

***In vitro* penetration of alpha arbutin niosome span 60 system in gel preparation**

Penetrasi alpha arbutin sistem niosom span 60 dalam sediaan gel secara *in vitro*

Rise Desnita*, Sri Luliana, Silvana Anggraini
Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Bansir Laut, Pontianak

Submitted: 12-07-2017

Reviewed: 08-08-2017

Accepted: 14-09-2017

ABSTRAK

Alpha arbutin merupakan senyawa hidrofilik yang sulit melewati stratum korneum. Salah satu upaya dalam meningkatkan penetrasi obat melalui stratum korneum ialah dengan dibuat sistem niosom. Penelitian ini bertujuan mengetahui konsentrasi optimal span 60 dalam meningkatkan efisiensi penjeratan niosom dan mengetahui peningkatan penetrasi alpha arbutin dalam sediaan gel niosom secara *in vitro*. Niosom terdiri dari campuran span 60 dan kolesterol yang dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis. Konsentrasi span 60 divariasikan dalam tiga formula yakni 100, 150 dan 200 μ mol. Sediaan gel dibuat dalam dua formula yaitu formula gel niosom alpha arbutin dan gel alpha arbutin. Uji efisiensi penjeratan menggunakan metode *dialysis tubing cellulose membrane*. Uji penetrasi secara *in vitro* menggunakan sel difusi franz tipe *flow-trough* dengan lepasan kulit ular. Hasil penentuan efisiensi penjeratan menunjukkan formula 100 μ mol memiliki efisiensi penjeratan optimal yakni sebesar 99,09% \pm 0,17. Hasil uji penetrasi secara *in vitro* dengan membran lepasan kulit ular menunjukkan penggunaan span 60 sebagai penyusun niosom dalam sediaan gel dapat meningkatkan penetrasi alpha arbutin dengan jumlah kumulatif persen difusi selama 8 jam sebesar 91,62% \pm 2,32 dibandingkan gel alpha arbutin tanpa sistem niosom yakni sebesar 73,00% \pm 0,94.

Kata kunci : niosom, alpha arbutin, span 60, penetrasi *in vitro*

ABSTRACT

Alpha arbutin is a hydrophilic compound which is difficult to pass through the stratum corneum. One of the effort to increase the penetration of the drug through the stratum corneum is by making in niosome system. This study aims to determine the optimum concentration of span 60 to improve the entrapment efficiency of niosome and investigate the increasing penetration of alpha arbutin using the niosome system in the preparation of the gel *in vitro*. Niosome consist a mixture of span 60 and cholesterol it made by thin layer hydration method. Concentration of span 60 was varied into three formulas were 100, 150 and 200 μ mol. The formulation of gel was made in two formulas including formulation of niosome alpha arbutin and alpha arbutin in gel. The determination of entrapment efficiency showed that formula 100 μ mol has an optimum entrapment efficiency by 99.09% \pm 0.17.

Penulis korespondensi:

Rise Desnita

Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Bansir Laut, Pontianak

Email: risedesnita@gmail.com

The *in vitro* penetration tests with shed snake skin membrane showed that usage span 60 as a niosome composer could increase penetration of alpha arbutin in gel formulation with cumulative numbers of diffusion in 8 hours was $91.62\% \pm 2.32$ compared to alpha arbutin in gel without niosome system about $73.00\% \pm 0.94$.

Keyword: niosome, alpha arbutin, span 60, *in vitro* penetration

PENDAHULUAN

Alpha arbutin adalah metabolit sekunder golongan glikosida fenolik yang bertindak sebagai *whitening agent* dengan menghambat sintesis melanin berlebih di dalam kulit. Alpha arbutin mempunyai kendala yakni sulitnya berpenetrasi ke dalam kulit karena sifatnya yang hidrofilik. Salah satu usaha dalam mengatasi permasalahan ini ialah dengan dibuat sistem vesikel yaitu niosom. Niosom dapat bertindak sebagai *enhancer* dengan mempengaruhi konformasi lipid bilayer stratum korneum akibatnya fungsi barrier stratum korneum akan menurun (Choi dan Maibach, 2005).

Niosom tersusun dari kolesterol dan surfaktan nonionik sebagai komponen utamanya. Surfaktan dengan nilai HLB antara 4 sampai 8 cenderung memiliki kemampuan untuk membentuk vesikel (Sahin, 2007). Span 60 merupakan surfaktan nonionik yang sering digunakan sebagai penyusun niosom dengan nilai HLB 4,7 (Rowe *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian (Rahman *et al.*, 2011) menunjukkan Span 60 memiliki kemampuan penjerapan terbaik dibandingkan span 20 dan span 80 yakni sebesar 66,16%. Oleh karenanya, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi optimal span 60 yang dapat meningkatkan efisiensi penjerapan niosom dan mengetahui peningkatan penetrasi alpha arbutin dalam sediaan gel niosom secara *in vitro*.

Alpha arbutin diformulasikan dengan sistem niosom dalam bentuk sediaan gel. Sediaan gel dipilih karena memberikan kontak yang lama pada kulit dan mampu berpenetrasi lebih jauh dalam lapisan kulit (Lund, 1994). Niosom dibuat menggunakan metode klasik hidrasi lapis tipis. Niosom yang diperoleh akan dikarakterisasi, dibuat sediaan gel dan diuji penetrasinya menggunakan sel difusi Franz.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah rotavapor (Yamato) *magnetic stirrer* (As One Rexim RSH 1-DR), mikroskop optik (Zeiss Primo Star) dan kamera (Axiocam dengan Image J), pH meter (Hanna), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu 2450), Pompa peristaltik (Watson Marlow), sel difusi franz tipe *flow through, Particle Size Analyzer* (Backman Coulter). Bahan yang digunakan adalah alpha arbutin (Sigma aldrich), Span 60 (Sigma aldrich), kolesterol (Sigma aldrich), kloroform p.a (Merck), viskolam MAC 10, DMDM hidantoin (Sharon), trietanolamin (TEA) (Clorogreen), aquadest, *dialysis tubing cellulose membrane type D9777-100 FT cut off 14000* dan membran lepasan kulit ular (*Phyton reticulatus*).

Jalannya Penelitian

Pembuatan niosom

Niosom dibuat menggunakan metode klasik hidrasi lapis tipis. Formulasi niosom alpha arbutin dapat dilihat pada Tabel I.

Span 60 dan kolesterol dilarutkan dalam kloroform 10 mL hingga larut dalam labu alas bulat 100 mL dan dievaporasi menggunakan rotavapor dalam kondisi vakum pada suhu $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dengan kecepatan 150 rpm hingga terbentuk lapis tipis. Labu yang berisi lapis tipis dimasukkan ke dalam desikator dan dibiarkan selama 24 jam. Lapis tipis niosom dihidrasi dengan larutan alpha arbutin dalam air kadar 10 mg/mL. Kemudian dievaporasi tanpa kondisi vakum dengan suhu $60 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pada kecepatan *rotavapor* 150 rpm sampai lapis tipis tidak tertinggal dilabu alas bulat. Selanjutnya diaduk dengan pengaduk magnetik (*As One*) selama 1 jam dengan kecepatan 1000 rpm.

Tabel I. Formula niosom alpha arbutin

Bahan	Formula		
	Formula A	Fomula B	Formula C
Alpha arbutin (mg/mL)	10	10	10
Span 60 (µmoL)	100	150	200
Kolestrol (µmoL)	20	30	40

Pengujian efisiensi penjeratan

Metode penetapan efisiensi penjeratan dilakukan dengan tujuan untuk menghitung kadar alpha arbutin yang tidak terjerat menggunakan metode *dialysis tubing cellulose membrane* dengan *cut off* 14.000. Larutan sampel sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam membran dialisis yang telah direndam 24 jam. Medium penerima yang digunakan aquadest sebanyak 200 mL dan diaduk dengan pengaduk magnetik (*As One*). Penentuan efisiensi penjeratan dilakukan selama 4 jam dan diukur kadarnya dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 282 nm. Berikut rumus perhitungan efisiensi penjeratan (%EP) (Rahman *et al.*,2011) :

$$\%EP = \frac{\text{Jumlah obat dalam formula} - \text{Jumlah obat yang tidak terjerat}}{\text{Jumlah obat dalam formula}} \times 100\%$$

Pengukuran ukuran vesikel niosom

Pengamatan ukuran vesikel niosom dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) (Beckman Coulter) dan mikroskop optik (Zeiss Primo Star AxioCamERc Ss) dengan kamera (AxioCam dengan Image J) untuk mengamati ukuran partikel dan bentuk vesikel niosom.

Formulasi sediaan gel dan Uji sifat fisik gel

Formula gel niosom alpha arbutin dibuat dengan menambahkan DMDM hidantoin ke dalam niosom alpha arbutin kemudian dicampurkan dengan basis gel viskolam MAC 10 sambil diaduk perlahan. Jumlah niosom alpha arbutin yang dimasukkan ke dalam sediaan gel sebesar 10 mg/mL. Formula gel alpha arbutin dibuat dengan menambahkan DMDM hidantoin kedalam larutan alpha arbutin kemudian dicampurkan dengan basis gel viskolam MAC 10 sambil diaduk perlahan. Formula sediaan tersaji pada Tabel II.

Tabel II. Formula sediaan gel niosom alpha arbutin dan gel alpha arbutin

Bahan	Gel Niosom Alpha Arbutin	Gel Alpha Arbutin
Niosom alpha arbutin (mg/mL)	10	-
Alpha arbutin (mg/mL)	-	10
DMDM hidantoin (gram)	0,06	0,06
Basis gel (gram)	Add 10	Add 10

Gel yang telah jadi selanjutnya dilakukan uji organoleptik dan penetapan pH, sebagai berikut:

- Pengamatan organoleptik, dari sediaan dilakukan dengan mengamati perubahan-perubahan bentuk, warna dan bau sediaan (Septiani and Mita, 2011).
- Penetapan pH, dilakukan pada sediaan gel menggunakan pH meter. Rentang nilai pH yang aman untuk kulit atau sediaan setengah padat adalah sekitar 4,5-6,5 (Soeratri *et al.*, 2005)

Uji difusi gel

Uji difusi dilakukan secara *in vitro* dengan sel difusi *flow-through* menggunakan lepasan kulit ular. Cairan penerima (kompartemen reseptor) yang digunakan ialah aquadest dengan suhu $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ sebanyak 50 mL. Sediaan gel ditimbang 500 mg dan diletakan di atas membran kulit ular, cairan

Penetrasi alpha arbutin... (Desnita et al.,)

penerima dialirkan melewati bagian bawah membran lepasan kulit dengan pompa peristaltik. Pada interval waktu jam 0,5: 1: 2: 3: 4: 5: 6: 7 dan 8 diambil sebanyak 5 mL cairan penerima dan diganti dengan aquadest dengan volume yang sama. Sampel diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis. Persen difusi dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Difusi} = \frac{\text{Jumlah obat dalam kompartemen reseptor}}{\text{Jumlah obat ditambahkan formula}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan niosom

Niosom dibentuk dari surfaktan nonionik dan kolesterol menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Metode hidrasi lapis tipis dipilih karena prosesnya mudah dan kompatibel dengan bahan penyusun niosom. Surfaktan nonionik yang digunakan adalah span 60 (sorbitan monostearat) karena secara struktur span 60 memiliki rantai alkil yang panjang dan bersifat hidrofobik serta mempunyai ukuran kepala yang kecil sehingga dapat membentuk lapisan rangkap vesikel. Konsentrasi span 60 yang digunakan untuk pembuatan niosom berada pada rentang 100, 150 dan 200 μmol . Pembuatan niosom menggunakan kolesterol sebagai pencegah kebocoran vesikel yang bekerja dengan cara mengisi barisan molekul lipid (Rahman *et al.*, 2011). Niosom yang dihasilkan tidak berbau, berwarna putih susu dan Penentuan formula yang dipilih dan digunakan berdasarkan persentase efisiensi penjerapan yang paling tinggi.

Pengujian efisiensi penjeratan

Efisiensi penjeratan niosom alpha arbutin menggunakan metode *dialysis tubing cellulose membrane* dengan tujuan untuk menentukan kadar alpha arbutin yang tidak terjerat di dalam niosom. Alpha arbutin yang tidak terjerat dalam niosom akan keluar melalui pori-pori membran dialisis. Hasil analisis statistik yang diperoleh pada ketiga formula niosom menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antara ketiga formula sehingga dari ketiga formula niosom yang tersaji pada Tabel III dipilih formula A konsentrasi 100:20 (μmol) dengan nilai efisiensi penjeratan sebesar $99,09\% \pm 0,17$. Selain itu pemilihan formula tersebut untuk mengefisiensikan bahan yang digunakan.

Tabel III. Hasil efisiensi penjeratan niosom alpha arbutin

Formula	Konsentrasi span 60:kolesterol (μmol)	Rata-rata efisiensi penjeratan (%) \pm SD
Formula A	100:20	99,09 \pm 0,17
Formula B	150:30	99,07 \pm 0,12
Formula C	200:40	99,31 \pm 0,01

Pengukuran ukuran vesikel niosom

Hasil pengukuran vesikel dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) menunjukkan diameter rata-rata partikel niosom yang diperoleh $4657,3 \pm 1236,5$ nm. Pengujian ukuran partikel juga dilakukan secara mikroskopik yang tersaji pada Gambar 1, menunjukkan ukuran partikel yang dihasilkan berada pada rentang 2-5 μm (2000-5000 nm) dengan bentuk bulat atau sferis. Niosom dengan ukuran tersebut adalah jenis vesikel multilamellar (MLV) karena berada pada rentang ukuran 0,5-10 μm . Berikut hasil pengukuran niosom tersaji pada Gambar 1:



Gambar 1. Foto niosom (perbesar 40x) menggunakan mikroskop pada formula dengan Konsentrasi span 60:kolesterol (100:20 µmol)

Niosom multilamellar adalah niosom yang terdiri dari beberapa lapisan lipid bilayer (Kshitij *et al.*, 2013). Selain data ukuran partikel dari hasil analisis dengan PSA juga diperoleh data indeks polidispers (IP). Indeks polidispers menunjukkan distribusi ukuran partikel dimana rentang indeks polidispers berada diantara 0-1. Nilai indeks polidispers yang berada pada rentang dibawah 0,5 menunjukkan distribusi ukuran partikel yang homogen sedangkan nilai indeks polidispers yang melebihi 0,5 menunjukkan distribusi ukuran partikel yang heterogen (Avadi, 2010). Hasil indeks polidispers diperoleh sebesar 0,203 yang mana menunjukkan distribusi partikel yang homogen atau seragam.

Formulasi sediaan gel dan uji sifat fisik

Pembuatan sediaan gel niosom alpha arbutin dan gel alpha arbutin menggunakan basis gel viskolam MAC 10 dengan konsentrasi 8%. Viskolam MAC 10 dipilih sebagai basis gel karena tidak bereaksi dengan komponen lain dalam formula dan terbukti memiliki stabilitas baik dalam penyimpanan di suhu kamar maupun *climatic chamber* (Lusi, 2015). Viskolam MAC 10 dapat membentuk basis gel setelah ditambahkan TEA sebanyak 4 tetes. Penambahan trietanolamin (TEA) akan meningkatkan suasana pH viskolam MAC 10 dalam aquadest akibatnya viskolam MAC 10 akan mengembang dan membentuk masa gel karena meningkatnya viskositas. Viskolam MAC 10 dapat membentuk massa gel pada pH 6-7 (Lestiawati, 2015). DMDM hidantoin merupakan bahan pengawet yang umum digunakan pada sediaan kosmetik dan memiliki aktivitas antimikroba dengan spektrum luas (Kailas dan Wendy, 2003). DMDM hidantoin juga merupakan bahan pengawet yang kompatibel dengan surfaktan nonionik.

Sediaan gel yang dihasilkan selanjutnya dilakukan evaluasi sifat fisik yang meliputi pemeriksaan organoleptik dan pengujian pH. Pengamatan organoleptik dilakukan dengan mengamati perubahan bentuk, warna dan bau sediaan gel. Pengamatan secara organoleptik menunjukkan bahwa sediaan gel niosom alpha arbutin yang dihasilkan memiliki karakteristik berwarna putih susu, tidak berbau dan dengan konsistensi masa gel yang kental sedangkan hasil uji organoleptik pada sediaan gel alpha arbutin tanpa sistem niosom menunjukkan gel yang cenderung lebih jernih, tidak berbau dan dengan konsistensi masa gel yang tidak terlalu kental. Perbedaan organoleptik tersebut dapat dipengaruhi adanya niosom yang ditambahkan, karena niosom yang dihasilkan cenderung berwarna putih susu dan kental. Uji sifat fisik selanjutnya ialah pengujian pH sediaan gel. Pengujian pH pada sediaan gel bertujuan untuk mengetahui keamanan sediaan saat digunakan agar tidak mengiritasi kulit. Sediaan topikal sebaiknya memiliki pH yang berada dalam rentang pH *balance* kulit yaitu 4,5-6,5 (Tranggono and Latifah, 2007). Berdasarkan hasil pengujian pH, kedua sediaan gel yakni sediaan gel niosom alpha arbutin dan sediaan gel alpha arbutin tanpa sistem niosom memiliki pH yang berada pada rentang 6-6,5 yang mana kedua gel tersebut berada dalam rentang aman untuk digunakan. Nilai pH tidak boleh terlalu asam karena dapat menyebabkan iritasi pada kulit sedangkan jika pH terlalu basa dapat menyebabkan kulit bersisik (Budiman, 2008).

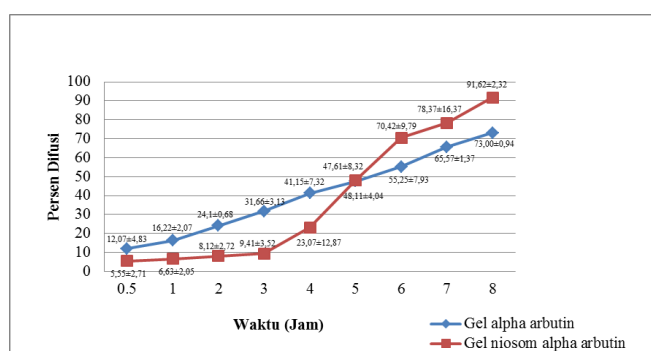
Uji difusi gel

Uji difusi gel dilakukan 3 kali replikasi menggunakan sel difusi franz tipe *flow-trough* secara *in vitro* dengan lepasan kulit ular yang bertujuan untuk mengetahui kadar alpha arbutin yang mampu berpenetrasi melewati stratum korneum selama interval waktu tertentu. Lepasannya kulit ular dipilih karena memiliki stratum korneum dengan ketebalan, komposisi lipid yang mirip dengan kulit manusia

serta memiliki nilai koefisien permeabilitas yang mendekati kulit manusia (Ngawhirunpat *et al.*, 2004, Priprem *et al.*, 2008). Koefisien permeabilitas kulit manusia adalah $1,30 \times 10^{-3} \text{ cm.j}^{-1}$ sedangkan koefisien permeabilitas lapisan kulit ular $1,18 \times 10^{-3} \text{ cm.j}^{-1}$ (Rivire *et al.*, 2006).

Berdasarkan hasil uji difusi yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 2, Jumlah kumulatif persen difusi alpha arbutin dalam sediaan gel yang dibuat dalam sistem niosom selama 8 jam lebih tinggi dibandingkan sediaan gel alpha arbutin tanpa sistem niosom yakni sebesar $99,09\% \pm 0,17$ sedangkan jumlah kumulatif persen difusi gel alpha arbutin tanpa sistem niosom selama 8 jam sebesar $73,00\% \pm 0,94$.

Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai persen difusi yang signifikan antara formula gel alpha arbutin dan formula gel niosom alpha arbutin. Hal tersebut menunjukkan bahwa alpha arbutin yang dibuat dalam sediaan gel dengan sistem niosom dapat meningkatkan penetrasi alpha arbutin melewati stratum korneum dibandingkan dengan sediaan gel yang mengandung alpha arbutin tanpa sistem niosom.



Gambar 2. Grafik hasil uji difusi sediaan gel niosom alpha arbutin dan gel alpha arbutin

KESIMPULAN

Niosom alpha arbutin dengan Konsentrasi span 60 ($100 \mu\text{mL}$) dapat menghasilkan efisiensi penjeratan yang optimal dengan nilai efisiensi penjeratan sebesar $99,09\% \pm 0,17$. Penggunaan span 60 dalam sediaan gel niosom alpha arbutin terbukti dapat meningkatkan penetrasi alpha arbutin secara *in vitro* dengan jumlah kumulatif persen difusi selama 8 jam sebesar $91,62\% \pm 2,32$ dibandingkan gel alpha arbutin tanpa sistem niosom sebesar $73,00\% \pm 0,94$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Laboratorium Teknologi (Labtek) VII Sekolah Farmasi ITB atas fasilitas laboratorium yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Avadi, M.R., 2010, Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and arabic gum with ionic gelation method, *Nanomed Nanotech Biol Med*, 6, 6-58.
- Budiman, M.H., 2008, Uji sifat fisik dan aktivitas antioksidan sediaan krim yang mengandung ekstrak kering tomat (*Solanum lycopersicum L.*), Depok, Universitas Indonesia.
- Choi, M.J., Maibach, H.I., 2005, Liposomes and niosomes as topical drug delivery systems, skin pharmacology and physiology, *J Pharm Bio Res*, 18(5) 209-219.
- Kailas, T.d., Wendy, H.C., 2003, Development and validation of in vitro release test for semisolid dosage form-case study, *Dissolution Technologies*, 10-15.
- Kshitij, B., Makeswar, Suraj, R.W., 2013, Niosome: a novel drug delivery system, *Asian J. Pharm Res*, 3(1) 16-20.

- Lestiawati, V., 2015, Penggunaan span 40 sebagai penyusun niosom natrium askorbil fosfat dalam sediaan gel terhadap penetrasinya secara *in vitro*, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, 45-46.
- Lund, W., 1994, *The Pharmaceutical codex*, 12th edition. London, The Pharmaceutical Press., 134-135
- Lusi, N., 2015, Formulasi dan evaluasi gel ibuprofen dengan menggunakan viskolam sebagai gelling agent, *J Kes Bakti Tunas Husada*, 14(1) 47-51.
- Ngawhirunpat, T., Panomsuk, S., Opanasopit, P., Rojanarata, T., Hatanaka, T., 2004, Comparison of the percutaneous absorption of hydrophilic and lipophilic compounds in shed snake skin and human skin, *Pharmazie*, 61(4) 5-331.
- Priprem, A., Khamlet, C., Pongjanyakul, T., Radapong, S., Rittirod, T., Chitopras, P., 2008, Comparative permeation studies between scale region of shed snake skin and human skin *in vitro*, *Am J Agril Biol Sci*, 3(2) 444-450.
- Rahman, Latifah, Ismail, I., Wahyudin, E., 2011, Kapasitas jerap niosom terhadap ketoprofen dan prediksi penggunaan transdemal, *Majalah Farmasi Indonesia*, 22 (2) 85-91.
- Rivire, J.E., Menteiro-Reviere, N.A., 2006, *Dermal absorption models in toxicology and pharmacology*. Amerika, Taylor & Francis Group., 317.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Owen, S.C., 2009, *Handbook of pharmaceutical excipients, Fifth edition*. London, Pharmaceutical Press., 178-754.
- Sahin, N.O., 2007, Niosome as nanocarrier systems. in Mozari, M.R., *Nanomaterials and nanosystems for biomedical applications*, Springer, New York, 67-81.
- Septiani, S,N,W., Mita S,R., 2011. Formulasi Sediaan masker gel antioksidan dari ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* Linn), *Jurnal UNPAD*, 1(1) 4-24.
- Soeratri, W., Tutik, P., 2004, Penambahan asam glikolat terhadap efektivitas sediaan tabir surya kombinasi anti UV-A dan anti UV-B dalam basis gel, *Majalah Farmasi Airlangga*, 4 (3) 73-75.
- Tranggono, R.I., dan Latifah, F., 2007, *Buku pegangan ilmu pengetahuan kosmetik*. Jakarta, pustaka utama.

