(2): Hal. 117-125.
34. Draeos ZD. *Cosmetic dermatology : products and procedures*. Inggris: Wiley-Blackwell; 2010. Hal. 77, 79-81.
35. Thormar H, Hilmarsson H, Bergsson G. Stable Concentrated Emulsions of the 1-monoglyceride of Capric Acid (Monocarpin) with Microbicidal Activities Against the Food-borne Bacteria *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72(1): Hal. 522-526.
36. Viste GB, Silvestre RC, Tabije NB, Silvestre JQ. Efficacy of Virgin Coconut (*Cocos nucifera*) Oilsoap Against Mange in Dogs. *Int Sci Res J*. 2013; 5(2): Hal. 227-241.