

Formulasi Sediaan Nanopartikel Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas Comosus* (L).(Merr) sebagai Antimikroba

(Nanoparticle Formulation of Pineapple Stem Extract (*Ananas Comosus* (L).(Merr) as Antimicrobial Agent)

DIAN ELEVENY MARTHA FLAREYANTI, FAHLENI, DENI RAHMAT*

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila
Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640

Diterima 13 Maret 2017, Disetujui 5 Juli 2017

Abstrak: Bonggol nanas (*Ananas comosus* (L).(Merr) mengandung enzim bromelin lebih tinggi dibandingkan bagian buahnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk memformulasi *creambath* antiketombe dari nanopartikel ekstrak bonggol nanas yang stabil secara fisika, kimia dan dapat menghambat pertumbuhan *Pityrosporum ovale*. Ekstrak bonggol nanas dibuat dalam bentuk nanopartikel dengan menggunakan kitosan dengan metode taut silang yang kemudian dikeringkan dengan metode *freeze drying*. Serbuk kering ekstrak ditentukan konsentrasi hambat minimumnya terhadap *Pityrosporum ovale*. Dibuat satu formula yang mengandung ekstrak bonggol nanas dengan konsentrasi 3% dan tiga formula yang mengandung nanopartikel ekstrak bonggol nanas dengan konsentrasi 1xKHM, 2xKHM dan 3xKHM. Tiap sediaan dilakukan uji mutu fisik antara lain organoleptik, homogenitas, viskositas dan sifat alir, uji daya sebar, serta mutu kimia yaitu pH dan diuji stabilitasnya selama satu bulan pada suhu 25 °C dan 40 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak bonggol nanas memiliki rata-rata ukuran partikel 860,03 nm dan zeta potensial 18,63 mV. *Creambath* terbaik adalah sediaan yang mengandung nanoekstrak 3XKHM dengan DDH 17 mm, memiliki organoleptik, homogenitas, viskositas dan sifat alir, dan pH yang stabil, serta memiliki kemampuan menyebar 4817,53 mm². Dengan demikian nanopartikel dalam *creambath* bisa meningkatkan aktivitas antimikroba dari bonggol nanas.

Kata kunci: bonggol nanas, *Ananas comosus* (L).Merr, nanopartikel, *creambath*, antiketombe.

Abstract: Pineapple stem contains bromelain enzyme with highest concentration compared to the other parts. The aim of the research was to formulate an anti dandruff creambath containing nanoparticles of pineapple stem which was physically and chemically stable and could inhibit the growth of *Pityrosporum ovale*. The pineapple stem extract was then formulated into nanoparticles prepared by cross-linking method using chitosan. The resulting nanoparticles were dried using freeze drying. The dried powder of extract was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) against *Pityrosporum ovale*. The zone of inhibition of extract and nanoparticles were measured at the MIC. The extracts were then formulated into anti dandruff creambath. The creambath in the concentration of 3% (MIC) whereas the nanoparticles were formulated in the concentration of 1, 2, 3 fold MIC. Each formula was evaluated for its physical characteristics including organoleptics, homogeneity, viscosity and flow properties, spread ability and for its chemical characteristic pH value. The stability was performed for one month at temperature of 25 °C and 40 °C. The results showed that the nanoparticles have particle size of 860.03 nm and zeta potensial of 18.63 mV. The best formula was formula IV with inhibitory zone of 17 mm, and had stable organoleptic properties, homogeneity, viscosity and flow properties, and pH value, as well as capability of spreading with diameter of 4817.53 mm. Accordingly the nanoparticles in creambath could increase the antimicrobial activity.

Keywords: pineapple stem, *Ananas comosus* (L).Merr, nanoparticles, creambath, antidandruff..

* Penulis korespondensi, Hp: 081573631681
e-mail: mangnden78@yahoo.com

PENDAHULUAN

RAMBUT memiliki fungsi proteksi terhadap faktor lingkungan yang merugikan, antara lain terhadap suhu dingin, panas dan ultraviolet. Rambut juga dapat berfungsi untuk menunjang penampilan setiap manusia sehingga dibutuhkan perlakuan khusus. Rambut tidak bisa dilepas dari suatu permasalahan, misalnya ketombe. Masalah rambut berketombe atau dalam bahasa medis *ptiriasis* banyak diderita oleh penduduk Indonesia yang beriklim tropis, suhu tinggi dan udara lembab. Penyakit ini lebih sering dialami oleh orang yang memiliki kulit kepala berminyak^(1,2). Ketombe adalah salah satu penumpukan sel kulit mati yang berlebihan dari kulit kepala tanpa adanya peradangan. Salah satu penyebab adanya ketombe adalah adanya mikroorganisme. Gejala ketombe yang umum adalah timbulnya sisik-sisik putih pada kulit kepala, dan rasa gatal^(2,3,4).

Pityrosporum ovale adalah spesies jamur yang berperan sebagai agen penyebab terjadinya ketombe. Sisik yang terbentuk pada kulit kepala akibat pengelupasan kulit kepala berlebihan menyebabkan rasa gatal dan infeksi yang disebabkan oleh *Pityrosporum ovale*. Pada penderita ketombe, jumlah dari *Pityrosporum ovale* pada kulit meningkat. Oleh karena itu pertumbuhan *Pityrosporum ovale* harus dihentikan dengan menggunakan senyawa antimikroba yang bisa dibuat dalam bentuk partikel berukuran nanometer supaya bisa melindungi stabilitas dan efektifitas^(3,6,7). Pada penelitian ini ekstrak bonggol nanas dibuat menjadi nanopartikel dalam bentuk sediaan *creambath* sehingga memungkinkan waktu kontak sediaan yang cukup lama di kulit kepala dengan tujuan untuk meningkatkan penetrasi dan memperpanjang waktu pelepasan zat aktif pada saat penggunaan.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). Bahan lainnya seperti jamur *Pityrosporum ovale*, setil alkohol, setriamonium klorida, gliserin, parafin cair, metil paraben, propil paraben, BHA, BHT, natrium metabisulfit, dan *aquadest*.

Alat. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, tangas air, gelas piala, timbangan elektrik, kertas saring, stirer, viskometer, mikroskop, pH meter, jarum ose, lampu spiritus, cawan petri, inkubator, serta alat gelas.

METODE. **Pembuatan Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr).** Bonggol

nanas yang sudah dibersihkan lalu dipotong kecil-kecil, ditambahkan dapar fosfat 0,1 M pH 7 yang dibuat dengan cara mencampurkan 50 mL kalium dihidrogenfosfat 0,2 M dengan 29,1 mL NaOH 0,2 N dan ditambahkan air bebas CO₂ hingga 200 mL. Campuran dihaluskan dengan cara diblender kemudian diperas dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Setelah itu, didapatkan filtrat yang mengandung ekstrak bonggol nanas.

Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Bonggol Nanas dengan Kitosan. Kitosan sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 100 mL asam asetat glasial 1% (v/v) dengan menggunakan magnetik stirer sehingga diperoleh larutan induk kitosan 1% (b/v). Larutan kitosan 1% (b/v) diambil 80 mL kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit 100 mL ekstrak bonggol nanas sambil diaduk dengan magnetik stirer selama 30 menit agar didapat suspensi nanopartikel ekstrak bonggol nanas yang stabil⁽⁸⁾.

Evaluasi Nanopartikel Ekstrak Bonggol Nanas. Pemeriksaan ukuran partikel dengan menggunakan alat *particle size*, pemeriksaan potensial zeta dengan menggunakan alat zeta sizer, pemeriksaan morfologi partikel dengan menggunakan alat *scanning electron microscope* (SEM)⁽⁸⁾.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak dan Nanopartikel Ekstrak Bonggol Nanas. Persiapan. Mikroba uji diremajakan pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB) dengan kerapatan 25%T. **Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum.** Uji KHM dilakukan dengan metode pengenceran seri *potato dextrose agar* cara tabung. Cara kerjanya sebagai berikut :

- 1) Dibuat 10 seri larutan pengenceran ekstrak masing-masing 3 mL.
- 2) Ditanam jamur uji *Pityrosporum ovale* yang telah diremajakan (umur 24 jam) dengan jumlah yang sama yaitu 3 mL.
- 3) Diinkubasi pada suhu 25 °C selama 2-5 hari.
- 4) Diamati pertumbuhan jamur uji pada masing-masing konsentrasi yang ditumbuhi jamur dan tanda negatif pada konsentrasi yang tidak ditumbuhi jamur.
- 5) Diperoleh konsentrasi terendah yang dapat menghambat jamur.
- 6) Konsentrasi terendah digunakan sebagai perhitungan dosis dalam formulasi *creambath* antiketombe⁽⁹⁾.

Uji Aktivitas Ekstrak dan Nanopartikel Ekstrak Bonggol Nanas secara *In vitro*. Pengujian aktivitas antimikroba dari serbuk kering nanopartikel bonggol nanas terhadap *Pityrosporum ovale* dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram. Dimasukkan suspensi bakteri 25%T sebanyak 100 µL dan 20 mL *potato dextrose agar* pada suhu 25 °C. Pembenuhan dihomogenkan dan dibiarkan

memadat pada suhu kamar selama 15-30 menit. Setelah memadat letakkan kertas cakram yang telah dijenuhkan dengan sediaan yang diuji. Kertas cakram steril kemudian ditetesi dengan larutan uji berbagai variasi konsentrasi sebanyak 10 µL kemudian didiamkan beberapa saat agar pelarutnya menguap setelah itu diletakkan diatas permukaan agar dan diinkubasi dalam keadaan posisi terbalik pada suhu 25 °C selama 48 jam. Aktivitas antimikroba diamati berdasarkan pengukuran diameter daerah hambat (DDH) atau daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram⁽⁹⁾.

Pembuatan Sediaan. Alat dan bahan disiapkan, natrium metabisulfit yang telah dilarutkan dimasukkan ke dalam nanopartikel ekstrak bonggol nanas, setrimonium klorida, setil alkohol, paraffin liquid dilebur dalam cawan penguap diatas tangas air pada suhu 70-80 °C, lalu ditambahkan butil hidroksianisol dan butil hidroksitoluen diaduk sampai larut dan homogen (komponen 1), metil paraben dan propil paraben masing-masing dilarutkan dalam gliserin, dicampurkan dan dipanaskan diatas tangas air pada suhu 70-80 °C (komponen 2), komponen 1 ditambahkan ke komponen 2, dalam suhu ±35 °C, diaduk sampai homogen dan dinginkan hingga suhu kamar, tambahkan nanopartikel ekstrak bonggol nanas kemudian diaduk hingga homogen⁽¹⁰⁾.

Evaluasi Sediaan Krim. Evaluasi Fisik : Organoleptik. *Creambath* yang dihasilkan diamati secara visual meliputi warna dan bau. **Homogenitas krim.** Krim dioleskan pada kaca objek lalu ditutup dengan kaca objek lain, amati apakah basis tersebut homogen dan permukaannya halus merata atau ada granul yang masih keras. **Pemeriksaan Tipe Krim.** Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode warna dengan mencampur basis krim dengan beberapa tetes metilen biru dan beberapa tetes sudan III pada

kaca objek. Amati hasilnya dibawah mikroskop. **Kemampuan Menyebar (*spreadability*).** Krim dioleskan pada cincin teflon berdiameter luar 55 mm dengan ketebalan 3 mm dan berdiameter dalam 15 mm beralaskan kaca. Bagian dalam cincin teflon dipenuhi dengan krim kemudian diratakan dengan spatula hingga didapatkan permukaan yang rata dan tanpa gelembung udara. Kemudian cincin teflon diangkat secara hati-hati sehingga didapat olesan krim dengan diameter 14 mm dengan ketebalan 3 mm. Krim tersebut kemudian ditutup dengan lempengan kaca yang mempunyai diameter 8 cm dengan berat 20 gram, kemudian ditekan dengan beban 200 gram dan diamkan selama 3 menit. Setelah itu diukur diameter dari permukaan krim yang melebar dengan jangka sorong mm. **Viskositas dan Sifat Alir.** Penentuan viskositas dilakukan dengan menggunakan Viskometer Brookfield tipe RV. **Pemeriksaan pH.** pH ditentukan dengan menggunakan pH meter (elektroda standar). Elektroda dicuci dan dibilas dengan larutan kalium biftalat kemudian ditentukan pH dari creambath.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi adanya kandungan enzim bromelain pada ekstrak bonggol nanas dilakukan dengan menggunakan uji biuret. Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggunakan CuSO₄ dimana jika terbentuk warna biru violet maka hasilnya positif. Uji biuret ini tidak memerlukan pemanasan karena pereaksinya adalah CuSO₄ yang akan membentuk kristal dan rusaknya ikatan peptida jika dipanaskan. Uji ini dilakukan untuk mendeteksi senyawa yang mengandung gugus amina asam (-CONH₂). Suatu peptida yang mempunyai dua buah ikatan peptida atau lebih dapat bereaksi dengan ion Cu²⁺ dalam suasana basa kemudian menghasilkan kompleks yang berwarna biru ungu⁽¹¹⁾.

Tabel 1. Pengamatan suspensi nanopartikel ekstrak bonggol nanas.

Parameter	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5
Warna	Coklat kekuningan	Coklat kekuningan	Coklat kekuningan	Coklat kekuningan	Coklat kekuningan
Kekeruhan	Tidak keruh	Tidak keruh	Tidak keruh	Tidak keruh	Tidak keruh
Endapan	Tidak ada				

Tabel 2. Hasil uji pemeriksaan ukuran partikel.

Pengujian	Rata-Rata Diameter Partikel (nm)	Standard Deviasi
1	861,4	161,0
2	905,3	105,5
3	813,4	144,2
Rata-rata	860,03	

Tabel 3. Hasil uji potensial zeta.

Pengujian	Zeta Potensial (mV)
1	18,63
2	18,63
Rata-rata	18,63

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik serbuk nanopartikel

Jenis Ekstrak	Warna	Bau	Rasa	Sifat Serbuk
Nanopartikel Ekstrak Bonggol Nanas	Coklat kekuningan	Khas asam	Manis	Halus, kering
Ekstrak Bonggol Nanas	Coklat tua	Khas asam	Manis	Halus, Kering

Tabel 5. Hasil pengamatan konsentrasi hambat minimum.

No.	Konsentrasi (%)	Hasil
1.	10	-
2.	9	-
3.	8	-
4.	7	-
5.	6	-
6.	5	-
7.	4	-
8.	3	-
9.	2	+
10.	1	+

Keterangan :

+ : adanya pertumbuhan bakteri

- : tidak terjadi pertumbuhan bakteri

Suspensi nanopartikel yang baru terbentuk diaduk selama 30 menit agar didapat suspensi nanopartikel ekstrak bonggol nanas yang stabil. Waktu inkubasi tersebut memberikan waktu bagi proses *cross linking* yang baik. Setelah nanopartikel terbentuk maka diamati kestabilan selama 5 hari berupa warna, kekeruhan dan endapan. Hasil menunjukkan tidak adanya perubahan. Hal ini menunjukkan bahwa *cross linking* cukup kuat⁽⁸⁾. Data hasil uji pemeriksaan pada suspensi ekstrak bonggol nanas menunjukkan bahwa ukuran partikelnya adalah 860,03 nm sehingga suspensi yang terbentuk adalah nanopartikel. Kehomogenan distribusi ukuran partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas. Rentang indeks polidispersitas berada antara 0 sampai dengan 1⁽⁸⁾. Nilai indeks polidispersitas mendekati 0 menunjukkan dispersi yang homogen. Sedangkan indeks polidispersitas dengan nilai lebih dari 0,5 menunjukkan heterogenitas yang tinggi. Hasil dari nanopartikel ekstrak bonggol nanas menunjukkan indeks polidispersitas sebesar 0,228; 0,258; 0,221 sehingga nanopartikel ekstrak bonggol nanas menunjukkan distribusi ukuran partikel yang homogen.

Muatan permukaan nanopartikel yang terbentuk ditunjukkan dengan nilai zeta potensial yang menjauhi

Tabel 6. Hasil Uji Diameter Daerah Hambat (DDH) Ekstrak dan Nanopartikel Ekstrak Bonggol Nanas pada Konsentrasi 3%

No.	Kertas Cakram	DDH Ekstrak Bonggol Nanas 3%	DDH Nanopartikel Ekstrak Bonggol Nanas 3%
1.	1	11	13,75
2.	2	11,25	13,55
3.	3	11,75	13,80
4.	4	10,25	14
Rata-rata		11,06 ±0,63	13,78±0,19

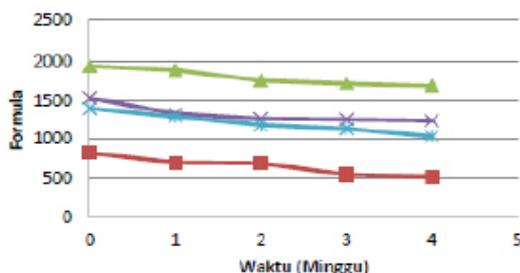
nilai 0 (dapat bernilai positif ataupun negatif), karena semakin mendekati 0 maka partikel yang terbentuk memiliki gaya tarik menarik partikel lebih besar dan dapat mengakibatkan agregasi. Zeta potensial nanopartikel yang dihasilkan memiliki nilai rata-rata +18,63 mV sehingga nanopartikel yang dihasilkan cukup stabil. Semakin besar tolak menolak antar partikel maka semakin kecil kemungkinan partikel bergabung dan membentuk agregat⁽⁸⁾.

Berdasarkan data hasil pemeriksaan organoleptik serbuk kering hasil *freeze drying* ekstrak bonggol nanas dan nanopartikel ekstrak bonggol nanas memiliki hasil yang berbeda karena adanya penambahan kitosan pada nanopartikel ekstrak bonggol nanas.

Konsentrasi Hambat Minimum digunakan untuk menentukan dosis ekstrak bonggol nanas secara kualitatif. Dibuat seri pengenceran kaldu pepton dengan 10 konsentrasi yang berbeda dan diinkubasi pada suhu 25 °C selama 2-5 hari. Dari hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 10, 9, 7, 5, 4 dan 3 diperoleh hasil (-) yang artinya tidak terjadi pertumbuhan jamur. Sehingga Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak bonggol nanas terhadap jamur *Pityrosporum ovale* adalah 3%. Berdasarkan data diameter daya hambat (DDH) ekstrak dan nanopartikel ekstrak bonggol nanas dapat dilihat bahwa nanopartikel ekstrak bonggol nanas menghasilkan zona hambat yang lebih besar yaitu 13,78 mm dibandingkan dengan ekstrak bonggol nanas 11,06 mm.

Tabel 7. Formula *creambath*.

Formula	Bobot (% b/v)				
	Blanko	FI	FII	FIII	FIV
Ekstrak bonggol nanas	-	1xKHM			
Nanopartikel ekstrak bonggol nanas	-	-	1xKHM	2xKHM	3xKHM
Setrimonium klorida	3	3	3	3	3
Setil alkohol	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Parafin liquidum	5	5	5	5	5
Gliserin	2	2	2	2	2
BHA	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
BHT	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Natrium metabisulfit	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Metil paraben	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Propil paraben	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Air ad	100	100	100	100	100



Gambar 1. Grafik hubungan viskositas terhadap waktu pada penyimpanan suhu 40 °C.

Keterangan :

- formula I
- formula II
- formula III
- formula IV

Hasil pengamatan tipe emulsi yang dilakukan pada *creambath* ekstrak bonggol nanas dapat ditunjukkan bahwa pada formula blangko, formula I, II, III, dan IV mempunyai tipe M/A, dimana dengan penambahan sudan III diperoleh fase luar yang tidak berwarna dan tetesan tetesan cairan yang merupakan fase dalam berwarna merah. Pada formulasi *creambath* ekstrak bonggol nanas, penambahan ekstrak bonggol nanas yang semakin meningkat tidak mempengaruhi tipe krim. Akan tetapi, semakin besar konsentrasi ekstrak bonggol nanas maka semakin kecil viskositas *creambath* dengan sifat alir plastis.

Berdasarkan hasil evaluasi kemampuan menyebar, didapatkan hasil kemampuan menyebar formula blangko dan formula I-IV berturut-turut adalah 3344,42 mm², 3354,16 mm², 3680,55 mm², 4430,63 mm², 4817,53 mm². Sehingga kemampuan menyebar semakin besar dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak bonggol nanas.

Berdasarkan data uji DDH sediaan *creambath* dapat dilihat bahwa terdapat peningkatan aktivitas antimikroba pada formula ekstrak bonggol nanas dimana pada saat sebelum formulasi didapatkan DDH 11,0625 mm dan meningkat menjadi 14,025 mm setelah diformulasi. Begitupun pada formula nanopartikel ekstrak bonggol nanas didapatkan DDH 13,55 mm menjadi 16,075 mm, 13,80 mm menjadi 17 mm, dan 14 mm menjadi 19,39 mm. Pada blangko tidak terdapat adanya zona hambat jamur karena pada blangko tidak mengandung ekstrak ataupun nanopartikel ekstrak bonggol nanas.

Nilai pH selama satu bulan penyimpanan pada suhu kamar dan suhu 40 °C *creambath* antar formula blangko, I, II, III, dan IV memiliki kisaran 3,67-5,09. Penurunan pH pada suhu 40 °C. Pada penyimpanan suhu 40 °C formula I sampai formula IV dan formula blangko mengalami perubahan warna menjadi lebih pekat dan wangi khas asam yang menurun (lemah) di minggu ke-3 dibandingkan dengan penyimpanan suhu

kamar. Hal ini disebabkan karena adanya peningkatan suhu yang dapat mempercepat terjadinya reaksi oksidasi dari *creambath*. Hasil pengukuran viskositas *creambath* selama satu bulan penyimpanan pada suhu kamar menunjukkan adanya penurunan viskositas. Pada suhu 40 °C selama penyimpanan satu bulan viskositasnya berubah pula.

SIMPULAN

1. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak bonggol nanas 3% dengan Diameter Daerah Hambat (DDH) rata-rata sebesar 11,06±0,63 mm.
2. Diameter Daerah Hambat (DDH) nanopartikel ekstrak bonggol nanas rata-rata sebesar 13,78±0,19 mm.
3. Formulasi *creambath* dari ekstrak bonggol nanas stabil secara fisika dan kimia dengan Diameter Daerah Hambat terhadap *Pityrosporum ovale* sebesar 14,03±0,60 mm.
4. Formulasi *creambath* dari nanopartikel ekstrak bonggol nanas dimana Diameter Daerah Hambat formula II-formula IV terhadap *Pityrosporum ovale* berturut-turut sebesar 16,08±0,25 mm, 17±0,21 mm, dan 19,39±0,52 mm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Harahap M, editor. Ilmu penyakit kulit. Cetakan I. Jakarta: Hipokrates; 2000. 159-63.
2. Azis Sriana, S R Muktiningsih. Studi kegunaan sediaan rambut. Jakarta: Media Litbangkes Volume IX Nomor 2;1999.
3. Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. Anti ketombe. Majalah POM (serial online). 2009. 4.
4. Rahmadani. Pengaruh pemanfaatan jeruk nipis terhadap penyembuhan ketombe kering di kulit kepala. Padang: Fakultas Teknik Universitas Negeri Padang; 2012.
5. Dalimartha S. Atlas tumbuhan obat Indonesia. Jilid 2. Jakarta: Trubus Agriwijaya; 1999. 140-5.
6. Wijaya Loretha. Pengaruh jumlah *Pityrosporum ovale* dan kadar sebum terhadap kejadian ketombe. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2001.
7. Kurnianto Aditty. Perbandingan efektivitas ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) 100%, zinc pyrithone 1% dan ketokonazol 1% secara *in vitro* terhadap pertumbuhan *Pityrosporum ovale*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2008.
8. Rahayu A. Formulasi tablet dari nanopartikel ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Ness) dengan metode cetak langsung. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2014.

9. Arini Melinda. Pengaruh ekstrak etanol 70% daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap pertumbuhan mikroba penyebab ketombe kulit kepala. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2012
10. Nurhanifia Dyah. Formulasi sediaan creambath penyubur rambut dari campuran ekstrak daun teh (*Camellia sinensis* L.) dan ekstrak daun mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.). Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2013.
11. Sudarmadji. Analisa bahan makanan dan pertanian. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta. 1996.