

FORMULASI OBAT JERAWAT GEL MINYAK ATSIRI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C) DAN UJI AKTIVITAS TERHADAP *Propionibacterium acne* SECARA *IN VITRO*

Salman, Rustini, Hary Purnomo
Fakultas Farmasi UNAND

Abstract. It has been conducted a research on a gel formulation of essential oils the kaffir lime leaves (*Citrus hystrix* DC.) which is efficacious as antiacne against *Propionibacteri acnes* bacteria. Kaffir lime leaf essential oils was formulated with a concentration of 6% using two types of gel base, the HPMC with a concentration of 3%, 5%, 7% and Carbopol 940 with a concentration of 0.5%, 1%, 2% using propilenglikol, methyl paraben and ethanol 96% as additive. The evaluation of the formulas includes examining organoleptis, homogeneity, pH, physical stability, skin irritation test, spreadibility and microbiology test. Based on its evaluation data it was found that the formula using Carbopol 940 was better than HPMC.

Keywords. Acne drug, gel, kaffir lime, formulation, *Propionibacteri acnés*, antibacterial.

PENDAHULUAN

Jerawat adalah penyakit kulit berupa peradangan kronik folikel polisebasea. Kulit wajah memiliki kerapatan kelenjar sebacea yang tinggi, khususnya di daerah hidung, dahi dan pipi. Kelenjar sebacea paling besar terdapat di pertengahan dada dan punggung,, oleh karena itu, jerawat paling sering muncul di wajah, dada dan punggung. Banyaknya sebum yang dihasilkan dapat menyumbat pori-pori kulit dan menjadi tempat bakteri yang mengakibatkan tumbuhnya jerawat. Jerawat pada wajah disebabkan karena *Propionibacterium acnes* mengubah lemak sebum dari bentuk cair menjadi lebih padat, sehingga menyumbat pori-pori kulit (Dwikarya, 2005). Ketika pori-pori kulit tertutup atau “tidak bisa bernafas” maka bakteri yang sifatnya anaerob ini tumbuh sangat cepat dan mengeluarkan banyak bahan kimia untuk merusak jaringan pada pori-pori kulit yang kemudian membentuk "luka jerawat" (*acne lesion*). (Mutschler, 1991; Wasitaatmadja, *et al.*, 2007).

Jerawat dapat diobati dengan suatu obat antibakteri. Salah satu tanaman yang terbukti memiliki daya antibakteri adalah jeruk purut (*C. hystrix* DC.). Daun jeruk

purut (*C. hystrix* D.C) mengandung tannin 1,8%, steroid, triterpenoid, dan minyak atsiri dengan komposisi 1-sitronelal sebagai komponen utama (81,49%) dan beberapa komponen lainnya yang penting adalah sitronelol (8,22%), linalol (3,69%) dan geraniol (0,31%).. Kandungan sitronelal yang sangat tinggi menjadi salah satu kelebihan minyak atsiri daun jeruk purut. Menurut Sait (1991) dan Knobloch *et al* (1989), sitronelal memiliki aktivitas antibakteri yang relatif sangat tinggi. Berdasarkan penelitian Suryaningrum (2009), minyak atsiri buah jeruk purut (*C. hystrix* D.C) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Senyawa aktif antibakteri dalam minyak atsiri daun jeruk purut adalah triterpenoid. Menurut Luangnarumitchai *et al* (2007), Minyak atsiri buah jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acne* dengan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) sebesar 2% .

Masyarakat pada umumnya menggunakan buah jeruk purut dengan cara buah jeruk purut dibelah kemudian ditumbuk hingga halus, setelah itu digunakan sebagai masker. Untuk meningkatkan efektivitas penggunaannya pada kulit, dilakukan formulasi minyak atsiri dalam sediaan gel dalam basis HPMC dan basis karbopol 940. Kedua basis ini apabila dibandingkan dengan basis lain mempunyai keunggulan tersendiri yaitu: menghasilkan gel yang bening dan mudah larut dalam air. Beda HPMC dan karbopol 940 adalah HPMC mempunyai daya pengikat zat aktif yang kuat dibanding dengan karbopol 940. Secara ideal, basis dan pembawa harus mudah diaplikasikan pada kulit, tidak mengiritasi dan nyaman digunakan pada kulit. Bentuk sediaan ini lebih mudah digunakan dan penyebarannya di kulit juga mudah, dilihat juga dari warna yang bening, sehingga banyak pasien yang lebih memilih menggunakan produk kosmetik dalam bentuk gel dibandingkan sediaan lainnya. Formulasi pada sediaan gel akan mempengaruhi jumlah dan kecepatan zat aktif yang dapat diabsorpsi. Zat aktif dalam sediaan gel masuk ke dalam basis yang akan membawa obat untuk kontak dengan permukaan kulit. Bahan pembawa yang digunakan untuk sediaan topikal akan memiliki pengaruh yang sangat besar terhadap absorpsi obat dan memiliki efek yang menguntungkan jika dipilih secara tepat.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian sebelumnya. Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Anrizoni (2010) meneliti pengaruh lama penyulingan daun jeruk purut terhadap rendemen dan kandungan sitronelal minyak daun jeruk purut (*C. hystrix* D.C). Dari hasil penelitian tersebut, maka penulis tertarik untuk melanjutkan penelitian tersebut dengan judul Formulasi Obat Jerawat Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*C. Hystrix* D.C) dan Uji Aktivitas terhadap *P. Acne* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Peralatan

Timbangan analitik (*Shimadzu AUX220*[®]), lumpang dan alu, spatel, sudip, pot salep, AB15 pHmeter (*Accumet Basic*[®]), kertas perkamen, kertas cakram (*Whatman*[®] No. 42), autoklaf (*All American*[®]) Model 25x, lemari aseptis, lemari pendingin, Laminar Air Flow (*Esco*[®]), inkubator (*Gallenkamp Plus*[®]), spektrofotometri UV-Visibel (*Shimadzu*[®] model UV-VIS 1601), vortex (*Whirl mixer*TM), hot plate (*IEC*[®]), pipet mikro (*Biohit proline*[®]), pinset, dan alat-alat gelas laboratorium.

Bahan

Minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C), HPMC (*Hydroxy Propyl Methyl Cellulose*) (*Shin-Etsu Chemical Co. Ltd*), Karbopol 940 (*Brataco Chemical*[®]), propilenglikol, etanol 96%, nipagin, larutan NaOH 10%, aquadest steril, sediaan gel yang beredar dipasaran, Klindamisin HCl kapsul, dimetilsulfoksida (DMSO), media Nutrient Agar (*Merck*), dan bakteri *Propionibacterium acne* (Balai Penyelidikan dan Pengujian Veteriner Regional II Bukit tinggi).

Cara Kerja

Tabel I. Formula Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut dengan Basis HPMC

No.	Bahan (gram)	Formula		
		F1a	F1b	F1c
1.	Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut	6%	6%	6%
2.	HPMC	3%	5%	7%
3.	Propilenglikol	30%	30%	30%
4.	Etanol 96%	10%	10%	10%
5.	Nipagin	0,1%	0,1%	0,1%
6.	Aquadest sampai	100	100	100

Pembuatan Basis:

Dibuat basis gel sebanyak 20 g. HPMC (0,6; 1; 1,4 g) didispersikan dalam propilenglikol (6 g) dengan cara menggerus di dalam lumpang, lalu ditambahkan air suling seluruhnya (11,38; 10,98; 10,58 ml) dan diaduk sampai homogen dan mengembang (massa 1). Nipagin (0,02 g) dilarutkan dalam etanol 96 % (2 g) dan dimasukkan ke dalam massa 1, diaduk hingga homogen.

Pembuatan gel minyak atsiri daun jeruk purut:

Dibuat sediaan sebanyak 20 g. HPMC (0,6; 1; 1,4 g) didispersikan dalam propilenglikol (3 g) dengan cara menggerus di dalam lumpang, lalu ditambahkan air suling seluruhnya (10,18; 9,78; 9,38 ml) dan diaduk sampai homogen dan mengembang (massa 1). Nipagin (0,02 g) dilarutkan dalam etanol 96 % (0,1 g) dan dimasukkan ke dalam massa 1, diaduk hingga homogen. Minyak atsiri daun jeruk purut (1,2 g) dilarutkan dengan sisa etanol 96 % (1,9 g) dan ditambahkan propilenglikol (3 g), diaduk sampai larut kemudian dicampurkan ke basis yang telah terbentuk dan diaduk sampai homogen.

Tabel II. Formula Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut dengan Basis Karbopol 940

No.	Bahan (gram)	Formula		
		F2a	F2b	F2c
1.	Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut	6%	6%	6%
2.	Karbopol 940	0,5%	1%	2%
3.	Propilenglikol	30%	30%	30%
4.	Larutan NaOH 10%	2%	2,4%	2,8%
5.	Etanol 96%	10%	10%	10%
6.	Nipagin	0,1%	0,1%	0,1%
7.	Aquadest sampai	100	100	100

Pembuatan Basis:

Dibuat basis gel sebanyak 20 g. Karbopol 940 (0,1; 0,2; 0,4 g) dimasukkan ke dalam lumpang, kemudian ditambah air

suling (11,48; 11,3; 11,02 ml) diaduk cepat sampai terbentuk larutan yang jernih, kemudian ditambahkan larutan NaOH 10% (0,4; 0,48; 0,56 g) diaduk pelan sehingga terbentuk massa gel, kemudian ditambahkan propilenglikol (6 g) diaduk hingga homogen. Nipagin (0,02 g) dilarutkan dalam sebagian etanol 96% (2 g) dan dimasukkan ke dalam basis gel. Diaduk hingga homogen.

Pembuatan gel minyak atsiri daun jeruk purut:

Dibuat sediaan sebanyak 20 g. Karbopol 940 (0,1; 0,2; 0,4 g) didispersikan dimasukkan ke dalam lumpang, lalu ditambahkan air suling (10,28; 10,1; 9,82 ml) diaduk cepat sampai terbentuk larutan yang jernih, kemudian ditambahkan larutan NaOH 10% (0,4; 0,48; 0,56 ml) diaduk pelan sehingga terbentuk massa gel. Nipagin (0,02 g) dilarutkan dalam sebagian etanol 96% (0,1 g) dan dimasukkan ke dalam basis gel. Minyak atsiri daun jeruk purut (1,2 g) dilarutkan dengan sisa etanol 96% (1,9 g) dan ditambahkan propilenglikol (6 g), diaduk sampai larut kemudian dicampurkan ke basis yang telah terbentuk dan diaduk sampai homogen.

Evaluasi Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

Pemeriksaan Organoleptis (Depkes RI, 1979)

Pengamatan terhadap bentuk, warna, bau dilakukan secara visual.

Homogenitas (Depkes RI, 1995)

Pemeriksaan dilakukan dengan cara: sediaan ditimbang 0,1 g kemudian dioleskan pada kaca objek atau bahan transparan lain yang cocok, diamati susunannya.

Pemeriksaan pH (Voigt, 1994; Martin, et al., 1990)

Pemeriksaan pH dilakukan dengan alat pHmeter. Prinsip utama pHmeter adalah pengukuran arus listrik yang tercatat pada sensor pH akibat suasana ionik di larutan. Stabilitas sensor harus selalu dijaga dan caranya adalah dengan kalibrasi alat. Kalibrasi terhadap pHmeter dilakukan dengan 2 buffer standar berupa pH 4,01 dan 7,00 karena sistem bersifat asam. Elektroda dibilas dengan air suling dan dikeringkan. Pengukuran pH gel ini dilakukan dengan cara 1 g sediaan diencerkan dengan air suling hingga 10 ml. Elektroda dicelupkan dalam wadah tersebut, dibiarkan angka bergerak sampai posisi konstan. Angka yang ditunjukkan oleh pHmeter merupakan nilai pH sediaan tersebut.

Uji Daya menyebar (Voigt, 1994)

Sediaan sebanyak 0,5 g diletakkan pada kaca transparan yang beralaskan kertas grafik, dibiarkan sediaan melebar pada diameter tertentu. Kemudian ditutup dengan plastik transparan dan diberi beban tertentu (1, 3, 5, dan 7 g) selama 15 detik. Pertambahan diameter diukur setelah diberikan beban.

Uji iritasi kulit (Depkes RI, 1985)

Uji iritasi kulit dilakukan langsung pada manusia dengan cara uji tempel dimana sediaan uji lebih kurang 0,1 g dioleskan pada lengan bagian dalam dengan diameter 2 cm, kemudian ditutup dengan kain kasa. Setelah 24 jam diamati gejala yang timbul. Pemeriksaan ini dilakukan terhadap 5 orang sukarelawan untuk tiap formula.

Pemeriksaan stabilitas fisika sediaan selama penyimpanan (Lachman, et al., 1994)

Sediaan yang diuji dibiarkan selama 8 minggu pada suhu kamar. Pada setiap minggunya dilakukan pengujian yang meliputi homogenitas, pH sediaan, organoleptis dan juga diuji stabilitas terhadap pendinginan. Pemeriksaan sediaan

terhadap stabilitas pendinginan dilakukan dengan cara: sediaan disimpan dalam wadah yang cocok lalu disimpan dalam lemari es dengan suhu 0-4°C dan dibiarkan selama 24 jam, lalu dikeluarkan. Setelah itu diamati apakah terjadi pemisahan atau tidak. Sediaan yang tidak menunjukkan pemisahan dinilai sebagai sediaan yang stabil.

Uji Aktivitas Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut Terhadap *Propionibacterium acne*

Media NA inokulum disiapkan, setelah media memadat, media tersebut dilubangi dengan spuit yang dimodifikasi, lalu dimasukkan gel minyak atsiri daun jeruk purut ke dalamnya sebanyak 0,05 ml dan dibandingkan dengan basis gel sebagai kontrol negatif dan sediaan gel yang beredar di pasaran sebagai kontrol positif. Kemudian cawan petri ditutup dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35-37 °C. Daya hambat sediaan diamati dengan mengukur daerah hambat di sekeliling media yang telah dilubangi secara seksama yang ditandai dengan adanya daerah bening.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C)

Hasil pemeriksaan minyak atsiri daun jeruk purut meliputi pemerian, kelarutan, berat jenis, indeks bias dan pH dapat dilihat pada Tabel III. Minyak atsiri daun jeruk purut ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

Pemeriksaan Bahan Tambahan

Pemeriksaan HPMC memenuhi persyaratan dalam *Handbook of Pharmaceutical Excipients 5th Edition* meliputi pemerian, kelarutan, pH larutan. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel IV.

Pemeriksaan karbopol 940 memenuhi persyaratan dalam *Handbook of Pharmaceutical Excipient 5th Edition* meliputi pemerian, kelarutan, pH larutan. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel V.

Pemeriksaan Propilenglikol memenuhi persyaratan dalam Farmakope Indonesia Edisi IV meliputi pemerian, kelarutan, berat jenis, dan indeks bias. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel VI.

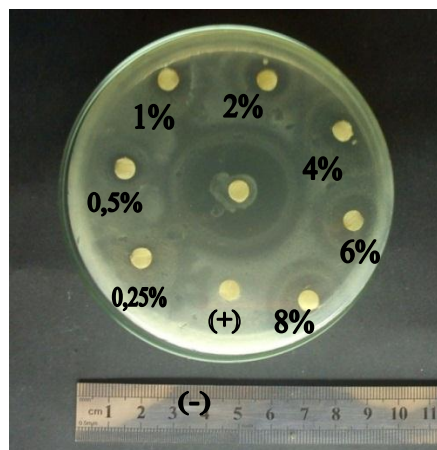
Pemeriksaan Etanol 96% memenuhi persyaratan dalam Farmakope Indonesia Edisi IV meliputi pemerian & kelarutan. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel VII.

Pemeriksaan nipagin memenuhi persyaratan dalam Farmakope Indonesia Edisi IV meliputi pemerian dan kelarutan. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel VIII.

Pemeriksaan NaOH memenuhi persyaratan dalam Farmakope Indonesia Edisi IV meliputi pemerian, kelarutan dan pH. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel IX.

Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut Terhadap *Propionibacterium acne*

Penentuan dosis minyak atsiri daun jeruk purut terhadap bakteri *P.acne* untuk sediaan gel menggunakan metoda difusi agar dimulai dari konsentrasi 0,25-8%. Hasilnya menunjukkan bahwa daerah hambat terkecil adalah 10 mm pada konsentrasi 0,25% dalam DMSO dan dosis yang dipilih untuk sediaan gel adalah 6% dalam DMSO. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel X, Gambar 2.

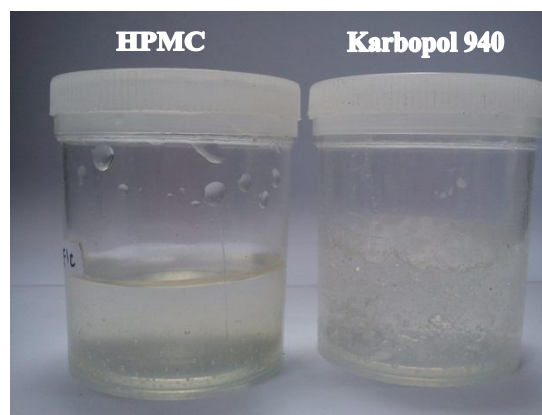


Gambar 2. Uji Aktivitas Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut terhadap Bakteri *P. Acne*

Evaluasi Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

Pemeriksaan Basis Gel

Hasil pemeriksaan pemerian basis gel HPMC untuk masing-masing formula yaitu berbentuk setengah padat, warna bening transparan dan bau khas HPMC. Setelah sediaan disimpan selama 8 minggu warna tidak berubah dan tetap berbentuk setengah padat dan tidak berbau. Hasil pemeriksaan pemerian basis gel Karbopol 940 untuk masing-masing formula yaitu berbentuk setengah padat, warna putih transparan dan bau khas karbopol. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 3.

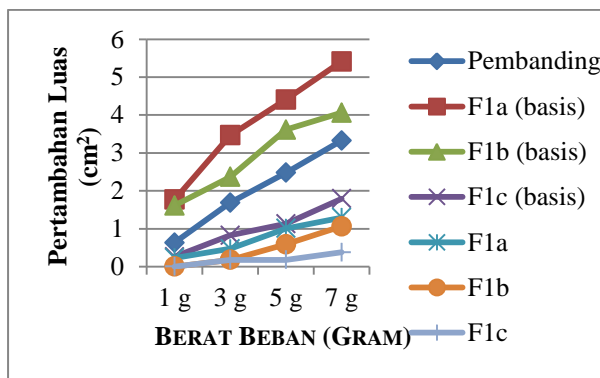


Gambar 3. Perbandingan Basis HPMC dan Karbopol 940

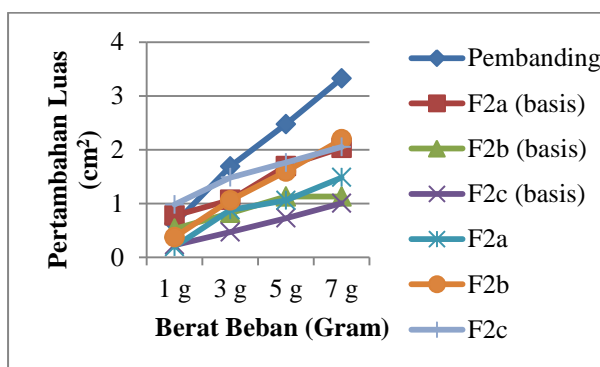
Hasil pemeriksaan homogenitas basis gel menunjukkan bahwa basis gel tetap homogen selama 8 minggu penyimpanan. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel XI.

Hasil pemeriksaan pH basis gel HPMC untuk masing-masing formula yaitu F1a berkisar antara 4,78-5,13, F1b berkisar antara 4,75-5,15, F1c berkisar antara 4,78-6,60. Hasil pemeriksaan pH basis gel karbopol 940 untuk masing-masing formula yaitu F2a berkisar antara 6,56-8,29, F2b berkisar antara 6,11-7,09, F2c berkisar antara 5,47-6,04. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel XII.

Hasil uji daya menyebar basis gel HPMC dan Karbopol 940 menunjukkan semakin besar konsentrasi basis gel yang digunakan, maka daya menyebar akan semakin kecil. Hasilnya dapat dilihat Gambar 4 dan 5.



Gambar 4. Kurva Daya Menyebar Basis Gel dan Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut dengan HPMC



Gambar 5. Kurva Daya Menyebar Basis Gel dan Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut dengan Karbopol 940

Pemeriksaan Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

Hasil pemeriksaan pemerian gel minyak atsiri daun jeruk purut

menggunakan basis gel HPMC untuk masing-masing formula yaitu berbentuk setengah padat, warna bening buram dan bau khas jeruk purut. Setelah sediaan disimpan selama 8 minggu warna tetap tidak berubah dan tetap berbentuk setengah padat dan bau khas jeruk purut. Hasil pemeriksaan pemerian gel minyak atsiri daun jeruk purut menggunakan basis gel Karbopol 940 untuk masing-masing formula yaitu berbentuk setengah padat, warna putih dan bau khas jeruk purut. Setelah sediaan disimpan selama 8 minggu warna tetap tidak berubah dan tetap berbentuk setengah padat dan bau khas jeruk purut. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Perbandingan Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut dengan Basis HPMC dan Karbopol 940

Hasil pemeriksaan homogenitas gel minyak atsiri daun jeruk purut menunjukkan bahwa gel tetap homogen selama 8 minggu penyimpanan. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel XIII.

Hasil pemeriksaan pH gel minyak atsiri daun jeruk purut menggunakan basis gel HPMC untuk masing-masing formula yaitu F1a berkisar antara 4,42-4,93, F1b berkisar antara 4,88-5,16, dan F1c berkisar antara 5,02-6,48. Hasil pemeriksaan pH gel minyak atsiri daun jeruk purut menggunakan basis karbopol 940 untuk masing-masing formula yaitu F2a berkisar antara 6,37-7,38, F2b berkisar antara 6,21-6,98, dan F2c berkisar antara 5,26-6,03. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel XIV.

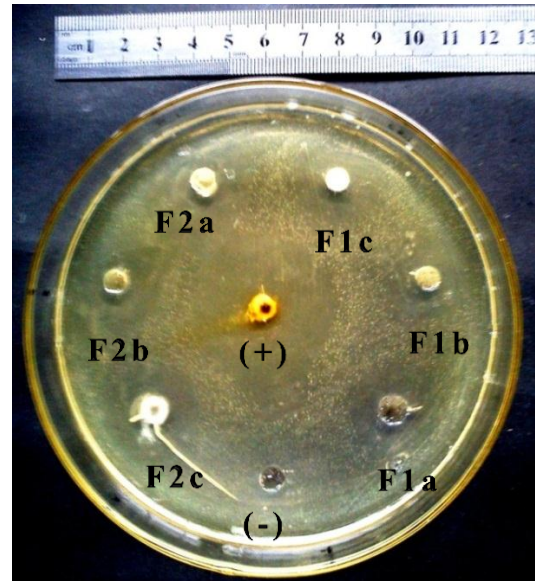
Hasil pemeriksaan uji daya menyebar gel minyak atsiri daun jeruk purut untuk masing-masing formula menunjukkan semakin besar konsentrasi basis maka daya menyebar semakin kecil, dimana gel minyak atsiri daun jeruk purut yang menggunakan basis gel Karbopol 940 memiliki daya menyebar yang lebih baik dibandingkan menggunakan basis HPMC.

Pemeriksaan iritasi kulit yang dilakukan dengan uji tempel tertutup terhadap 5 orang sukarelawan untuk masing-masing formula, menunjukkan bahwa sediaan tidak mengiritasi.

Hasil pemeriksaan stabilitas gel minyak atsiri daun jeruk purut dengan pendinginan, yang dilakukan pada suhu 0-4 °C dan suhu kamar, menunjukkan tidak terjadinya pemisahan pada seluruh sediaan.

Uji Aktivitas Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut Terhadap *Propionibacterium acne*

Hasil uji daya hambat gel minyak atsiri daun jeruk purut terhadap bakteri *P.acne* menunjukkan bahwa dengan konsentrasi zat aktif yang sama, daya hambat antara sediaan tidak terlalu berbeda, tetapi sediaan dengan formula F1a dan F2a memberikan daya hambat yang lebih baik terhadap bakteri *P.acne*. table XV, Gambar 7.



Gambar 7. Uji Aktivitas Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut terhadap Bakteri *P. Acne*

Data Hasil Percobaan**Tabel III.** Hasil Pemeriksaan Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Sait dan Lubis, 1991)	Pengamatan
1.	Pemerian: Bentuk Bau Warna	Cair Khas jeruk purut Kuning muda	Cair Khas jeruk purut Kuning pucat
2.	Kelarutan: Air Suling Etanol 96% Alkohol 70%	Praktis tidak larut - Larut dalam 4 bagian isi	Praktis tidak larut 1:10 1: 4
3.	Berat Jenis	0,8600	0,8866
4.	Indeks Bias	1,4496	1,4482
5.	pH	-	4,64

Tabel IV. Hasil Pemeriksaan *Hidroxy Propil Methyl Cellulose* (HPMC)

No	Pemeriksaan	Persyaratan (<i>Handbook of Pharmaceutical Excipient 5th Edition</i>)	Pengamatan
1.	Pemerian: Bentuk Bau Warna Rasa	Serbuk granul/ berserat Tidak berbau Putih/ putih kekuningan Tidak berasa	Serbuk berserat Tidak berbau Putih kekuningan Tidak berasa
2.	Kelarutan: Air Suling Etanol 96% Propilenglikol	Mengembang Praktis tidak larut	Mengembang Praktis tidak larut Mengembang
3.	pH larutan (1%)	5,5 – 8,0	7,15

Tabel V. Hasil Pemeriksaan Karbopol 940

No	Pemeriksaan	Persyaratsan (<i>Handbook of Pharmaceutical Excipient 5th Edition</i>)	Pengamatan
1.	Pemerian Bentuk Bau Warna Rasa	Serbuk halus higroskopis Khas Putih Tidak berasa	Serbuk halus higroskopis Khas Putih Tidak berasa
2.	Kelarutan: Air Suling	Mengembang	Mengembang
3.	pH larutan (1%)	2,5 – 3,0	3,12

Tabel VI. Hasil Pemeriksaan Propilenglikol

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Depkes RI, 1995)	Pengamatan
1.	Pemerian: Bentuk Bau Warna	Cairan kental Tidak berbau Tidak berwarna	Cairan kental Tidak berbau Tidak berwarna
2.	Kelarutan: Air Suling Etanol 96%	Bercampur Bercampur	Bercampur Bercampur
3.	Berat jenis	1,035 – 1,038	1,0344
4.	Indeks bias	1,431 – 1,433	1,431

Tabel VII. Hasil Pemeriksaan Etanol 96%

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Depkes RI, 1995)	Pengamatan
1.	Pemerian: Bentuk Bau Warna Rasa	Cairan bening Khas Tidak berwarna Panas	Cairan bening Khas Tidak berwarna Panas
2.	Kelarutan: Air Suling Pelarut organic	Sangat mudah larut Bercampur	Sangat mudah larut Bercampur
3.	Berat Jenis	0,8119 – 0,8139	0,7919

Tabel VIII. Hasil Pemeriksaan Nipagin

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Depkes RI, 1995)	Pengamatan
1.	Pemerian: Bentuk Bau Warna Rasa	Serbuk hablur, halus Tidak berbau Putih Tidak berasa	Serbuk hablur, halus Tidak berbau Putih Tidak berasa
2.	Kelarutan: Air Suling Etanol 96%	20 bagian air panas 3,5 bagian etanol 96%	20 bagian air panas 3,5 bagian etanol 96%

Tabel IX. Hasil Pemeriksaan NaOH

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Depkes RI, 1995)	Pengamatan
1.	Pemerian: Bentuk Bau Warna	Batang, keping, rapuh Tidak berbau Putih	Massa hablur, keping Tidak berbau Putih
2.	Kelarutan: Air Suling	Mudah larut	1:10
3.	pH larutan (1%)	-	13,97

Tabel X. Hasil Pemeriksaan Uji Aktivitas Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut terhadap Bakteri *P. Acne*

Mikroba Uji	Konsentrasi	Diameter Daerah Hambat (mm)			
		X1	X2	X3	\bar{X}
<i>P. acne</i>	8%	21	26	16	21
	6%	19	25	15	19,67
	4%	14	23	13	16,67
	2%	13	21	12	15,33
	1%	12,5	18	10	13,50
	0,5%	12	15	8	11,67
	0,25%	11	12	7	10
	K (+)	23	28	25	25,33
K (-)	0	0	0	0	

Keterangan:

K (+) : Klindamisin HCl

K (-) : DMSO

Tabel XI. Hasil Pengamatan Homogenitas Basis Gel

Formula	Minggu ke-							
	1	2	3	4	5	6	7	8
F1a	H	H	H	H	H	H	H	H
F1b	H	H	H	H	H	H	H	H
F1c	H	H	H	H	H	H	H	H
F2a	H	H	H	H	H	H	H	H
F2b	H	H	H	H	H	H	H	H
F2c	H	H	H	H	H	H	H	H

Tabel XII. Hasil Pengamatan pH Basis Gel

Formula	Minggu ke-								\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	7	8	
F1a	5,13	5,09	4,97	4,94	4,97	4,78	5,01	4,97	4,98
F1b	5,15	5,14	5,12	5,10	5,15	5,05	4,87	4,75	5,04
F1c	6,22	6,45	6,60	6,56	6,54	6,50	4,80	4,78	6,06
F2a	7,90	7,97	7,91	7,95	8,29	7,86	6,64	6,56	7,63
F2b	6,98	6,99	7,03	7,05	7,09	6,77	6,12	6,11	6,77
F2c	6,04	5,95	5,76	6,03	5,98	5,65	5,57	5,47	5,81

Tabel XIII. Hasil Pengamatan Homogenitas Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

Formula	Minggu ke-							
	1	2	3	4	5	6	7	8
F1a	H	H	H	H	H	H	H	H
F1b	H	H	H	H	H	H	H	H
F1c	H	H	H	H	H	H	H	H
F2a	H	H	H	H	H	H	H	H
F2b	H	H	H	H	H	H	H	H
F2c	H	H	H	H	H	H	H	H

Keterangan:

H : Homogen

Tabel XIV. Hasil Pengamatan pH Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

Formula	Minggu ke-								\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	7	8	
F1a	4,81	4,54	4,42	4,44	4,63	4,84	4,93	4,83	4,68
F1b	4,98	4,94	4,88	5,01	4,95	5,02	5,16	5,12	5,01
F1c	5,45	5,07	5,02	5,47	5,14	5,30	6,48	6,46	5,55
F2a	6,37	6,54	6,58	6,62	6,62	6,77	7,13	7,38	6,75
F2b	6,98	6,24	6,23	6,21	6,53	6,50	6,77	6,60	6,51
F2c	5,54	6,03	5,76	5,26	5,61	5,89	5,84	5,75	5,71

Tabel XV. Hasil Pemeriksaan Uji Aktivitas Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut terhadap Bakteri *P. Acne*

Mikroba Uji	Formula	Diameter Daerah Hambat (mm)			
		X1	X2	X3	\bar{X}
<i>P. acne</i>	F1a	20	23	25	22,67
	F1b	19	22	24	21,67
	F1c	20	20	24	21,33
	F2a	19	19	24	20,67
	F2b	19	15	25	19,67
	F2c	16	15	24	18,33
	K (+)	33	34	38	35
	K (-)	0	0	0	0

Keterangan:**K (+) : Bio F Antiacne****K (-) : Basis gel****Pembahasan**

Sebelum memformulasi suatu sediaan maka terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan bahan baku baik zat aktif maupun bahan tambahan. Pada penelitian ini digunakan minyak atsiri daun jeruk purut sebagai zat aktif yang meliputi pemeriksaan pemerian, kelarutan, berat jenis, indeks bias dan pH. Pemeriksaan HPMC meliputi pemeriksaan pemerian, kelarutan dan pH. Pemeriksaan Karbopol 940 meliputi pemeriksaan pemerian, kelarutan dan pH. Pemeriksaan Propilenglikol meliputi pemeriksaan pemerian, kelarutan, bobot jenis dan indeks bias. Pemeriksaan Etanol 96% meliputi pemeriksaan pemerian, kelarutan dan berat jenis. Pemeriksaan Nipagin meliputi pemeriksaan pemerian dan kelarutan. Pemeriksaan NaOH meliputi pemeriksaan pemerian dan kelarutan telah

memenuhi persyaratan dalam literatur

Minyak atsiri daun jeruk purut yang diperoleh memiliki masa cair, berwarna kuning pucat, mempunyai bau dan rasa yang khas jeruk purut. Indeks bias berbeda dengan persyaratan Sait dan Lubis (1991), hal ini disebabkan pada proses penyulingan menggunakan metoda destilasi uap dan air, dimana kerugian metoda ini akan menghasilkan kualitas minyak yang menurun.

Pengujian daya hambat bakteri dilakukan menggunakan bakteri *P.acne*. Pemilihan bakteri uji berdasarkan penelitian sebelumnya minyak atsiri daun jeruk purut ini memiliki khasiat sebagai antijerawat (Suryaningrum, 2009). *P.acne* merupakan flora kulit yang terbanyak umumnya pada folikel rambut dan kelenjar sebacea, sering juga ditemukan pada membran mukosa sel pernafasan dan konjungtiva dan tidak

menyebabkan penyakit. *P.acne* dapat berperan patogenesis akne menghasilkan enzim lipase yang melepaskan asam lemak bebas dari lemak kulit. Asam lemak bebas ini mengakibatkan reaksi inflamasi pada jaringan akne.

Metoda yang digunakan dalam penentuan daya hambat bakteri ini adalah metoda difusi agar. Metoda ini menggunakan kertas cakram sebagai pencadang (reservoir). Pemilihan metoda difusi agar ini karena metodanya sederhana dan hasil yang didapatkan cukup teliti (Christine, 1984).

Hasil pengujian daya hambat bakteri minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) memperlihatkan daya hambat terhadap *P.acne*. Uji daya hambat terhadap bakteri *P.acne* terlihat bahwa konsentrasi hambat minimum dari minyak atsiri daun jeruk purut adalah 0,25% dengan daerah hambat sebesar 10 mm dimana semakin besar konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut maka akan semakin besar pula daerah hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *P.acne*.

Pada penelitian ini digunakan konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut sebesar 6%, karena pada konsentrasi tersebut dapat membentuk gel. Bila konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut terlalu besar, maka tidak terbentuk gel dengan baik & gel dapat menjadi pecah. Disamping itu pada konsentrasi 6 % memiliki daya antibakteri yang kuat dengan diameter zona hambat 19,67 mm. Menurut Davis dan Stout (1971) daya antibakteri berdasarkan diameter zona hambat terbagi: sangat kuat (zona hambat lebih dari 20 mm), kuat (zona hambat 10-20 mm), sedang (zona hambat 5-10 mm) dan lemah (zona hambat kurang dari 5 mm). Bila gel dibuat berdasarkan konsentrasi hambat minimum maka daya hambat minyak atsiri daun jeruk purut di dalam gel sangat kecil atau tidak terlihat jelas, hal ini karena dipengaruhi oleh liberasi dari basis gel yang digunakan. Minyak atsiri daun jeruk purut kemudian diformulasi dengan menggunakan 2 jenis basis gel yaitu HPMC dan Karbopol 940.

Hal ini karena proses pembuatan gel yang relatif mudah dengan komposisi sederhana, berpenampilan menarik, adanya efek pendinginan kulit, mudah dicuci dengan air, film yang terbentuk setelah kering tidak menyumbat pori dan pelepasan obat lebih baik (Carter, 1975; Voigt, 1994).

Pada pengujian daya hambat bakteri menggunakan minyak atsiri daun jeruk purut sebesar 6% dengan menggunakan metoda cakram memperlihatkan daya hambat yang lebih kecil dibandingkan daya hambat sediaan gel yang mengandung minyak atsiri daun jeruk purut sebesar 6% dengan menggunakan metoda sumur. Hal ini disebabkan jumlah zat aktif yang dilarutkan dalam DMSO dengan menggunakan metode cakram lebih sedikit, yaitu 10 µl. Sedangkan gel yang dimasukkan adalah sebesar 0,05 ml dengan metoda sumur dimana jumlah zat aktifnya lebih banyak dibandingkan dengan metoda cakram yaitu 0,003 g, sehingga akan memperlihatkan daya hambat yang lebih besar terhadap bakteri.

Pada pembuatan gel digunakan HPMC dan Karbopol 940 sebagai basis. HPMC digunakan sebagai basis gel karena bahan pembentuk gelnya sederhana dan menghasilkan gel yang netral terhadap alkali dan asam, resistensinya baik terhadap mikroba dan kejernihan yang tinggi karena bebas dari pengaruh yang tidak larut (Carter, 1975). Konsentrasi HPMC yang digunakan sebagai pembentuk gel adalah 2-10% (Rowe *et al*, 2006). Oleh karena itu, dalam penelitian ini HPMC yang digunakan adalah 3%, 5% dan 7%. Konsentrasi ini dipilih berdasarkan orientasi yang telah dilakukan sebelumnya, menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut dapat menghasilkan gel yang baik. Konsentrasi kurang dari 3% terbentuk gel yang encer dan lebih dari 7% terbentuk gel yang kaku. Karbopol 940 digunakan sebagai basis gel karena dapat membentuk gel pada konsentrasi yang kecil setelah dinetralkan dengan basa-basa anorganik atau organik. Konsentrasi Karbopol 940 yang digunakan sebagai bahan pembentuk gel adalah 0,5-5% (Carter, 1975). Pada penelitian ini digunakan

konsentrasi sebesar 0,5%, 1% dan 2% karena berdasarkan orientasi sebelumnya jika digunakan konsentrasi yang lebih besar dari konsentrasi di atas akan terbentuk gel yang sangat kental karena Karbopol 940 ini memiliki viskositas yang sangat tinggi.

Minyak atsiri daun jeruk purut ini memiliki sifat yang praktis tidak larut dalam air maka untuk mengatasinya digunakan etanol 96% sebagai pelarut dengan konsentrasi 10% dalam masing-masing formula, karena minyak atsiri daun jeruk purut mudah larut dalam etanol 96% (1:10). Untuk mencegah terjadinya pengeringan dalam sediaan, meningkatkan daya sebar sediaan dan untuk membantu kelarutan minyak atsiri daun jeruk purut maka digunakan propilenglikol. Sebagai pengawet dalam sediaan digunakan nipagin dengan konsentrasi 0,1% (Voigt, 1994). Pada gel yang menggunakan Karbopol 940 sebagai basis gel, dilakukan penambahan larutan NaOH 10% untuk menetralkan Karbopol 940 yang bersifat asam sehingga terbentuk gel (Voigt, 1994; *The Pharmaceutical Press*, 2005).

Berdasarkan orientasi yang telah dilakukan, antara basis gel dan zat aktif pembuatannya tidak dapat dipisahkan karena akan terjadi pemisahan antara minyak atsiri daun jeruk purut dengan basis gel. Hal ini disebabkan tidak terserapnya minyak oleh basis gel, oleh karena itu minyak atsiri daun jeruk purut diformulasikan sekaligus dengan basisnya. Hal ini juga didukung oleh sifat HPMC, dimana pada pembuatan gel dengan basis HPMC, gel yang terbentuk awalnya cair setelah dibiarkan satu malam baru mengeras atau berbentuk semi padat, maka situasi seperti ini dapat dimanfaatkan, karena sebelum gel berbentuk semi padat, minyak atsiri daun jeruk purut sebagai zat aktif dilarutkan dalam basis gel, sehingga minyak atsiri daun jeruk purut sama-sama berubah menjadi semi padat setelah dibiarkan satu malam dan minyak atsiri daun jeruk purut telah terperangkap dalam matrik gel sehingga tidak terjadi pemisahan.

Pada penelitian ini terdapat enam formula yang diformulasi dengan konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut yang sama dan menggunakan konsentrasi basis gel yang masing-masingnya berbeda dalam sediaan. Terhadap sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut dilakukan evaluasi selama 8 minggu. Tujuan evaluasi ini adalah untuk memilih formula yang terbaik.

Pemeriksaan organoleptis dilakukan selama 8 minggu penyimpanan dan pemeriksaan dilakukan secara visual. Pengamatan dilakukan tiap minggu yang meliputi bau, warna dan bentuk. Hasil pemeriksaan pada bau dan bentuk sediaan setelah penyimpanan tidak mengalami perubahan yang berarti, yaitu sediaan tetap berbau khas jeruk purut dan sediaan berbentuk semipadat. Hasil pemeriksaan warna dari sediaan setelah penyimpanan tidak mengalami perubahan. Gel minyak atsiri daun jeruk purut yang menggunakan HPMC, memiliki warna bening yang buram hal ini disebabkan basis HPMC saja tanpa penambahan zat aktif memiliki warna yang bening transparan. Pada F1a, F1b dan F1c yang berbeda adalah kekentalannya dimana semakin besar konsentrasi HPMC yang digunakan maka semakin besar viskositasnya. Sedangkan pada gel minyak atsiri daun jeruk purut yang menggunakan Karbopol 940 memiliki warna putih hal ini disebabkan basis Karbopol 940 saja tanpa penambahan zat aktif memiliki warna yang putih transparan. Hasil pemeriksaan organoleptis ini terlihat bahwa sediaan gel dengan menggunakan basis gel Karbopol 940 memiliki bentuk yang lebih menarik yaitu transparan karena Karbopol 940 merupakan basis gel sintetis.

Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan mengoleskan sediaan pada sekeping kaca transparan (Depkes RI, 1979). Hasil pemeriksaan masing-masing sediaan gel menunjukkan susunan yang homogen dan tidak mengalami perubahan selama 8 minggu penyimpanan

Pengukuran pH sediaan dilakukan setiap minggu selama 8 minggu penyimpanan. Evaluasi yang dilakukan tiap minggu memperlihatkan pH yang berubah-ubah hal ini disebabkan oleh pengaruh suhu pada saat penyimpanan yang berubah-ubah, sediaan juga digunakan untuk melakukan evaluasi yang lain sehingga tutup wadah dibuka dan ditutup sehingga udara dapat masuk ke dalam sediaan serta bahan-bahan yang terdapat dalam sediaan yang mudah berubah pHnya karena pengaruh suhu dan kelembaban. Walaupun rangenya berada diluar range pH kulit normal yaitu 4,5-5,8 (Voigt, 1994), 4,2-6,5 (Gennaro, 1990), 5-6,5 (Balsam & Sagarin, 1992) tapi kulit mempunyai bantalan asam yang dapat menetralkan pH sediaan yang agak basa. Hasil pemeriksaan pH ini terlihat bahwa sediaan gel yang menggunakan basis HPMC memiliki pH yang lebih baik dari pH sediaan yang menggunakan basis Karbopol 940.

Uji daya menyebar bertujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan menyebar diatas permukaan kulit saat pemakaian. Pemeriksaan seharusnya dilakukan dengan menggunakan alat penetrometer, tapi karena keterbatasan alat maka dilakukan secara ekstensiometer yang dilakukan secara manual dengan prinsip menghitung pertambahan luas yang diberikan oleh sediaan pada waktu tertentu apabila diberi beban dengan berat tertentu (Voigt, 1994). Hasil pemeriksaan penyebaran keenam formula menunjukkan perbedaan yang signifikan, hal ini disebabkan oleh konsentrasi HPMC dan Karbopol 940 yang digunakan dalam masing-masing formula berbeda yang dibandingkan dengan pembanding.

Hasil pemeriksaan iritasi kulit dilakukan pada lima orang sukarelawan yang dilakukan dengan uji tempel tertutup dan dioleskan langsung pada lengan bagian atas sebelah dalam dengan diameter 2 cm selama 24 jam. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa tidak terjadi reaksi iritasi.

Pengukuran stabilitas gel terhadap pendinginan bertujuan untuk mengetahui kestabilan gel terhadap perubahan suhu, yang harus dipertimbangkan untuk menjamin apakah sediaan yang dihasilkan masih tetap stabil pada kondisi tersebut (Voigt, 1994). Hasil pemeriksaan menunjukkan tidak terjadi pemisahan selama 8 minggu penyimpanan.

Uji aktivitas antibakteri masing-masing sediaan dilakukan terhadap bakteri *P.acne*. Sebagai kontrol negatif digunakan basis gel tanpa zat aktif dan sebagai kontrol positif digunakan sediaan gel yang beredar. Metoda yang digunakan dalam penentuan daya hambat sediaan adalah metoda difusi agar, dimana agar dilubangi dan sediaan masing-masingnya dimasukkan kedalamnya dengan menggunakan spuit (alat suntik). Pada kontrol negatif menggunakan salah satu basis gel dari formula yang ada, yaitu basis F2a dimana tampak sedikit daya hambat pada basis tersebut. Hal ini mungkin disebabkan pengaruh dari etanol 96% yang terkandung pada basis tersebut.

Pengolahan data uji mikrobiologi sediaan dilakukan secara statistik dengan metoda ANOVA Satu Arah dan dilanjutkan dengan Uji DUNCAN. Hasil pengolahan statistik dengan ANOVA Satu Arah menunjukkan bahwa sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P.acne* dengan diameter hambat rata-rata yang berbeda ($p < 0,05$). Hasil Uji DUNCAN menunjukkan bahwa diameter hambat rata-rata terbagi menjadi tiga kelompok yang berbeda, yaitu kontrol negatif, formula sediaan (F2c, F2b, F2a, F1c, F1b, F1a) dan kontrol positif.

Pada bakteri *P.acne* semua formula sediaan tidak berbeda nyata. Hal ini disebabkan sediaan mengandung konsentrasi minyak atsiri yang sama sehingga menghambat bakteri ini yang merupakan bakteri anaerob yang tumbuh didalam media NA. Tetapi semua sediaan berbeda nyata dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Hal ini karena kontrol positif menggunakan zat aktif yang berbeda sedangkan kontrol negatif tidak

mengandung zat aktif.

Setelah dilakukan penelitian secara keseluruhan dapat diamati bahwa basis gel yang memberikan hasil yang lebih baik adalah gel minyak atsiri daun jeruk purut yang menggunakan basis Karbopol 940, karena dari evaluasi fisika yang meliputi organoleptis memberikan basis gel yang transparan dan daya menyebarnya baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anrizoni. 2010. Pengaruh Lama Penyulingan Daun Jeruk Purut Terhadap Rendemen dan Kandungan Sitronelal Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* D.C). *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas.
2. Balsam, M., S., & E. Sagarin. 1972. *Cosmetic Science and Technology* Vol.I, 2nd Edition. New York: A. Willey Interscience.
3. Carter, S.S. 1975. *Dispensing Pharmaceutical Students* (12th Edition). London: Pittman Medical.
4. Christine, C.S. 1984. *Laboratory Experiments In Microbiology*. California: The Benjamin Cummings Publishing Company.
5. Davis, W. W. & Stout, T. R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *J. Microbiology*. 22 (4): 666-670.
6. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi 3. Jakarta.
7. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Formularium Kosmetika Indonesia*.. Jakarta.
8. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi 4. Jakarta.
9. Dwikarya, M. 2005. *Cara Tuntas Membasmi Jerawat*. Jakarta: Kawan Pustaka.
10. Gennaro, A.R. 1990. *Remington's Pharmaceutical Sciences* (18th Edition). Pennsylvania: Mack Publishing Company.
11. Knobloch, K., Paili, A., Iberl, B., Weigand, H., and Weis, N. 1989. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils Components. *J. Ess. Oils Res*; 1 (Mei-Juni):119-128.
12. Lachman, L., Lieberman H.A., dan Kang J.L. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri II*. Penerjemah: Siti Suyatmi. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
13. Lachman, L., Lieberman H.A., dan Kang J.L. 1973. *The Theory & Practice of Industrial Pharmacy* (2nd Edition). Philadelphia: Lea & Febringer.
14. Luangnarumitchai, S., Lamlertthon, S., Tiyaboonchai, T., 2007. Antimicrobial Activity of Essential Oils Againsts Five Strains of *Propionibacterium acnes*. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34 (nomor 1-4), 60-64.
15. Martin, A., J. Swarbrick, dan A. Cammarata. 1990. *Farmasi Fisika* (Edisi III). Penerjemah: Yoshita. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
16. Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*, Edisi V. Penerjemah: M.B Widiyanto & A.S Ranti. Bandung: ITB.
17. Rowe, R.C., Sheskey, P.J., and Owen, S.C. 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 5th ed. London: Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association.

18. Sait, S. dan Lubis, E. H. 1991. *Pengaruh Cara Isolasi Minyak Atsiri dari Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C) terhadap Sifat Wangi-Dasar (fragrant principle) Aslinya*. Bogor: Balai Penelitian Kemurgi dan Aneka Industri.
19. Sait, S. 1991. *Potensi minyak atsiri daun Indonesia sebagai sumber bahan obat*. Di dalam Prosiding Forum Komunikasi Ilmiah Pengembangan Atsiri di Sumatra. Bukit Tinggi, 31 Agustus 1991. Bogor: Balai Penelitian Tanaman rempah dan Obat.
20. Suryaningrum, S. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
21. The Pharmaceutical Press. 2005. *Martindale The Extra Pharmacopeia*, 35th Edition. London.
22. Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Edisi V. Penerjemah: Soendani Noerono. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
23. Wasiaatmadja, S.M., 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
24. Wasiaatmadja, S.M., A.M. Hamzah, dan S. Aisah. 2007. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*, Edisi V. Jakarta: Balai Penerbit FK UI.