KRISTAL HEMOGLOBIN PADA BERCAK DARAH YANG TERPAPAR OLEH BEBERAPA DETERJEN BUBUK MENGGUNAKAN TES TEICHMANN DAN TES TAKAYAMA

Serli Marcelisa
Enikarmila Asni
Mohammad Tegar Indrayana
serlimarcelisa@gmail.com

ABSTRACT

Bloodstain is one of the body fluid which might drop in some criminal case. Investigating bloodstain is very useful to solve a criminal case and can be an evidance. There are some ways to eliminate the evidance for example wash the bloodstain from victim's cloth. The purpose of this research are to know the description of hemoglobin crystal exposed by some detergent powder using Teichmann test and Takayama test. Teichmann test and Takayama test are forensic laboratory examination that can help to prove the formation of hemoglobin crystals. The reserch was an experimental study conducted in a University Medical School Biochemistry Laboratory Riau. Exposure method in this research is to be streamed. The results of this research was still finding hemoglobin crystals in 14 (100%) slide that have been drained of bloodstain using 7 brand deterjen powder. The conclusion of this reserch is bloodstain that has beeb exposed to detergent powder still gaves an overview of hemoglobin crystals.

Keywords *: bloodstain, detergent powder,hemoglobin crystals, Teichmann test, Takayama test*

PENDAHULUAN

Darah yang ditemukan pada tempat kejadian perkara (TKP) sering kali dalam bentuk bercak darah dan dalam jumlah sedikit. Bercak darah yang didapat tersebut sangat berguna untuk mengungkap suatu tindakan pidana itu terjadi, misalnya pada kasus pembunuhan yang dikaitkan dengan bercak darah pada tubuh korban dan pada pakaian korban.

Bercak darah merupakan salah satu barang bukti tindakan pidana. Barang bukti tersebut dapat ditemukan pada objek – objek tertentu seperti lantai, meja, kursi, karpet, senjata dan pakaian. Barang bukti ini dapat di lakukan pemeriksaan di laboratorium forensik.[1] Pemeriksaan bercak darah merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium forensik. Karena darah sangat mudah menetes dan hampir semua tindakan kriminal, penyelidikan terhadap bercak darah ini sangat berguna untuk

mengungkapkan suatu tindakan kriminal.[2] Untuk dapat memperjelas bercak darah tersebut dibutuhkan pemeriksaan yang bertahap.

Pemeriksaan ini terdiri dari tes pendahuluan *(presumptive test)*, tes konfirmasi *(comfirmation test)*, dan tes spesifik dengan pemeriksaan DNA. Tes konfirmasi ini terdiri dari dua pemeriksaan yaitu tes Teichmann dan tes Takayama. Kedua tes ini dapat membantu membuktikan adanya pembentukan kristal hemoglobin. Kristal hemoglobin terbentuk karena adanya reaksi antara reagen dari tes Teichmann dan tes Takayama dengan gugus heme yang terdapat pada darah. Pada tes Teichmann akan terbentuk kristal yang berbentuk belah ketupat yang berwarna coklat yang disebut juga dengan kristal hemin dan pada tes Takayama terbentuk kristal berbentuk jarum disebut juga kristal hemokromogen yang dapat diidentifikasi dengan pemeriksaan mikroskop.[2,3]

Berbagai macam cara pelaku kejahatan untuk menghilangkan barang bukti berupa darah tersebut antara lain dengan membuang baju korban, mencuci baju korban, dengan tujuan untuk menghilangkan bercak darah tersebut. Salah satu zat kimia yang dapat mengkontaminasi bercak darah adalah zat pembersih rumah tangga yang berupa deterjen. Deterjen merupakan bahan kimia yang sering ditemukan pada kehidupan sehari-hari dan paling banyak digunakan, deterjen digunakan sebagai bahan pembersih karena mengandung surfaktan yang mampu membersihkan noda kotoran sehingga kotoran tersebut dapat larut dalam air.[4]

Pada penelitian yang dilakukan oleh Thomas *et al* menyimpulkan bahwa pada tes presumtif darah yang tersamarkan melalui pencucian menggunakan deterjen memberikan hasil visual yang baik dengan menggunakan reagen luminol. Adair, Rebecca dan Shaw (2005) melakukan penelitian tes presumtif pada bercak darah yang telah terpapar oleh deterjen yang terdapat pada pakaian apabila dilakukan pemeriksaan dengan reagen luminol memberikan hasil visual yang baik. [5]

Sampai saat ini peneliti belum menemukan penelitian yang menjelaskan mengenai gambaran kristal hemoglobin pada bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai gambaran kristal hemoglobin pada bercak darah yang terpapar oleh beberapa deterjen bubuk.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental yaitu suatu motede penelitian yang menggambarkan bentuk kristal hemoglobin yang tepapar oleh beberapa deterjen bubuk.

Penelitian ini terdiri dari sampel penelitian yaitu bercak darah yang terpapar oleh beberapa deterjen bubuk. Deterjen bubuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 7 merek dagang. Penelitian ini akan menggunakan cara perlakuan pemaparan deterjen bubuk terhadap bercak darah yaitu dengan cara dialirkan, kemudian masing-masing preparat yang telah terpapar akan dilakukan pemeriksaan Teichmann dan Takayama.

Preparat bercak darah yang dibuat untuk pemeriksaan Teichmann adalah sebanyak 7 buah dan yang akan dilakukan pemeriksaan Takayama sebanyak 7 buah. Penelitian laboratorik pemeriksaan minimal harus dilakukan secara duplo yang artinya dilakukan 2 kali pengulangan ada masing masing percobaan. Sehingga jumlah total preparat bercak darah yang didapatkan adalah sebanyak 28.

Pemeriksaan dengan metode Teichmann akan memberikan gambaran kristal yang berbentuk belah ketupat disebut dengan kristal hemin sedangkan pada pemeriksaan Takayama akan memberikan gambaran kristal berbentuk jarum yang disebut kristal hemokromogen.

a. Persiapan penelitian

1. Pembuatan slide bercak darah
   Sebanyak dua puluh delapan kaca objek dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan menggunakan tisu, kaca objek tersebut ditetesi sebanyak 0,1 ml darah yang berasal dari tabung EDTA yang diambil dengan pipet mikro *socorex* yang diteteskan secara tegak lurus dengan ketinggian 2 cm dan dikeringkan selama 1 jam pada suhu kamar (±25°C).
2. Reagen Teichmann
   Reagen Teichmann yang digunakan adalah natrium klorida dan asam asetat glasial.
3. Reagen Takayama
   Reagen Takayama mengandung 3 ml Pyridine + 3 ml larutan glukosa jenuh + 3 ml sodium hidroksida 10% + 7 ml Aquadest yang dicampur dan disiapkan dalam satu wadah.
4. Pengenceran deterjen bubuk
   Sebanyak 25 gram deterjen bubuk dilarutkan dengan 1 liter air yang diaduk homegen dengan menggunakan alat *vortex mixer* sampai campuran antara deterjen dan air tersebut homogen.

Cara pemaparan sampel bercak darah dengan larutan deterjen bubuk dilakukan dengan yaitu dengan cara sampel bercak darah dipegang menggunakan pemegang kayu dan sampel dimiringkan dengan kemiringan 45°, dialirkan dengan larutan deterjen A, B, C, D, E, F, dan G sebanyak 50 ml menggunakan buret dengan jarak antara buret dengan sampel kira-kira 2 cm kemudian dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan tes Teichmann dan tes Takayama.

b. **Metode Teichmann**

Prosedur pemeriksaan Teichmann sebelumnyaa telah dilakukan prapenelitian terlebih dahulu oleh peneliti untuk mendapatkan lama dan pemanasan yang baik untuk menghindari negatif palsu.

1. Sampel bercak darah yang telah dipapar dengan larutan deterjen bubuk diteteskan dengan 1 tetes natrium klorida dan 1 tetes asam asetat glasial kemudian ditutup gelas objek kemudian dipanaskan pada suhu 65°C selama 10-20 detik.
2. Kaca objek yang telah dipanaskan dibiarkan dingin kemudian dilakukan pemeriksaan dengan mikroskop pada perbesan 400 kali.
3. Adanya krristal hemin berbentuk belah ketupat memberikan hasil positif.

c. Metode Takayama

Selanjutnya melakukan prosedur pemeriksaan kristal

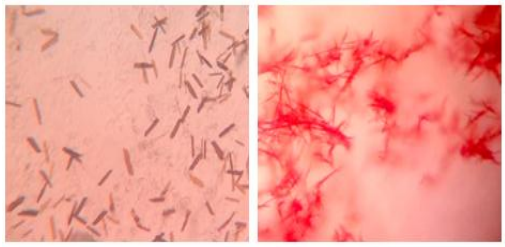
hemokromogen yang mengacu pada metode Takayama. Jarak dan lama pemanasan menggunakan metode Takayama telah dilakukan prapenelitian terlebih dahulu oleh peneliti untuk mendapatkan lama pemanasan dan jarak pemanasan yang baik untuk menghindari hasil negatif palsu.

1. Sampel darah yang telah dipaparkan dengan larutan deterjen bubuk diteteskan reagen Takayama pada objek glass sebanyak 1 tetes dan ditutup dengan dek glass kemudian objek glass dipanaskan pada suhu 65°C selama 10-20 detik.
2. Kaca objek yang dipanaskan dibiarkan dingin kemudian dilakukan pemerikaan dengan mikroskop pada perbesaran 400 kali.
3. Adanya kristal hemokromogen yang berbentuk jarum memberikan hasil positif.

Data didapat selama penelitian ini diolah dan dianalisis secara manual dalam bentuk tabel serta gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan kristal hemoglobin yang terpapar oleh deterjen bubuk akan mengacu pada preparat yang tidak terpapar dengan deterjen bubuk yang telah dilakukan pemeriksaan tes Teichmann dan tes Takayama (kontrol). Gambaran dari kristal hemoglobin yang menjadi kontrol pada penelitian ini dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 : Gambar kristal hemoglobin yang menjadi kontrol tes Teichmann (kiri) dan tes Takayama (kanan) gambar diambil dengan perbesar 400x dan diperbesar 50%.

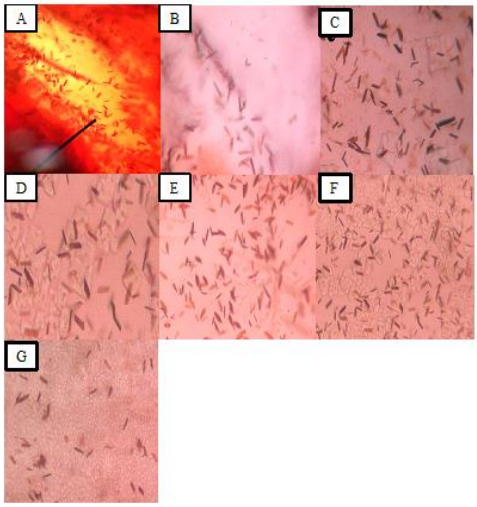
1.Kristal hemoglobin pada bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk menggunakan tes Teichmann

Hasil pemeriksaan bercak darah yang terpapar oleh beberapa deterjen bubuk menggunakan tes Teichmann dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil pemeriksaan bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk menggunakan metode pemeriksaan Teichmann

No	Cara pemaparan	Tes Teichmann	
		Positif (+)	Negatif (-)
1	Alir	7 (100%)	0 (0%)

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat dilihat bahwa hasil pemeriksaan bercak darah yang terpapar oleh beberapa deterjen bubuk dengan cara dialirkan dan dilakukan pemeriksaan menggunakan tes Teichmann memberikan hasil positif (+), yang artinya ditemukannya kristal hemin yang berbentuk belah ketupat berwarna coklat pada bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk. Gambaran dari kristal hemin tersebut ditemukan pada mikroskop dengan perbesaran 400 x yang dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 : Hasil pemeriksaan kristal hemin menggunakan tes Teichmann dengan cara dialirkan A. Deterjen bubuk A, B. deterjen bubuk B, C. Deterjen bubuk C, D. Deterjen bubuk D, E. Deterjen bubuk E, F. Deterjen bubuk F, G. Deterjen bubuk G.

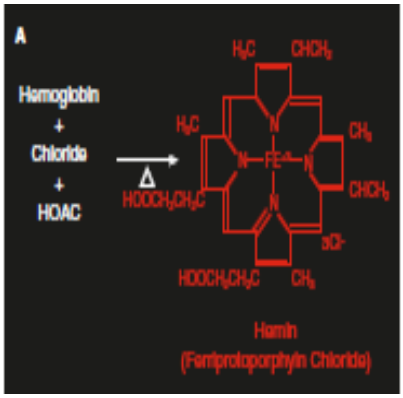
Tes Teichmann merupakan salah satu tes konfirmasi untuk memastikan bercak berwarna merah yang ditemukan pada TKP tersebut benar adalah darah.[12] Surfaktan merupakan bahan aktif didalam deterjen yang mampu membersihkan noda dan memiliki kemampuan untuk meningkatkan kotoran baik larut dalam air maupun larut dalam lemak.[18,19] Karena deterjen memiliki sifat hidrofilik dan lipofilik inilah pelaku kejahatan memanfaatkan deterjen sebagai bahan pembersih bercak darah yang terdapat di pakaian korban dan atau pelaku. Pada penelitian ini terdapat tujuh merek deterjen yang digunakan dan dilakukan secara *duplo*, pemaparan dengan cara dialirkan dengan larutan deterjen bubuk tidak mengakibatkan bercak darah pada slide menghilang.

Pengamatan yang dilakukan dibawah mikroskop menunjukkan hasil yang positif (+) pada semua percobaan yang dilakukan. Pada penelitian ini gambaran kristal hemin pada tes Teichmann masih berbentuk belah ketupat dan berwarna coklat. Hal ini menunjukkan bahwa bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk tes Teichmann masih memberikan hasil positif (+). Hasil positif dari penelitian pada tes Teichmann dikarenakan sulfaktan tidak merusak gugus heme dan reaksi pada tes Teichmann, surfaktan yang digunakan pada penelitian tidak memutuskan ikatan kimia antara *ferriprotoporphirin* dengan *choride* pada kristal hemin.[13]

Surfaktan memiliki kemampuan untuk mempengaruhi permeabilitas membran sel eritrosit sehingga mengakibatkan eritrosit mengalami lisis.[20-23] Apabila eritrosit mengalami lisis maka hemoglobin akan dikeluarkan akibatnya akan mempercepat terjadinya pembentukan kristal.[9]

Pemeriksaan Teichmann merupakan salah satu pemeriksaan konfirmatif yang menggunakan reagen asam asetat dan halida (klorida) yang akan membentuk kristal, pembentukan kristal ini kemungkinan karena elektron Fe merupakan senyawa yang mudah teroksidasi seingga akan berikatan dengan klorida dan membentuk ikatan kimia sehingga pada pemeriksaan mikroskopis tampak kristal hemin (Gambar 5.1). Ikatan yang mungkin terbentuk dari asam asetat glasial dan kloria saat berikatan dengan Fe yang teroksidasi adalah ikatan kovalen. Ikatan kovalen dapat terbentuk karena adanya pemakaian pasangan elektro secara bersama atom klorida dari reagen Teichmann dengan Fe yang terdapat pada heme. Ikatan yang terbentuk merupakan ikatan yang

kuat sehingga memerlukan reaksi kimia yang kuat pula untuk memisahkan atom dalam ikatan kovalen tersebut.[25]



Gambar 5.1 : Reaksi kimia pada pemeriksaan Teichmann

Ikatan kovalen dapat dipengaruhi oleh suhu yang dapat dikaitkan dengan natrium klorida yang digunakan dalam tes Teichmann yang mempunyai titik didih 1465°C untuk dapat memisahkan ikatan kovalen tersebut diperlukan energi panas lebih dai 1465°C.[25]

Penelitian yang dilakukan oleh Adair, Rebecca dan Shaw (2005) menggunakan tes presumtif luminol dan LCV pada bercak darah yang terpapar oleh deterjen masih menghasilkan hasil yang positif.[5] Penelitian yang dilakukan oleh Pangaribuan WN (2015) menggunakan tes Teichmann pada bercak darah yang terpapar oleh sabun krim dengan cara diusap masih memberikan hasil positif.[24]

Selain pemberian suhu, cara lain yang dapat digunakan untuk memutuskan suatu ikatan kimia adalah dengan penambahan biokatalis. Didalam deterjen terdapat enzim alkali protease, enzim ini berfungsi untuk menghidrolisis noda protein pada pakaian sehingga kotoran yang mengandung protein seperti darah akan mudah tercuci.[27] Pada penelitian yang dilakukan oleh Vasconcelos (2006) enzim yang terkandung didalam deterjen yang digunakan sebagai biokatalis dapat mendegradasi protein yang terdapat didalam darah sehingga dapat merusak ikatan hemoglobin.[27]

Pada penelitian ini menggunakan deterjen bubuk yang mengandung sulfaktan anionik sodium alkilbenzen sulfonat dan mengandung enzim alkali protease yang merupakan turunan dari enzim serin, didapatkan hasil positif pada penelitian ini menunjukkan bahwa surfaktan ini tidak mempengaruhi pembentukan kristal hemoglobin yang dikarenakan surfaktan hanya berpengaruh terhadap membran eritrosit namun tidak mempengaruhi gugus heme pada hemoglobin. Surfaktan juga tidak merusak ikatan kovalen pada gugus heme, kemungkinan surfaktan yang terkandung didalam deterjen hanya bekerja pada membran sel. Enzim yang terkandung didalam deterjen juga tidak mampu mendegradasi protein yang terdapat didalam darah sehingga tidak berpotensi untuk merusak ikatan hemoglobin. Penelitian ini kemungkinan akan memberikan hasil yang berbeda apabila kosentrasi deterjen yang digunakan lebih banyak dan cara pemaparan yang berbeda sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

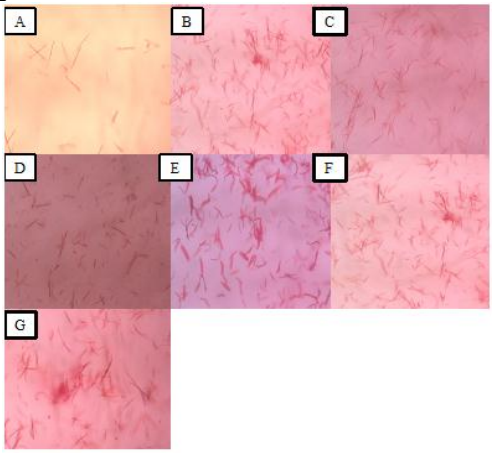
2 Kristal hemoglobin pada bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk menggunakan tes Takayama

Hasil pemeriksaan bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk menggunakan tes Takayama dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil pemeriksaan bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk menggunakan metode pemeriksaan Takayama

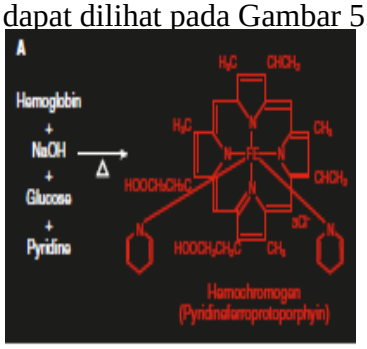
No	Cara pemaparan	Tes Teichmann	
		Positif (+)	Negatif (-)
1	Alir	7 (100%)	0 (0%)

Berdasarkan Tabel 4.2 didapatkan juga bahwa hasil pemeriksaan bercak darah dengan menggunakan pemeriksaan Takayama juga memberikan hasil positif (+). Pada pemeriksaan tes Takayama dikatakan positif (+) artinya ditemukannya kristal hemogromogen berbentuk jarum berwarna merah muda yang ditemukan pada mikroskop dengan perbesaran 400 x yang dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 : Hasil pemeriksaan kristal hemokromogen menggunakan tes Takayama dengan cara dialirkan A. Deterjen bubuk A, B. deterjen bubuk B, C. Deterjen bubuk C, D. Deterjen bubuk D, E. Deterjen bubuk E, F. Deterjen bubuk F, G. Deterjen bubuk G.

Tes Takayama merupakan salah satu tes konfirmatif yang menggunakan larutan piridin, air, glukosa, dan sodium hidroksida (NaOH) 10% yang digunakan sebagai reagen. Saat terjadi reaksi antara gugus heme dengan reagen Takayama akan terbentuk kristal berwarna merah jambu dan berbentuk seperti jarum.[13] ada penelitian ini bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk diteteskan dengan menggunakan reagen Takayama sebanyak satu tetes. Reaksi pembentukan kristal Takayama terjadi kemungkinan karena oksidasi Fe yang berikatan dengan NaOH, Glukosa dan piridin sehingga membentuk suatu ikatan kimia dan pada pemeriksaan mikroskopis akan terlihat seperti jarum yang disebut sebagai kristal hemokromogen. Reaksi pembentukan kristal hemokromogen dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 : Reaksi kimia pada tes Takayama

pada penelitian ini jenis dan jumlah deterjen bubuk yang digunakan dan prosedur pemaparan sama seperti yang dilakukan pada penelitian dengan menggunakan tes Teichmann. Pada penelitian ini didapatkan juga hasil positif pada semua perlakuan yang dilakukan. Gambaran mikroskopis yang didapatkan masih berwarna merah muda. Hasil dari penelitian menggunakan tes Takayama ini memperkuat kemungkinan kandungan surfaktan anionik yang terkandung didalam deterjen tidak merusak ikatan kovalen antara gugus

heme maupun ikatan kovalen saat heme berikatan dengan reagen. Surfaktan anionik dalam sabun detergen tidak berperan sebagai katalis dalam pembentukan kristal hemoglobin, dan enzim alkil protease juga tidak berperan sebagai biokatalis terhadap pembentukan kristal hemoglobin sehingga bercak darah yang terpapar oleh deterjen bubuk kemungkinan tidak mempengaruhi hasil dari tes Teichmann dan tes Takayama.

Hasil positif pada peneitian ini kemungkinan dikaitkan dengan cara pemaparan yang dilakukan pada kaca objek dan kosentrasi deterjen bubuk yang digunakan, hasil positif pada penelitian ini belum tentu memberikan hasil yang sama jika cara pemaparannya berbeda, lama pemaparan, kosentrasi deterjen yang digunakan dan tempat bercak darah menempel berbeda (misalnya pada pakaian) sehingga memerlukan penelitian lebih lanjut

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa, hasil pemeriksaan becak darah yang terpapar oleh beberapa deterjen bubuk dengan cara dialirkan pada pemeriksaan tes Teichmann masih memberikan gambaran kristal hemin yang berbentuk belah ketupat berwarna coklat dan hasil pemeriksaan bercak darah yang terpapar oleh beberapa deterjen bubuk dengan cara dialirkan pada pemeriksaan tes Takayama memberikan gambaran kristal hemokromogen yang berbentuk jarum berwarna merah muda. Bagi peneliti selanjutnya untuk menggunakan metode pencucian yang berbeda, meningkatkan lama waktu pemaparan bercak darah dengan deterjen bubuk, dan meningkatkan konsentrasi deterjen dan untuk peneliti selanjutnya dapat digunakan mikroskop yang dilengkapi dengan perangkat kamera.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Staff Laboratorium Biokimia dan Patalogi Anatomi FK UR, dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, bimbingan dan ilmu kepada Penulis serta kepada sukarelawan yang telah berpartisipasi dalam penelitian ini sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mun'im A. Pedoman ilmu kedokteran forensik. Edisi 1. Binarupa Aksara. Jakarta
2. Jonatan W , Allan J, Alan L, John D, Robr, David H. Practical skills in forensic science.2005. pg. 407-409
3. Idris AM, Tjiptomartono AL. Penerapan ilmu kedokteran forensik dalam proses penyidikan. Jakarta: Sagung Seto; 2011. Hal: 19-25.
4. Probowowati A. Giovanni PC. Ikhsan D. Pemanfaatan deterjen pada rumah tangga. Jurnal teknologi kimia Industri. vol.2. no.2. 2013 http://eprints.undip.ac.id/39209/1/14._artikel_84-90.pdf [diunduh pada tanggal 15 Mei 2014]
5. Thomas W, Adair TW, Rebbeca LS. Enhancement of Bloodstrains on Washed Clothing Using Luminol and LCV Reagents. IABPA News. 2005.
6. Shiler D. 2010. Hole's human anatomy and pshysiologininth.

Edition. New york : Mcgraw-Hill companies
7. Sherwood L. Fisiologi Manusia dari sel ke Sel. Edisi 6. Jakarta : EGC; 2011. Hal : 420-441
8. Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. Kapita selekta hematologi. Edisi revisi bahasa Indonesia. Edisi 4. Jakarta : EGC.2005
9. Guyton AC, Hall JE. Buku ajar fisiologi kedokteran. Edisi ke-2. Rachman LY, Hartono H, Novrianti A, Wulandari N, editor. Jakarta: ECG ; 2006. Pg. 439-537.
10. Murray RK, Grannek DK, Rodwell VW. Biokimia Herper. Edisi 27. Jakarta : EGC; 2009.hal 46-51
11. Maire ML, Champeil P, MØller JV. Interaction of membrane proteins and lipids with solubilizing detergent. Biochimica et biophysica acta. 2000; 1508: 86-111.
12. Sadikin. Biokimia darah. Jakarta. EGC. 2001; hal: 12-50.
13. James SH, Kish PE, Sutton TP. Principles of bloodstain pattern analysis: theory and practice. Boca raton/Singapore : Taylor & Francis Group; 2005. pg. 14-367.
14. Virkler K, Igork L. Analysis of fluids for forensic purposes from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. Forensic science International. 2009
15. Rober S. Presumptive testing and species determination of blood and bloodstains. IRC.Press.2005. pg. 361-365
16. Fatimah S. sintesis surfaktan digliserida dan monogliserida melalui reaksi gliserolisis metil kaprat. Jurnal kimia mulawarman vol. 8 no. 2 . 2011 http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._KIMIA/196802161994022-SOJA_SITI_FATIMAH/Kimia_industri/INDUSTRI_DETERJEN.pdf [diunduh pada tanggal 14 Mei 2014]
17. Riawan S. Kimia organik untuk mahasiswa kedokteran, kedokteran gigi, dan perawat. Binapura Aksara. Hal :186-191
18. Permono A. Membuat deterjen bubuk, skala kecil dan menengah. Jakarta : penebar swadaya. 2004
19. El-sadek BM. Synthesis, micellization, and hemolysis evaluation of biodegradable quartenary ammonium commpund. Adv. Appl. Sci. Res. 2011; 2 (3): 363-372. Available at www.pelagiaresearchlibrary.com. [Cited on january 2015]
20. Venkatesh B, et al. Surfactant-induced stabilization of four-coordinated heme in reconstitution hemoglobins. Proc. Indian acad. Sci. (Chem, Sci). 1999. August; Volume 111 (4): 547-554.
21. Chandler ME, Bateman J, Wood TG. Evaluation of the effect of surfactants on the blood-cleansing ability of sodium chloride solutions. J. Cosmet. Sci. 1998. March; 49: 101-113.
22. Pata V, Ahmed F, Discher DE, Dan N. Membrane solubilization by detergent: Resistance coferred by thickness. Langmuir. 2004; volume 20(10): 3888-93.
23. Casiday R, Frey R, Hemoglobin and the heme grup: Metal Complexes in the blood for oxygen transport inorganic synthesis experiment. USA.

Depertement of Chemistry Washington University. 2007.
24. Pangaribuan WN. Gambaran kristal hemoglobin pada bercak darah yang terpapar beberapa sabun krim menggunakan tes Teichmann dan tes Takayama. Pekanbaru. 2015
26. Sulistyo. Penerapan Teknologi Enzimatik Mikroba bagi Industri Pangan, Farmasi dan Kosmetik. Bogor. September 1999.
27. Vasconceles, Silva, Schroeder, Guebitz. Detergent Formulation for wool domestic washing containing immobilized enzymes. Springer Science. May 2006; pg: 725-31
25. Ali F, Maryam E. The disinfectant effects of benzalkonium chloride on some important foodborne pothogens. American-Eurasian Journal.