

POTENSI KETOKSIKAN DERMAL AKUT PRODUK KOSMETIK YANG MENGANDUNG 2% BENZOFENON-3 PADA KELINCI PUTIH JANTAN

Nenik Kusuma Dewi

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jl. Raya Dukuhwaluh,
PO BOX 202, Kembaran, Purwokerto 53182, Telp. 0281 637718

ABSTRAK

Potensi ketoksikan dermal akut dari produk kosmetik yang mengandung 2% benzofenon-3 telah ditentukan melalui uji iritasi primer menggunakan hewan uji kelinci putih jantan pada tiga peringkat dosis yaitu 0,25 mL; 0,50 mL; 1,00 mL, dan memberikan hasil indeks iritasi primer berturut-turut adalah 1,41; 1,34; dan 1,67. Indeks iritasi primer 2% benzofenon-3 sebesar 0,83. Hasil tersebut menunjukkan bahwa 2% benzofenon-3 dan produk kosmetik yang mengandung 2% benzofenon-3 mempunyai potensi hanya sedikit merangsang iritasi.

Kata kunci: kosmetik, iritasi, benzofenon-3

ABSTRACT

The potency of acute dermal toxicity of cosmetic product which contained 2% benzophenone-3 had been determined by primary irritation testing use local male rabbit in three graded doses, they were 0.25 mL; 0.50 mL; and 1.00 mL. The results showed that primary irritation index were each 1.41; 1.34; and 1.67 whereas 2% benzophenone-3 have primary irritation index 0.83. It meant that 2% benzophenone-3 and tested cosmetic products had mild irritation potency.

Key words: cosmetic, irritation, benzophenone-3

PENDAHULUAN

Pesatnya produksi produk kosmetik yang ditunjang oleh adanya peningkatan permintaan kosmetik dari masyarakat merupakan suatu peluang bisnis yang dimanfaatkan oleh banyak

industri kosmetik untuk menghasilkan produk kosmetik yang beraneka ragam. Penawaran berbagai produk kosmetik tersebut memberikan keleluasaan konsumen untuk memilih produk kosmetik. Pemilihan suatu produk

idealnya berdasarkan atas spesifikasi produk, keunggulan produk dan keamanan dari produk tersebut. Kondisi di masyarakat ternyata belum memungkinkan hal tersebut dilaksanakan karena pemilihan suatu produk kosmetik biasanya didasarkan atas iklan yang ada di media massa yang cenderung hanya memberikan informasi berupa keunggulan produk, sedangkan efek samping produk tersebut biasanya tidak sampai pada masyarakat.

Tahun 1994 FDA menerima kurang lebih 200 laporan tentang efek samping berupa alergi dan iritasi (Sukandar, 2004). Efek samping itu sendiri merupakan aspek negatif dari pemakaian suatu kosmetik yang kontak dengan kulit dan merupakan konsekuensi yang tidak diharapkan yang bisa terjadi pada siapapun yang menggunakannya. Peningkatan jumlah konsumen yang menggunakan kosmetik tersebut akan diikuti dengan peningkatan kejadian efek samping.

Angket yang disebarakan pada 265 responden tahun 2004 untuk mengetahui apakah responden pernah mengalami efek samping akibat pemakaian produk kosmetik memberikan hasil 26 dari 33

konsumen produk X mengalami efek samping berupa kulit kemerahan. Kulit kemerahan itu dalam toksikologi dasar merupakan salah satu tolok ukur kualitatif dari iritasi primer. Iritasi merupakan respon inflamasi lokal akibat penggunaan tunggal senyawa toksik. Secara histologis, inflamasi melibatkan rangkaian kompleks yang meliputi dilatasi arteriol, kapiler, dan venula, peningkatan permeabilitas dan aliran darah, eksudasi aliran mencakup protein plasma dan migrasi leukosit pada tempat inflamasi (Oslo, 2000).

Salah satu zat aktif yang terkandung dalam produk tersebut adalah benzofenon-3 yang berdasarkan literatur mempunyai potensi efek samping berupa iritasi kulit berupa kulit kemerahan, gatal dan nyeri (Anonim, 2005). Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan suatu penelitian untuk melakukan konfirmasi apakah produk X tersebut dan zat aktifnya dapat menyebabkan iritasi primer. Jika menyebabkan iritasi primer, maka akan dicari berapa indeks iritasi primernya dan termasuk dalam kelompok apa berdasarkan sifat mengiritasinya.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Sampel produk kosmetik X yang mengandung 2% benzofenon-3 dengan nomor *batch* 43241448 204, kode produksi 8.999777.867317, nomor registrasi: CD 1005001703, benzofenon-3 dengan konsentrasi 2%, karton, akuades, minyak nabati. Hewan uji yang digunakan adalah kelinci putih, lokal, jantan, sehat, dewasa, bobot seragam.

Alat

Gunting, pisau cukur, kassa steril, dan leukoplast.

Prosedur Percobaan

Penetapan dosis

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini berpatokan pada 0,5 mL untuk bahan yang berupa cairan dan 0,5 g untuk bahan yang berbentuk padat untuk 1x1 inci kulit (Anonim, 1996^a; Anonim, 1998; Anonim, 2002). Untuk mengetahui hubungan efek dengan dosis maka dibuat variasi dosis dengan faktor kelipatan tertentu (Anonim, 1996^b), dosis ditentukan berdasarkan perkiraan jumlah pemakaian terbesar pada manusia yaitu 1,0 mL untuk ukuran 1x1 inci (dua kali lipat dosis uji). Untuk dosis terendahnya diturunkan setengah dari

dosis uji yaitu 0,25 mL sehingga dosis uji mempunyai faktor kelipatan 2. Kontrol zat aktif yaitu benzofenon-3 dengan konsentrasi 2% serta kontrol pelarut yang berupa minyak nabati diberikan pada dosis 0,50 mL sesuai dengan dosis baku *Draize test*.

Pemilihan hewan uji

Senyawa uji diperkirakan tidak akan menghasilkan korosi atau iritasi yang berat sehingga dalam penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah enam kelinci putih lokal jantan, sehat, dewasa, dan bobot seragam dibagi dalam dua kelompok yang sama yaitu kelompok kulit normal dan kelompok kulit lecet (Anonim, 1996^a).

Pencukuran

Persiapan area kulit yang akan dipakai untuk uji iritasi primer dilakukan 24 jam sebelum pengujian. Rambut pada punggung kelinci dicukur dengan hati-hati agar tidak terjadi lecet (Anonim, 1996^b). Untuk senyawa uji yang diketahui mampu menembus kulit sampai ke dermis, maka uji ini dapat diperluas dengan menggunakan hewan uji yang sengaja dibuat lecet. Pelecetan dilakukan setelah proses pencukuran rambut pada punggung kelinci selesai

dengan cara insisi minor sepanjang lapisan permukaan sel. Insisi itu tidak terlalu dalam sehingga tidak mengganggu kulitnya atau menimbulkan perdarahan. Oleh karena punggung kelinci lebar, maka untuk satu ekor kelinci dibuat 5 area uji dengan ukuran masing 1 (inci)². Pemejanaan senyawa uji pada punggung kelinci dilakukan dengan urutan tetap sebagai berikut: area uji pertama yang paling atas (dekat dengan leher) dioleskan dosis 0,25 mL; area uji di bawahnya diolesi 0,5 mL; area selanjutnya diolesi dosis 1,0 mL; area keempat sebagai kontrol zat aktif dan terakhir sebagai daerah kontrol pelarut. Benzofenon-3 sebagai zat aktif yang dicurigai berpotensi menimbulkan iritasi primer berupa serbuk yang harus dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, sehingga perlu kontrol untuk pelarut yaitu minyak nabati (Anonim, 1996^a; Anonim, 1998; Anonim, 2002).

Pemejanaan senyawa uji

Setelah pencukuran selesai, kemudian dilanjutkan dengan pemejanaan senyawa uji. Sebelum dioleskan senyawa uji, kulit kelinci dibersihkan pelan-pelan dengan kapas bersih yang dibasahi air. Setelah dioleskan produk

kosmetik yang mengandung 2% benzofenon-3, kontrol zat aktif benzofenon-3 serta kontrol pelarut, kemudian punggung kelinci tersebut ditutup dengan kain kasa steril yang dilapisi dengan plastik tipis, dibuat sedemikian rupa sehingga dipastikan hewan uji tidak menelan senyawa uji yang diberikan. Selain itu di sekeliling leher hewan uji dililitkan kerah untuk mencegah penelanan senyawa oleh hewan uji. Setelah itu, hewan uji dikembalikan ke kandangnya. Setelah 24 jam, kain kasa penutup dibuka dan kulit hewan uji dibersihkan dari sisa senyawa uji yang menempel. Amati adanya gejala toksik yang timbul yaitu iritasi primer yang berupa eritema dan edema selama 24 dan 72 jam untuk kelompok kelinci dengan kulit yang tidak terluka. Pemejanaan yang serupa juga dilakukan untuk kelompok kelinci dengan kulit yang dilecetkan.

Pengamatan gejala toksik

Pengamatan gejala klinis dilakukan pada interval waktu 24 dan 72 jam setelah pengolesan senyawa uji, lalu diamati tanda-tanda terjadinya eritema dan edema. Pengamatan dilakukan pada jam yang kurang lebih

sama setiap harinya.

Analisis hasil

1. Pemberian skor eritema dan edema

Gejala toksik iritasi primer dianalisis secara kualitatif, yaitu pengamatan gejala toksik berupa eritema dan edema. Pengamatan dilakukan pada 24 dan 72 jam setelah pemejanan senyawa uji. Setelah itu dilakukan pengelompokan ke dalam skor eritema dan edema sesuai dengan Tabel 1.

2. Perhitungan indeks iritasi primer

Evaluasi dilakukan dengan menggabungkan hasil uji yang berupa skor 24 dan 72 jam dari kelompok hewan uji kulit normal dengan kulit yang sengaja dilecetkan untuk memperoleh indeks iritasi primer. Langkah awal perhitungan dimulai dengan menghitung rata-rata eritema 24 jam dan 72 jam dilanjutkan dengan menghitung rata-rata edema 24 dan 72 jam masing-masing kondisi kulit. Iritasi primer kulit normal dihitung dengan cara berikut: rata-rata eritema 24 jam ditambahkan dengan rata-rata eritema 72 jam ditambahkan rata-rata edema kulit 24 jam ditambah edema

72 baru kemudian dibagi empat. Dengan cara yang sama dapat dihitung iritasi primer kulit lecet. Indeks iritasi primer didapatkan dengan menggabungkan iritasi primer kulit normal dan iritasi primer kulit lecet. Setelah didapat nilai indeks iritasi primer, maka dilihat kategori sifat mengiritasi senyawa pada Tabel 2.

3. Pengelompokan senyawa uji berdasarkan indeks iritasi primer

Indeks iritasi primer yang dihitung digunakan sebagai dasar untuk mengelompokkan suatu senyawa uji berdasarkan kemampuannya mengiritasi kulit.

Setelah ditemukan indeks iritasi primer pada setiap peringkat dosis, akan ditemukan dosis terkecil dimana sudah menimbulkan eritema atau edema, yang nantinya dapat digunakan untuk memperkirakan resiko penggunaan produk tersebut.

4. Uji statistik

Data yang diperoleh dalam uji iritasi primer merupakan data yang berupa skor maka jenis data yang diperoleh adalah data ordinal sehingga dianalisis dengan statistik non parametrik (Santoso, 2001).

Karena ada dua variabel bebas yang akan diteliti pengaruhnya pada variabel tergantung yaitu kondisi kulit subyek uji dan perbedaan dosis produk kosmetik yang mengandung 2% benzofenon-3 maka digunakan analisis statistik non parametik analisis varian *multivariate* dengan taraf signifikansi (α) 5% (Santoso, 2004). Analisis varian *multivariate* merupakan satu-satunya analisis yang digunakan untuk mengetahui interaksi dua variabel bebas terhadap timbulnya variabel tergantung yang dapat digunakan untuk data yang

sifatnya skor (Ghazoli, 2005). Jadi uji statistik ini digunakan untuk mengetahui apakah kedua jenis perlakuan menghasilkan skor iritasi yang identik atau tidak, sekaligus untuk mengetahui interaksi keduanya dalam menghasilkan respon iritasi. Sebelum dilakukan analisis varian *multivariate*, dilakukan analisis regresi untuk menguji hubungan atau (korelasi) antara variabel tergantung dan variabel bebas yaitu dengan analisis korelasi Spearman dan Kendal (Santoso, 2004).

Tabel 1. Evaluasi reaksi kulit (Lu, 1995)

1. Eritema dan pembentukan kerak	Skor
Tanpa eritema	0
Eritema sangat sedikit (hampir tidak tampak)	1
Eritema berbatas jelas	2
Eritema moderat sampai berat	3
Eritema berat (merah bit) sampai sedikit membentuk kerak (luka dalam)	4
Total skor eritema yang mungkin	4
2. Pembentukan edema	Skor
Tanpa edema	0
Edema sangat sedikit (hampir tidak tampak)	1
Edema sedikit (tepi daerah berbatas jelas)	2
Edema moderat (tepi naik kira-kira 1 mm)	3
Edema berat (naik lebih dari 1 mm dan meluas keluar daerah pemejanaan)	4
Total skor edema yang mungkin	4

Tabel 2. Kategori sifat mengiritasi berdasarkan rata-rata gabungan indeks iritasi primer senyawa kimia (Lu, 1995)

Indeks iritasi primer	Golongan senyawa
< 2	Hanya sedikit merangsang
2 – 5	Iritan moderat
>6	Iritan berat

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa uji dipejankan pada kulit punggung kelinci selama 24 jam. Pengamatan dilakukan setelah pemejangan pada jam ke 24 dan 72 untuk melihat dua tolok ukur iritasi primer yaitu eritema dan edema. Stimulus iritan memulai efeknya pada pembuluh darah kecil di permukaan atas dermis. Indikasi utama terjadinya inflamasi kutaneus adalah eritema lokal yang terjadi peningkatan aliran darah dalam pembuluh darah ini. Dengan peningkatan peningkatan aliran darah, protein plasma dan cairan keluar ke sekitar dermis sehingga terjadi edema. Eritema dan edema yang timbul kemudian diberi skor sesuai Tabel 1, hasil rata-rata skoring dapat dilihat pada Tabel 3.

Iritasi primer merupakan efek toksik yang bersifat reversibel, yang pada awalnya merupakan respon adaptif tubuh akibat terpejani senyawa asing.

Hasil pengamatan menunjukkan adanya penurunan skor eritema dan edema pada jam ke 72 baik pada kelompok kulit normal maupun lecet menunjukkan reversibilitas efek toksik pada hewan uji.

Dari Tabel 3 dihitung rata-rata respon iritasi primer tiap kondisi kulit kemudian digabung untuk mendapatkan indeks iritasi primer. Dari indeks iritasi primer ini kemudian suatu senyawa dikelompokkan menurut Tabel 2 berdasarkan potensi mengiritasinya. Data pengamatan yang telah dihitung indeks iritasi primer dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil perhitungan indeks iritasi primer untuk benzofenen-3 dan semua dosis produk X dikelompokkan berdasarkan Tabel 2 berarti mempunyai sifat hanya sedikit merangsang. Indeks iritasi primer produk X dihitung berdasarkan dosis baku yaitu indeks iritasi primer pada dosis 0,50 mL sebesar 1,34.

Untuk melihat korelasi skor yang timbul akibat perbedaan dosis maka dilakukan dengan pengukuran korelasi Spearman dan Kendall. Kedua korelasi

ini dapat mengukur hubungan antara data yang sifatnya ordinal. Hasil pengukuran kedua korelasi ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 3. Data pengamatan iritasi primer secara kuantitatif dalam rata-rata skor eritema dan edema

No	Kelompok	Kulit normal dari 3 ekor kelinci ($\bar{x} \pm SEM$)				Kulit lecet dari 3 ekor kelinci ($\bar{x} \pm SEM$)			
		24 Jam		72 Jam		24 Jam		72 Jam	
		Eri	Ede	Eri	Ede	Eri	Ede	Eri	Ede
1	Kontrol zat aktif 0,5 mL	0,33± 0,33	0±0	0±0	0±0	2,33± 1,20	0±0	0,67± 0,67	0±0
2	Kontrol pelarut 0,5 mL	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	Produk X dosis 0,25 mL	0,33± 0,33	1,33± 0,33	0,33± 0,33	0±0	3±0	0±0	0,67± 0,67	0±0
4	Produk X dosis 0,5 mL	1±1	1±1	0±0	0±0	2±1	0,67± 0,33	0,67± 0,67	0±0
5	Produk X dosis 1,00 mL	0,67± 0,67	1±1	0±0	0±0	3,67± 0,33	0±0	1,33± 0,67	0±0

Keterangan :

Eri : eritema

Ede : edema

$\bar{x} \pm SEM$: Purata ± *Standard Error of Mean*

Tabel 4. Data pengamatan iritasi primer secara kuantitatif yang berupa indeks iritasi primer

No.	Kelompok	Iritasi primer		Indeks iritasi primer
		Kulit normal	Kulit lecet	
1.	Kontrol zat aktif 0,5 mL	0,08	0,75	0,83
2.	Kontrol pelarut 0,5 mL	0	0	0
3.	Produk X dosis 0,25 mL	0,49	0,92	1,41
4.	Produk X dosis 0,5 mL	0,5	0,84	1,34
5.	Produk X dosis 1,0 mL	0,42	1,25	1,67

Tabel 5. Korelasi dosis terhadap skor iritasi primer yang timbul

No	Korelasi	Variabel bebas	Skor iritasi primer	Koef. korelasi	z hitung	Asymp. Sig	Keterangan	
1.	Spearman	Dosis Nivea	Eritema jam	24	0,140	0,577	0,581	Tidak ada korelasi
		Visage®	Edema jam	24	-0,203	-0,837	0,419	Tidak ada korelasi
			Eritema jam	72	0,042	0,173	0,869	Tidak ada korelasi
2.	Kendall	Dosis Nivea	Eritema jam	24	0,119	0,690	0,575	Tidak ada korelasi
		Visage®	Edema jam	24	-0,182	-1,055	0,403	Tidak ada korelasi
			Eritema jam	72	0,035	0,203	0,877	Tidak ada korelasi

Hasil korelasi Spearman dan Kendall ini menunjukkan bahwa tidak ada korelasi yang positif (tidak ada hubungan antara variabel bebas dengan variabel tergantung), artinya peningkatan dosis tidak akan menyebabkan peningkatan efek iritasi primer. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Jiang *et al.* (1999) benzofenon-3 menembus kulit dalam jumlah yang signifikan sebesar $0,08 \text{ g/m}^2$ atau $0,0000524 \text{ g/(inci)}^2$. Jika dihitung secara matematis maka benzofenon-3 dalam senyawa uji berturut-turut dari 0,25 mL; 0,50 mL; dan 1,00 mL adalah $0,005 \text{ g/(inci)}^2$; $0,01 \text{ g/(inci)}^2$; $0,02 \text{ g/(inci)}^2$. Dari dosis terkecil senyawa uji yang diberikan sudah melebihi batas kadar yang dapat menembus kulit dalam jumlah yang signifikan sehingga dengan

peningkatan dosis, eritema dan edema yang timbul secara statistik tidak berbeda secara signifikan meskipun terlihat perbedaan skor iritasi primer. Hal lain yang mungkin memberikan penjelasan adalah efek yang timbul tidak tergantung dengan dosis (*dose independent*).

Pengaruh perbedaan dosis dengan kondisi kulit serta interaksi keduanya dalam menimbulkan efek iritasi primer dianalisis dengan menggunakan analisis varian *multivariate*. Secara teoritis, eritema dan edema yang timbul sebanding dengan dosis dan kondisi kulit yang luka menyebabkan permeabilitas kulit meningkat sehingga dapat meningkatkan daya absorpsi percutan. Hasil perhitungan statistik dengan analisis varian *multivariate* tiga

peringkat dosis senyawa uji produk X dapat dilihat pada Tabel 6.

Dari hasil keseluruhan analisis multivariat hanya ada 1 efek yang berbeda yaitu pada eritema 24 jam akibat perbedaan kondisi kulit yang berbeda secara signifikan. Analisis dilanjutkan dengan analisis non parametrik untuk melihat perbedaan tersebut terjadi pada dosis berikut. Sampel yang diambil sifatnya bebas maka analisis diteruskan dengan uji Mann-Whitney. Hasil uji Mann-Whitney pada efek eritema 24 jam

yang berbeda akibat perbedaan kondisi kulit. dicari perbedaan tersebut terjadi pada dosis berapa dapat dilihat pada Tabel 7.

Perbedaan skor iritasi primer akibat perbedaan dosis dan kondisi kulit serta interaksi dari keduanya (dosis dan kondisi kulit) tidak berbeda secara signifikan. Sedangkan pada eritema 24 jam perbedaan skor yang terjadi akibat perbedaan kondisi kulit normal dengan kulit lecet terjadi pada dosis 0,25 mL dan 1,00 mL.

Tabel 6. Hasil analisis multivariat dari efek iritasi primer terhadap kondisi kulit dan tiga peringkat dosis produk X

No	Sumber variasi	Respon	F _{hitung}	<i>Asymptomatic significance</i>	Keterangan
1	Dosis produk X	Eri 24	0,542	0,595	Tidak berbeda signifikan
		Ede 24	0,150	0,862	Tidak berbeda signifikan
		Eri 72	1,444	0,274	Tidak berbeda signifikan
2	Kondisi kulit	Eri 24	16,667	0,002	Berbeda signifikan
		Ede 24	3,200	0,099	Tidak berbeda signifikan
		Eri 72	2,778	0,121	Tidak berbeda signifikan
3	Dosis*kondisi kulit	Eri 24	1,292	0,310	Tidak berbeda signifikan
		Ede 24	0,350	0,712	Tidak berbeda signifikan
		Eri 72	1,444	0,274	Tidak berbeda signifikan

Tabel 7. Hasil uji Mann-Whitney pengaruh perbedaan kondisi kulit terhadap eritema 24 jam pada peringkat dosis produk X

No	Dosis	z hitung	<i>Asymptomatic significance</i>	Keterangan
1	0,25 mL	-2,121	0,034	Berbeda signifikan
2	0,50 mL	-0,745	0,456	Tidak berbeda signifikan
3	1,00 mL	-2,023	0,043	Berbeda signifikan

KESIMPULAN

1. Benzofenon-3 dengan konsentrasi 2% dan produk X yang mengandung 2% benzofenon-3 dapat menyebabkan iritasi primer.
2. Indeks iritasi primer berturut-turut untuk benzofenon-3 dan produk X dosis 0,25 mL; 0,5 mL; 1,00 mL adalah 0,83; 1,41; 1,34; 1,67 termasuk dalam kelompok hanya sedikit merangsang iritasi.

diakses pada 26 Februari 2005.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim.1996^a. *Acute Dermal Irritation*, <http://altweb.jhsph.edu>. Data diakses pada 19 Maret 2005.
- Anonim. 1996^b. *Acute Dermal Toxicity*, <http://altweb.jhsph.edu>. Data diakses pada 19 Maret 2005.
- Anonim, 1998, *Health Effects Test Guidelines*. <http://epa.gov>. Data diakses pada 13 Maret 2005.
- Anonim. 2002. *Acute Toxicity: Dermal Irritation/Corrosion*. <http://www.oecd.org>. Data diakses pada 15 Maret 2005.
- Anonim. 2005. *Material Safety Data Sheet: Benzophenone-3*. <http://www.jtbaker.com>. Data diakses pada 26 Februari 2005.
- Ghozali, I. 2005. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang.
- Jiang, R., M.S. Robert. N.V. Hoffman. Bensonhae. 1998. *Absorption of Sunscreen into human skin and evaluation of a number of commercial product*. <http://www.ncbi.gov>. Data diakses pada 19 Maret 2005.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Risiko*. Diterjemahkan oleh Nugroho, E. Edisi kedua. UI-Press, Jakarta. Hal. 239-246.
- Oslon, C.T. 2000. *Evaluation Of The Dermal Irritancy Of Chemicals*. CRC Press Inc, Florida Hal.125-135.
- Santoso, S. 2001. *SPSS Versi 10*. Penerbit PT Elex Media Komputindo, Jakarta. Hal 434-439.
- _____. 2004. *Buku Latihan SPSS Statistik Non Parametrik*. Penerbit PT Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Sukandar, E.Y. 2004. *Pidato Ilmiah pada Acara Dies Natalis ITB ke-45*. <http://www.itb.co.id>. Data diakses pada 12 Juni 2004.