

Optimasi Sediaan Mikroemulsi Gel Antioksidan Mengandung Ekstrak Kulit Buah Cokelat (*Theobroma cacao* L.)

Ainul Fatimah Halim, Sani Ega Priani, Aulia Fikri Hidayat

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

email: ainulfatihah98@gmail.com, egapriani@gmail.com, aulia.fikri.h@gmail.com

ABSTRACT: Cocoa pod husk containing beneficial compounds, one of which are flavonoid, which is classified as polyphenolic compound, known to have antioxidant activity but it still not used optimally and only becomes industrial waste. This study is aiming to determine the antioxidant activity of cocoa pod extract and optimization optimal formula of microemulsion gel containing cocoa pod extract. Cocoa pod was macerated using 70% ethanol as a solvent. The antioxidant activity of cocoa pod extract was tested using DPPH method. Optimization of microemulsion gel base formula was made using surfactant (tween 80), variations in the combination of cosurfactant concentrations (glycerin and ethanol), oil phase (grapeseed oil), and gelling agent (viscolam MAC-10). Optimization of the addition of cocoa pod extract was done with a variety of extract concentrations of 0,5; 0,75; and 1%. Physicochemistry evaluation was done towards the final formula. Cocoa pod extract has a very strong antioxidant activity with inhibitory concentration (IC_{50}) of $16,05 \pm 1,505$ ppm. The selected base was formula with single glycerin as a cosurfactant and had a transmittance value of $94,4\% \pm 0,28$. Best microemulsion gel formula contains 0,5% of cocoa pod extract has the best transmittance value of $92,1\% \pm 0,14$. The best microemulsion gel formula contains of 0,5% cocoa pod extract, 5% grapeseed oil, 35% tween 80, 35% glycerin and 1,5% viscolam MAC-10. The formula fulfilled the microemulsion gel requirements which are homogeneous, have a pH of 6, and transmittance value of $92,1\% \pm 0,14$.

Keywords: Cocoa pod husk, antioxidant, microemulsion gel

ABSTRAK: Kulit buah cokelat mengandung senyawa bermanfaat yaitu flavonoid, dimana flavonoid tergolong senyawa polifenolat yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan, namun masih belum digunakan secara optimal dan hanya menjadi limbah industri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah cokelat dan mengoptimasi sediaan mikroemulsi gel mengandung ekstrak kulit buah cokelat yang baik. Kulit buah cokelat diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak kulit buah cokelat dengan metode DPPH. Optimasi formula basis mikroemulsi gel dibuat dengan menggunakan surfaktan (tween 80), variasi kombinasi konsentrasi kosurfaktan (gliserin dan etanol), fasa minyak (minyak biji anggur), dan *gelling agent* (*viscolam* MAC-10). Optimasi penambahan ekstrak kulit buah cokelat dilakukan dengan variasi konsentrasi ekstrak 0,5; 0,75; dan 1%. Terhadap formula akhir dilakukan evaluasi fisikokimia. Ekstrak kulit buah cokelat memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $16,05 \pm 1,505$ ppm. Basis terpilih adalah formula dengan gliserin tunggal sebagai kosurfaktan dan memiliki nilai transmitansi $94,4\% \pm 0,28$. Formula mikroemulsi gel terbaik mengandung 0,5% ekstrak kulit buah cokelat, 5% minyak biji anggur, 35% tween 80, 35% gliserin, dan 1,5% viscolam MAC-10. Formula tersebut memenuhi persyaratan sediaan mikroemulsi gel meliputi sediaan yang jernih, homogen, memiliki pH 6, dengan nilai transmitansi $92,1\% \pm 0,14$.

Kata kunci: Kulit buah cokelat, antioksidan, mikroemulsi gel

1. PENDAHULUAN

Kulit adalah bagian terluar dari tubuh yang melapisi dan melindungi tubuh dari pengaruh

lingkungan luar (Tortora, 2009). Adanya kerusakan pada kulit dapat mengganggu kesehatan dan percaya diri seseorang. Adapun faktor yang dapat merusak kulit salah satunya adalah radikal bebas dari sinar UV matahari. Tubuh membutuhkan cahaya matahari untuk membantu produksi vitamin D, namun dalam keadaan berlebih dapat menyebabkan terjadinya kemerahan, hiperpigmentasi hingga kanker (Masyuhara, 2009).

Radikal bebas yaitu molekul yang kulit terluarnya memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, bersifat sangat reaktif dan dapat merusak sel, menyebabkan timbulnya berbagai masalah kelainan biologis pada tubuh (Chen *et al*, 1996). Antioksidan adalah senyawa pendonor elektron yang dapat memberikan elektronnya dan mengikat radikal bebas sehingga mampu menghambat reaksi oksidasi (Winarsi, 2007).

Tumbuhan yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah cokelat (*Theobroma cacao* L.), tumbuhan berwujud pohon yang berasal dari hutan tropis di Amerika (Erna, 1998). Kulit buah cokelat ini belum digunakan secara optimal dan hanya menjadi limbah yang ditimbun disekitar perkebunan. Padahal kulit buah cokelat mengandung banyak senyawa yang bermanfaat seperti asam fenolat, asam sitrat, asam malat dan senyawa polifenolat lain. Berdasarkan pada komposisi kimia yang ada, kulit buah cokelat diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Priani dkk, 2019; Byung dkk, 2003).

Pada penelitian sebelumnya diketahui ekstrak etanol dari kulit buah cokelat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Priani dkk, 2019). Pada penelitian ini ekstrak etanol kulit buah cokelat akan diformulasikan menjadi sediaan mikroemulsi gel dengan menggunakan minyak biji anggur sebagai fasa minyak.

Mikroemulsi campuran dari air, minyak, surfaktan dan kosurfaktan yang bersifat satu fasa, transparan, stabil secara termodinamika dengan ukuran globul < 200 nm (Kreilgaard, 2002). Mikroemulsi gel adalah mikroemulsi yang kedalamnya ditambahkan *gelling agent* dengan konsentrasi tertentu hingga terbentuk massa gel stabil. Ditambahkannya *gelling agent* diharapkan dapat memperlama waktu kontak antara sediaan dengan kulit (Ashara *et al*, 2016).

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan beberapa masalah yaitu: bagaimana

aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah cokelat dan bagaimana formulasi mikroemulsi gel mengandung ekstrak kulit buah cokelat dengan minyak biji anggur sebagai fasa minyak yang baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit buah cokelat, mengembangkan dan menentukan formula mikroemulsi gel yang mengandung ekstrak kulit buah cokelat yang baik.

2. LANDASAN TEORI

Kulit merupakan pembungkus elastis yang dapat melindungi tubuh dari lingkungan baik kimia maupun fisik. Kulit bagian terluas dari tubuh dimana ukurannya yaitu 15% dari berat tubuh manusia. Rata-rata kulit memiliki tebal 1-2 mm dan terbagi atas 3 lapisan pokok yaitu epidermis, dermis dan hypodermis atau subkutan (Wibisono, 2008). Kulit memiliki fungsi sebagai proteksi, mencegah hilangnya air, pembentukan pigmen, keratinasi dan pembentukan vitamin D (Syaiffudin, 2009).

Radikal bebas atau *reactive oxygen species* adalah salah satu bentuk dari senyawa oksigen yang reaktif. Senyawa ini ada di dalam tubuh, terbentuknya dipicu oleh beberapa faktor. Beberapa contoh senyawa radikal bebas yang ada di tubuh adalah superoksida dan hidroksil. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang bukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menginaktivasi proses reaksi oksidasi untuk mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan dapat berupa enzim, vitamin dan senyawa lain seperti polifenolat. Bila jumlah oksigen reaktif melebihi jumlah antioksidan di dalam tubuh maka akan menyebabkan kerusakan DNA organ dan jaringan (Winarsi, 2007).

Kulit buah cokelat mengandung senyawa fenolat yang diketahui sangat bermanfaat. Salah satu manfaatnya adalah sebagai antioksidan. Diketahui ekstrak etanol 70% dari kulit buah cokelat ini memiliki aktivitas hambat (IC₅₀) sebesar 17,21 ppm (Priani dkk, 2019). Kerja antioksidannya dengan menangkal atau meredam dampak negatif yang disebabkan oleh oksidan di dalam tubuh yang dapat memicu reaksi berantai dan merusak sel (Winarsi, 2007).

Mikroemulsi sediaan yang transparan dan stabil secara termodinamika memiliki kemampuan pelarutan obat yang tinggi, sehingga

memungkinkan untuk meningkatkan kelarutan dari suatu senyawa yang memiliki kelarutan yang rendah di dalam air (Azeem *et al*, 2008). Adanya kosurfaktan pada mikroemulsi dapat meningkatkan penetrasi sediaan (Vyas *et al*, 2014). Mikroemulsi gel sebuah kombinasi antara mikroemulsi yang diberi *gelling agent*. Bentuk sediaan gel dapat meningkatkan viskositas dari mikroemulsi yang rendah. Adanya fase gel membuat sediaan menjadi lebih stabil dan lebih mudah diaplikasikan ke kulit ketika digunakan (Ashara *et al*, 2016; Wani *et al*, 2015).

METODOLOGI

Limbah kulit buah coklat (*Theobroma cacao* L.) yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Kecamatan Cijeungjing, Kabupaten Ciamis, Jawa Barat. Preparasi kulit buah coklat menjadi simplisia diawali dengan proses pemilihan, pencucian, perajangan hingga pengeringan, setelah itu dihaluskan. Simplisia yang telah diserbukkan ditentukan parameter standar simplisianya, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Dilakukan skrining fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak. Pada ekstrak kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

Tahap selanjutnya, optimasi formula basis mikroemulsi gel dengan fasa minyak yang digunakan adalah minyak biji anggur, untuk surfaktan digunakan tween 80, kosurfaktan yang digunakan adalah kombinasi gliserin dan etanol, dan *gelling agent* yang digunakan adalah viscolam MAC-10. Dilakukan evaluasi organoleptis dan penetapan nilai transmitansi. Pada formula basis yang optimum kemudian ditambahkan ekstrak kulit buah coklat dengan konsentrasi yang digunakan 0,5; 0,75; dan 1%. Terakhir dilakukan evaluasi fisikokimia terhadap sediaan mikroemulsi gel kulit buah coklat.

3. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pengujian karakteristik simplisia kulit buah coklat dilakukan melalui penetapan parameter standar spesifik dan non spesifik meliputi pengujian kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan kadar air. Pemeriksaan karakteristik ini untuk menjamin agar

simplisia yang diteliti memenuhi persyaratan yang ditetapkan.

Tabel 1 Hasil dari penetapan parameter standar simplisia kulit buah coklat

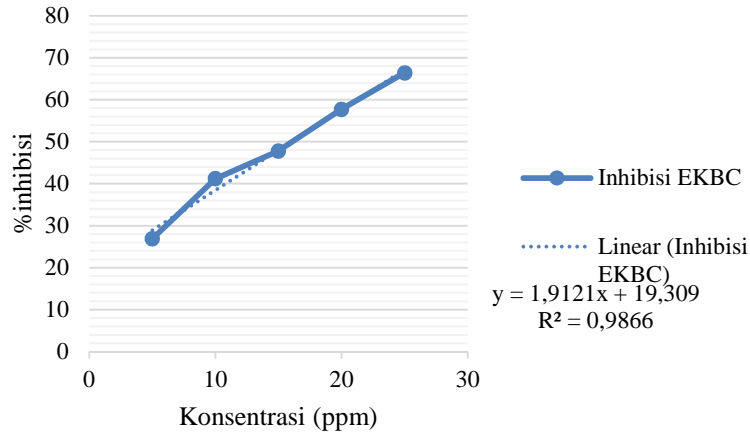
Parameter	Hasil (%)
Kadar air	8,65 ± 1,061
Kadar Abu Total	7,9696 ± 1,28
Kadar Abu Tidak Larut Asam	1,188 ± 0,17
Kadar Sari Larut Air	46,256 ± 0,85
Kadar Sari Larut Etanol	42,1269 ± 0,33

Penapisan fitokimia tahapan awal dalam melakukan identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam kulit buah coklat. Hasil penapisan fitokimia pada simplisia dan ekstrak yaitu terkandungnya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, monoterpen dan sesquiterpen, triterpenoid, tanin dan polifenolat. Diketahui bahwa simplisia dan ekstrak mengandung senyawa flavonoid dan polifenolat dimana polifenolat memiliki aktivitas antioksidan.

Untuk mendapatkan ekstrak dari kulit buah coklat maka dilakukan proses ekstraksi. Simplisia kulit buah coklat diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstraksi dilakukan selama 3 hari dengan penggantian pelarut setiap 24 jam sekali. Penggantian pelarut ditujukan untuk memaksimalkan proses pengambilan kandungan senyawa dalam simplisia, jika pelarut tidak diganti maka memungkinkan pelarut untuk mencapai tingkat jenuh sehingga tidak mampu lagi untuk menarik kandungan senyawa yang ada di dalam simplisia.

Setelah itu ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator*. Dari hasil pemekatan dan penguapan didapatkan rendemen ekstrak kental kulit buah coklat sebanyak 17,66%.

Kemudian ekstrak kental dibuat larutan dengan dengan konsentrasi masing-masing 5, 10, 15, 20 dan 25. Ditambahkan ke dalamnya larutan DPPH kemudian serapannya diukur. Ekstrak kulit buah coklat memiliki daya inhibisi yang semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi yang digunakan, dapat dilihat pada kurva.



Gambar V.1 Kurva %inhibisi DPPH ekstrak kulit buah cokelat

Berdasarkan pada hasil perhitungan yang telah dilakukan, ekstrak kulit buah cokelat memiliki IC₅₀ sebesar 16,05 ppm.

Selanjutnya dilakukan optimasi basis mikroemulsi gel. Optimasi dibuat dalam 5 formula dengan variasi konsentrasi kombinasi kosurfaktan. Kosurfaktan yang digunakan yaitu gliserin dan

etanol. Gliserin digunakan karena memiliki ketercampuran yang baik dengan minyak biji anggur. Penggunaan etanol didasari karena ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol, diharapkan etanol nantinya dapat meningkatkan kelarutan ekstrak didalam sediaan. Semua basis di evaluasi fisik seperti organoleptis dan nilai transmitansi.

Tabel 2 Hasil optimasi formula basis mikroemulsi gel

Bahan (%)	F1	F2	F3	F4	F5
Minyak Biji Anggur	5	5	5	5	5
Tween 80	35	35	35	35	35
Gliserin	35	25	17,5	10	0
Etanol	0	10	17,5	25	35
Viscolam MAC-10	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
TEA	qs	qs	qs	qs	qs
Aquadest ad	100	100	100	100	100
Kejernihan	Jernih	Keruh	Keruh	Agak Keruh	Agak Keruh
Bau	khas lemah	khas lemah	khas lemah	khas lemah	khas lemah
Warna	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning
Konsistensi	Kental	Kental	Kental	Encer	Encer
Nilai Transmitansi (%)	94,4 ± 0,28	0,4 ± 0,14	0,45 ± 0,07	3,45 ± 0,21	13,7 ± 0,14

Formula yang memnuhi kriteria basis mikroemulsi gel adalah F1 dapat dilihat pada **tabel 2**. F1 adalah formula dengan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan 1:1 dengan penggunaan kosurfaktan gliserin tunggal. Hal tersebut menunjukkan bahwa gliserin lebih sesuai dalam pembentukan mikroemulsi gel minyak biji anggur dengan surfaktan tween 80. Penggunaan etanol

tidak menghasilkan sistem mikroemulsi yang baik, karena kurangnya ketercampuran antara minyak biji anggur dengan etanol.

Terhadap formula terpilih yaitu F1 dilakukan optimasi penambahan ekstrak kulit buah cokelat dengan konsentrasi yang digunakan adalah 0,5; 0,75; dan 1%.

Tabel 3 optimasi formula penambahan ekstrak kulit buah cokelat

Bahan (%)	F1A	F1B	F1C
Ekstrak Kulit Buah Cokelat	0,5	0,75	1
Minyak Biji Anggur	5	5	5
Tween 80	35	35	35
Gliserin	35	35	35
Viscolam MAC-10	1,5	1,5	1,5
TEA	qs	qs	qs
Aquadest ad	100	100	100

Pada proses pembuatannya, setelah selesai dibuat sediaan disonikasi terlebih dahulu untuk membantu ekstrak masuk ke dalam sistem mikro lebih baik lagi. Sediaan dilakukan evaluasi fisikokimia meliputi organoleptis (bau, warna, dan konsistensi), homogenitas, pengukuran pH, dan nilai transmitansi.

Tabel 4 Hasil pengujian fisikokimia sediaan mikroemulsi gel

Pengujian	F1A	F1B	F1C
Kejernihan	Jernih	Jernih	Jernih
Bau	khas lemah	khas lemah	khas lemah
Warna	Cokelat	Cokelat	Cokelat
Konsistensi	Kental	Kental	Kental
pH	6 ± 0	6 ± 0	7 ± 0
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
Nilai Transmitansi (%)	92,1 ± 0,14	90,35 ± 0,21	87,15 ± 0,07

Dilihat dari hasil pengujiannya memperlihatkan bahwa sediaan yang dihasilkan kental, memiliki bau khas yang lemah dan berwarna coklat. Uji organoleptis ini dilakukan untuk mengetahui karakteristik sediaan dalam hal bau, warna, dan konsistensi.

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui sediaan yang dibuat homogen atau tidak ditandai dengan tidak adanya serat dan partikel kasar di dalam sediaan.

Uji pH dilakukan untuk memastikan pH sediaan sesuai dengan pH kulit. Persyaratan pH untuk sediaan topikal adalah 4 – 8 (Wardina *et al*, 2015). Jika pH sediaan terlalu rendah atau terlalu tinggi dari pH fisiologis kulit maka akan menyebabkan iritasi pada kulit (Swastini *et al*, 2011).

Nilai transmitansi dilakukan untuk mengukur kejernihan dari mikroemulsi gel yang terbentuk. Pengukuran ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm dengan menggunakan aquadest sebagai blanko. Hasil pengukuran berada diatas 90% maka dapat dinyatakan sampel memiliki kejernihan atau transparansi yang baik (Thakkar *et al*, 2011).

F1A memiliki penampilan yang jernih dengan nilai transmitansi yang tinggi, sedangkan untuk F1B dan F1C tidak. Hal tersebut dapat disebabkan karena konsentrasi ekstrak yang digunakan terlalu tinggi sehingga mempengaruhi kejernihan dari sediaan.

4. KESIMPULAN

1. Dari hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak kulit buah coklat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan aktivitas inhibisi (IC_{50}) sebesar $16,05 \pm 1,505$ ppm.
2. Diketahui formula mikroemulsi gel F1A dengan kandungan 0,5% ekstrak kulit buah coklat, 5% minyak biji anggur, 35% tween 80, 35% gliserin, dan 1,5% *viscolam* MAC-10 merupakan formula optimum berdasarkan pada hasil pengujian fisikokimia sediaan meliputi organoleptis dengan bau khas yang lemah dan berwarna coklat demgam konsistensi kental, homogenitas yang homogen, pH 6 dan nilai transmitansi sebesar 92,1%.

5. SARAN

Untuk penelitian berikutnya perlu dilakukan adanya uji lanjutan, untuk pengujian viskositas dan rheology pada sediaan, karakterisasi ukuran dan distribusi ukuran globul dengan PSA (*Particle Size Analyzer*), uji stabilitas termodinamika sediaan, dan uji aktivitas antioksidan sediaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashara, K.C., Jalpa, S.P., Moinuddin M.S., Jayanth R.C., Vishal P.M, dan Nitin M.M. (2016). Microemulgel : an overwhelming approach to improve therapeutic action of drug moiety, *Study Pharmaceutical Journal*, Vol.24.
- Azeem, A., Mohammad, R., Farhan, J.A., Zeenat, I.K., Roop, K.K., Mohammed, A., dan Sushama, T. (2008). Emerging Role of Microemulsion in Cosmetics, *Recent Patentson Drug Delivery & Formulation*, Vol.2, Hal: 275.
- Byung, Y.C., Kenji, I., dan Kang-Wan, H. (2003). Compositional Characterization of Cacao (*Theobroma cacao* L.), *Hull*, 113-8657, 561-756.
- Chen HM, Koji M, Fumio Y, Kiyoshi N. (1996). Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein, *J. Agric. Food Chem*, Vol.44: 2619-23.
- Erna, R.M. (1998). *Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao* L), [Skripsi], Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Kreilgaard M. (2002). Influence of Microemulsion on Cutaneous Drug Delivery, *Advanced*

- Drug Delivery Review*. Vol.54.
- Masyuhara, S. (2009). *Rahasia Cantik, Sehat dan Awet Muda*, Pustaka Panasea, Yogyakarta.
- Priani, S.E., Indah, A.L., dan Fetri, L. (2019). Pengembangan Sediaan Emulgel Mengandung Minyak Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.), *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, Vol.4, No.1.
- Priani, S.E., Saskara A., Ratih A., Leni P. (2019). Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Activity of Face Serum Containing Cocoa pod Husk Phytosome (*Theobroma cacao* L.), *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol.9(10), pp 110-115, UNISBA, Bandung.
- Swastini, D.A., Yanti, N.L.G.T., Udayana, N.K., Desta, I.G.A.G.P.C., Arianti, C.I.S., Wirasuta, I.M.A.G. (2011). *Uji Sifat Fisik Cold Cream Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.), Daun Binahong (Anredera cordifolia), Herba Pegagan (Centella asiatica) sebagai Antiluka Bakar*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, Jimbaran-Bali.
- Syaifuddin. (2009). *Anatomi Tubuh Manusia Edisi 2*, Salemba Medika, Jakarta, Hal:314-316.
- Thakkar, H., Nangesh, J., Parmar, M., & Patel, D. (2011). Formulation and Characterization of Lipid-based Drug Delivery System of Raloxifene Microemulsion and Self-Microemulsifying Drug Delivery System, *J Pharm Bioallied Sci.*, 3(3), 442-448.
- Tortora, G.J dan B. Derrickson. (2009). *Principles of Anatomy and Physiology*, John Wiley dan Sons Inc, United States of America.
- Vyas, A., Sonker, A.K., dan Gidwani, B. (2014). Carrier-Based Drug Delivery System for Treatment of Acne, *Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal*, Volume 2014, pp:8.
- Wani, R.R., Patil, M.P., Dhurjad, P., Chaudhari, C.A., and Kshirgasar, S.J. (2015). Microemulsion Based Gel: A Novel Approach in Delivery of Hydrophobic Drugs. *International Journal of Pharmaceutical Research Scholars*, Vol.4, Issue,2: 398.
- Wardina, Husnul., Yullia, Sukawaty., Mega. (2015). Stabilitas dan Aktivitas Gel Ekstrak Bulbus Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Mill Urb.) Sebagai Anti Acne, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, Vol 1 No.1.
- Wibisono. (2008). *Perbedaan Lama Penyembuhan Luka Bersih Antara Perawatan Luka Dengan Menggunakan Gerusan Bawang Merah (Allium cepa L.) Dibandingkan Dengan Providone Iodin 10% Pada Tikus Putih (Rattus novergicus Strain Wistar, [Skripsi]*, Fakultas Kedokteran Jurusan Keperawatan Universitas Brawijaya, Malang.
- Winarsi, Hery. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal bebas*, Kanisius, Yogyakarta, Hal:12;20-23.