

Formulasi Sampo Anti Ketombe yang Mengandung *Tea Tree Oil* dan Pengujian Aktivitas Sediaan Terhadap *Malassezia furfur*

*Jessie S. Pamudji, Marlia Singgih Wibowo, Angelia

Kelompok Keilmuan Farmasetika, Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132

Abstrak

Ketombe adalah salah satu masalah kulit kepala yang umum ditemukan yang disebabkan oleh jamur seperti *Malassezia furfur*. *Tea tree oil* telah diketahui memiliki aktivitas anti jamur terhadap *M. furfur*. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan *tea tree oil* sebagai zat aktif dalam sampo anti ketombe. Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) *tea tree oil* dilakukan dengan metode pengenceran agar terhadap *M. furfur*. Optimasi sediaan dilakukan dengan berbagai konsentrasi natrium lauril sulfat dan setosteril alkohol sebagai surfaktan serta propilen glikol dan gliserin sebagai humektan. Evaluasi sediaan meliputi uji tinggi dan kestabilan busa; uji tegangan permukaan; pemeriksaan organoleptik; viskositas; pH. Sedangkan pengujian stabilitas fisik sampo dilakukan dengan metode *freeze-thaw*, sentrifugasi, dan uji dipercepat menggunakan *climatic chamber* pada 40°C, 75% RH. Uji aktivitas anti jamur sampo terhadap *M. furfur* juga dilakukan. Nilai KHM untuk *tea tree oil* adalah 3,5% b/v terhadap 2×10^3 CFU/mL *M. furfur*. Sediaan yang dihasilkan memiliki tinggi busa $206,67 \pm 5,51$ mm dalam air suling dan $150,00 \pm 7,33$ mm dalam air sadah 600 ppm, viskositas $66,7 \pm 11,95$ cPs, serta pH $8,18 \pm 0,36$. Sediaan tidak mengalami pemisahan fasa selama uji stabilitas fisik namun terjadi perubahan warna menjadi kuning, mulai siklus kedua pada *freeze-thaw* dan setelah tujuh hari penyimpanan pada *climatic chamber*. Warna ini semakin pekat sejalan dengan waktu evaluasi, namun tidak mempengaruhi aktivitas anti jamur dari sediaan sampo. Sampo anti ketombe yang dikembangkan dengan formula yang terdiri dari 15% *tea tree oil*, 15% natrium lauril sulfat, 2% setostearil alkohol, dan 10% propilen glikol, terbukti memiliki aktivitas terhadap *M. furfur*.

Kata kunci: sampo anti ketombe, *tea tree oil*, *Malassezia furfur*

Abstract

Dandruff is a common scalp disorder caused by fungi such as *Malassezia furfur*. Tea tree oil is well known for its antifungal activity against *M. furfur*. This study aimed to formulate tea tree oil as an active ingredient for anti-dandruff shampoo. Determination of minimum inhibition concentration (MIC) of tea tree oil was performed using agar dilution method against *M. furfur*. Optimization of formula was conducted using various combinations of sodium lauryl sulphate and cetearyl alcohol as surfactant, and propylene glycol and glycerin as humectant. The shampoo was evaluated for its foam height and foam stability; surface tension; organoleptic appearance; viscosity; pH. While the physical stability of shampoo was evaluated using freeze-thaw and centrifugation methods, and also accelerated stability test method using climatic chamber at 40°C, 75% RH. The activity of anti-dandruff against *M. furfur* was also conducted. The MIC of tea tree oil was 3.5% b/v against 2×10^3 CFU/mL of *M. furfur*. The product had 206.67 ± 5.51 mm of foam in distilled water and 150.00 ± 7.33 mm of foam in 600 ppm of hard water, viscosity about 66.7 ± 11.95 cPs and pH 8.18 ± 0.36 . There was no phase separation occurred on the product during evaluation of physical stability, but yellow colour appeared after second cycle at freeze-thaw and after one week storage at climatic chamber. This colour became darker during evaluation time, but it did not affect the antifungal activity of shampoo. Anti-dandruff shampoo that was formulated by 15% of tea tree oil, 15% of sodium lauryl sulphate, 2% of cetearyl alcohol, and 10% of propylene glycol, was proved to be effective against *M. furfur*.

Keywords: anti dandruff shampoo, tea tree oil, *Malassezia furfur*

Pendahuluan

Rambut merupakan bagian dari tubuh yang berfungsi untuk meningkatkan penampilan secara visual baik untuk pria maupun wanita. Karena itu, rambut harus selalu dijaga kebersihan dan kesehatannya. Seperti bagian tubuh yang lain, rambut juga memiliki masalahnya sendiri. Salah satu masalah rambut yang dapat mengganggu penampilan dan keindahan rambut adalah ketombe.

Ketombe, yang memiliki nama ilmiah *Pityriasis capitis*, adalah hasil pengelupasan kulit mati berlebihan di kulit kepala. Proses ini merupakan proses yang alami, bila terjadi dalam jumlah kecil. Namun proses ini dapat terjadi secara berlebihan dan diikuti dengan kemerahan dan iritasi sehingga menghasilkan ketombe. Hal ini dapat terjadi salah satunya disebabkan oleh infeksi jamur. Jamur *Malassezia furfur* adalah jamur yang ditemukan diseluruh permukaan tubuh sebagai anggota dari flora normal kulit pada lebih dari 90% orang dewasa. *M.*

* Penulis korespondensi, e-mail: jessie@fa.itb.ac.id

furfur merupakan jamur oportunistis yang bila mengalami pertumbuhan secara berlebihan dapat menyebabkan terjadinya ketombe (Agarwal et al. 2009). *M. furfur* memiliki dua bentuk dalam fase pertumbuhannya yaitu kapang, penyebab *pityriasis versicolor*, dan ragi, penyebab ketombe. Dahulu, kedua bentuk ini dikenal dengan nama yang berbeda, yaitu *M. furfur* untuk kapang dan *Pityrosporum ovale* untuk ragi, sebelum akhirnya dibuktikan identik secara mikroskopik pada tahun 1977 dengan nama *M. furfur*. Pada kulit manusia, fase ragi lebih dominan (Ingham dan Cunningham 1993).

Salah satu cara mengobati ketombe adalah dengan cara menurunkan jumlah *M. furfur* dengan menggunakan senyawa yang memiliki aktivitas anti jamur, seperti *tea tree oil* (Hammer et al. 1997; Halcondan Milkus 2004). *Tea tree oil* mengandung beberapa senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba seperti *terpinen-4-ol*, *γ-terpinene*, *α-terpinene* dan *1,8-cineole*, namun aktivitas *terpinen-4-ol* paling signifikan karena jumlahnya yang banyak (Carson et al. 2006).

Pengembangan formula sampo yang mengandung *tea tree oil* ini diharapkan dapat diterima dengan baik di masyarakat karena sekarang ini, masyarakat cenderung lebih menyukai sediaan dengan bahan yang berasal dari alam. *Tea tree oil* telah sering digunakan sebagai zat aktif dari berbagai sediaan di bidang kesehatan, salah satunya sebagai anti jerawat. Penelitian ini ditujukan untuk mengembangkan formula sediaan sampo yang mengandung zat aktif *tea tree oil* sebagai sampo anti ketombe, serta melakukan pengujian aktivitas anti jamur sediaan tersebut terhadap *M. furfur*.

Percobaan

Bahan

Tea tree oil (PT. Gondowangi Tradisional Kosmetika), gliserin, propilen glikol, setostearil alkohol, natrium lauril sulfat, propil paraben, metil paraben, Na₂EDTA, BHA, NaCl, Tween 80 minyak zaitun dibeli dari PT Bratachem, *Sabouraud Dextrose Agar* dan *Sabouraud Dextrose Broth* (Oxoid) dibeli dari PT global Scientific.

Alat

Mikroskop, timbangan elektronik (Sartorius), piknometer, Stirer (IKA® RW 20 Digital), viskosimeter (Brookfield tipe DV-II + digital), pHmeter (Beckman® 50), sentrifuga (Hettich EBA 8S), *climatic chamber* (Hotpack model 317322), oven (WTB Binder, 40°C), lemari pendingin (4°C), alat pengukur tinggi busa (Ross-Miles), spektrofotometer

(Beckman), Tensiometer duNuoy, otoklaf, dan peralatan gelas di laboratorium.

Mikroorganisme Uji

Malassezia furfur yang didapat dari PT. Bio Farma ini diidentifikasi dengan cara ditanam dalam media SDA yang ditambahkan minyak zaitun 1% dan diinkubasi selama 84 jam. Bentuk jamur yang tumbuh diidentifikasi berdasarkan surat keterangan dari PT. Bio Farma.

Pengujian Aktivitas Anti jamur *Tea Tree Oil*

Pengujian aktivitas anti jamur *tea tree oil* dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran agar terhadap *M. furfur*. Media padat dibuat dengan cara melarutkan SDA dalam aquadest dan dipanaskan hingga larutan menjadi bening. Ke dalam larutan tersebut, ditambahkan 1% minyak zaitun. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam botol media dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Lalu dituang ke dalam wadah media pembiakan dan dibiarkan dingin serta memadat. Sementara itu Koloni jamur dipelihara pada media SDA yang ditambah dengan minyak zaitun 1% dan disimpan pada suhu 8°C.

Pembuatan Kurva Tumbuh *M. furfur*

M. furfur diinokulasikan pada media SDB yang ditambahkan minyak zaitun 1% dan ditaruh dalam suhu ruangan selama 5 hari. Jamur diambil setiap rentang 24 jam dari awal masa inkubasi untuk dihitung transmisinya. Dibuat pengenceran jamur kemudian jamur hasil pengenceran dimasukkan ke dalam SDA yang ditambahkan minyak zaitun 1% dan diinkubasi pada suhu ruangan. Setelah 72 jam, jumlah koloni jamur yang tumbuh dihitung dan dibuat kurva pertumbuhannya.

Pembuatan Suspensi Mikroba

Inokulasi jamur dibuat suspensi dalam SDB steril yang ditambahkan minyak zaitun 1%. Suspensi diinkubasi pada suhu 25°C selama 84 jam, kemudian divortex selama 3-4 detik dan diencerkan dengan SDB steril sehingga kekeruhannya mencapai transmitansi antara 70-90% pada panjang gelombang 540 nm, untuk mendapatkan suspensi jamur 2×10^3 CFU/mL (Hanson 1989).

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum *Tea Tree Oil*

Sebanyak 200 µL *tea tree oil*, dengan konsentrasi 5; 4; 3,5; 3; 2,5; 1; 0,5 dan 0,1% b/v dalam aquades yang mengandung 1% Tween 80, dicampur ke dalam tabung reaksi dengan 1,8 mL media agar SDA steril yang ditambahkan minyak zaitun 1%. Campuran dikocok agar homogen dan dibiarkan memadat. Lalu digoreskan dengan dua jarum ose dari suspensi

mikroba dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 72 jam. Pertumbuhan jamur yang terjadi diamati untuk kemudian ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang diperlukan sebagai dasar pertimbangan konsentrasi *tea tree oil* dalam sediaan sampo.

Penentuan Kekuatan Antibiotik Berbanding KHM Tea Tree Oil

Kekuatan *tea tree oil* sebagai anti jamur dibandingkan dengan antibiotik yang juga memiliki aktivitas anti jamur, seperti mikonazol. Sebanyak 200mg mikonazol yang dilarutkan dalam etanol p.a dan kemudian diencerkan dengan aquades untuk mendapatkan konsentrasi 50; 40; 30; 20; dan 10 ppm. Kemudian dilakukan metode yang sama seperti penentuan KHM *tea tree oil*.

Formulasi Sediaan

Untuk mendapatkan formulasi sediaan sampo yang baik dilakukan optimasi jumlah natrium lauril sulfat, setosteril alkohol sebagai surfaktandan pemilihan jenis humektan.

Optimasi Jumlah Natrium Lauril Sulfat

Formula sampo dibuat dengan menggunakan 15% *tea tree oil* b/v, 10% b/v propilen glikol, 3% b/v setosteril alkohol, 0,01% b/v BHA, 0,1% b/v Na₂EDTA, 0,18% b/v metil paraben dan 0,02% b/v propil paraben serta natrium lauril sulfat dengan jumlah yang bervariasi, yaitu 10, 15, dan 20% b/v. Setostearil alkohol dan BHA ditambahkan ke dalam *tea tree oil*, sedangkan sejumlah natrium lauril sulfat, propilen glikol, Na₂EDTA, metil paraben, dan propil paraben ditambahkan ke fasa air. Kedua fasa dipanaskan di atas penangas air sampai temperatur 50-55°C, kemudian dicampur dan dilakukan pengadukan dengan kecepatan 300 rpm selama 10 menit. Kestabilan fisik formula diamati berdasarkan pengukuran tinggi sedimentasi (Hu/Ho) dan juga, pH, tegangan permukaan serta evaluasi tinggi dan kestabilan busa.

Optimasi Jumlah Setosteril Alkohol

Formula dibuat dengan menggunakan formula yang seperti di atas dengan konsentrasi natrium lauril sulfat 15% dan jumlah setostearil alkohol yang bervariasi, yaitu 1, 2, 3, 4, dan 5% b/v. Prosedur pembuatan dilakukan seperti prosedur pada optimasi jumlah natrium lauril sulfat.

Optimasi Jenis Humektan

Formula dibuat dengan menggunakan formula seperti di atas dengan konsentrasi natrium lauril sulfat 15% b/v dan setosteril alkohol 2% b/v. Humektan yang digunakan 10% b/v propilen glikol dan 10% b/v gliserin. Prosedur pembuatan dilakukan seperti prosedur pada optimasi jumlah natrium lauril sulfat.

Evaluasi Hasil Optimasi

Evaluasi sampo yang dilakukan adalah pengukuran Hv/Ho, pengukuran tinggi dan kestabilan busa, pengukuran tegangan permukaan, dan pengukuran pH sampo.

Pengukuran Hv/Ho

Sediaan dibuat sebanyak 50 mL dan dimasukkan ke dalam tabung sedimentasi. Kestabilan sediaan diamati dan diukur pada hari ke 0, 1, 2, 3, dan 7.

Pengukuran Tinggi Busa dan Kestabilan Busa

Sediaan diencerkan 100 kali kemudian diukur tinggi busanya menggunakan uji Ross-Miles. Sebanyak 200 mL sediaan dimasukkan ke dalam labu ukur yang berada pada bagian atas alat, dan 50 mL sediaan diletakkan pada pipa yang berada pada bagian bawah alat. Keran labu dibuka sehingga sediaan akan mengalir turun dan membentuk busa. Busa yang terbentuk diukur dan diukur kembali 5 menit berikutnya untuk melihat kestabilan busa. Pengukuran ini dilakukan triplo menggunakan dua jenis media pengenceran, yaitu air suling dan air sadah yang mengandung 600 ppm CaCl₂ (Kusumaet al.2009).

Pengukuran pH dan Tegangan Permukaan

Pengukuran pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter Beckman. Sedangkan pengukuran tegangan permukaan terhadap larutan sampo 1% menggunakan Tensiometer duNuoy.

Pembuatan Sediaan Sampo

Dari hasil optimasi yang dilakukan, diperoleh formula akhir yang digunakan adalah sejumlah 2 g setostearil alkohol dan 10 mg BHA ditambahkan ke dalam fasa minyak yang berupa 15 g *tea tree oil*, sedangkan sejumlah 15 g natrium lauril sulfat, 10 g propilen glikol, 100 mg Na₂EDTA, 180 mg metil paraben, dan 20 mg propil paraben ditambahkan ke fasa air. Kedua fasa dipanaskan di atas penangas air sampai temperatur 50-55°C, kemudian kedua fasa dicampur dan dilakukan pengadukan dengan kecepatan 300 rpm selama 10 menit. Sediaan sampo dibuat sebanyak tiga betas.

Evaluasi Sediaan Akhir

Formula sediaan akhir dievaluasi untuk diamati kestabilan fisiknya, selain itu, juga dilakukan evaluasi sediaan yang dilakukan meliputi evaluasi organoleptik, pH, viskositas, dan aktivitas antimikroba yang diamati selama periode waktu tertentu.

Uji Kestabilan Fisik

Untuk menguji kestabilan fisik sediaan digunakan metode sentrifugasi, metode *freeze-thaw*, dan uji dipercepat.

Metode Sentrifugasi

Sediaan sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam tabung sentrifuga lalu disentrifuga dengan kecepatan 3750 rpm selama lima jam dengan interval waktu pengamatan setiap satu jam. Diamati pemisahan fasa minyak dan fasa air yang terjadi setiap interval waktu 1 jam pengamatan (Lachman 1976)

Metode Freeze-Thaw

Sediaan sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam vial. Formula disiapkan sebanyak tiga betas masing-masing tiga belas vial. Satu vial akan digunakan sebagai kontrol dan disimpan pada suhu 25°C sedangkan dua belas vial lainnya digunakan dalam siklus *freeze-thaw* untuk disimpan di dalam suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 48 jam, siklus ini dihitung sebagai satu siklus. Setelah itu dilanjutkan sampai siklus keenam. Setiap setengah siklus, dikeluarkan satu vial untuk tiap formula dan diamati perubahan fisik yang terjadi.

Uji Dipercepat

Sebanyak delapan botol vial berisi 15 mL sediaan disimpan dalam *climatic chamber* pada suhu 40°C dan kelembaban relatif 75%. Setiap satu minggu satu botol dikeluarkan dan diamati pemisahan fasa, viskositas, pH, dan uji aktivitas anti jamur dari sediaan.

Pengamatan Organoleptik

Pengamatan organoleptik meliputi bau, warna, dan pertumbuhan jamur.

Uji Viskositas dan pH

Pengukuran viskositas sediaan dilakukan dengan alat viskometer Brookfield, menggunakan spindle 28 dan putaran 20 rpm. Sediaan diukur pH nya dengan pH meter Beckman. Pengamatan dilakukan setiap minggu.

Pengujian Aktivitas Anti Jamur Sampo Tea Tree Oil

Sediaan sampo, yang diambil dari *climatic chamber* setiap minggu, diuji aktivitasnya terhadap jamur *M. furfur* dengan metode pengenceran agar seperti pada penentuan nilai KHM.

Hasil Percobaan dan Pembahasan

Jamur yang ditanam pada media SDA yang ditambahkan minyak zaitun 1% tumbuh dengan warna kuning krem dan mengerut sejalan dengan pertumbuhannya seperti terlihat pada gambar 1. Hal ini sesuai dengan karakter dari *Malassezia furfur* sehingga jamur tersebut dapat diidentifikasi sebagai *M. furfur*.

Kurva pertumbuhan dibuat untuk menentukan fasa log dari *M. furfur*, yang merupakan fasa pertumbuhan jamur yang maksimal. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa kematian jamur murni terjadi karena zat aktif yang digunakan. Kurva pertumbuhan menyatakan bahwa fasa pertumbuhan *M. furfur* maksimal pada jam ke-84.



(tampak atas)



(tampak bawah)

Gambar 1. Karakteristik *Malassezia furfur*

Metode penentuan KHM dilakukan dengan metode pengenceran agar. Metode ini memiliki keunggulan karena zat uji sudah langsung dicampur ke dalam agar. Namun pada metode ini ditemukan bahwa blanko yang terdiri dari etanol p.a juga memberikan hambatan terhadap jamur *M. furfur*. Hal ini diduga terjadi karena *M. furfur* sensitif terhadap etanol p.a, karena itu, pada uji selanjutnya, *tea tree oil* dilarutkan dalam aquades dengan bantuan Tween 80 1% (Hammeret al. 2000). Kontrol negatif terbuat dari hanya media SDA yang ditambahkan minyak zaitun 1%. Kontrol ini digunakan untuk memastikan bahwa tidak ada mikroba lain yang tumbuh selain *M. furfur*. Kontrol positif berupa media SDA yang ditambahkan minyak zaitun 1% dan digoreskan dua jarum ose dari inokula *M. furfur*. Kontrol ini digunakan untuk memastikan bahwa *M. furfur* tumbuh dalam media tersebut. Pertumbuhan jamur pada berbagai konsentrasi *tea tree oil* dapat dilihat pada Tabel 1, dan dapat disimpulkan bahwa *tea tree oil* memberikan hambatan pada konsentrasi 3,5%, sehingga konsentrasi ini ditentukan sebagai KHM. Blanko yaitu aquades yang ditambahkan Tween 80 1% tidak

memberikan hambatan terhadap pertumbuhan mikroba. Tabung reaksi berisi *tea tree oil* dengan konsentrasi 3% masih memperlihatkan pertumbuhan jamur, sedangkan tabung reaksi berisi *tea tree oil* dengan konsentrasi 3,5% telah menghambat sempurna pertumbuhan jamur secara visual (Gambar 2).

Metode uji yang sama dilakukan terhadap mikonazol untuk mendapatkan perbandingan terhadap KHM *tea tree oil*. Pertumbuhan jamur pada berbagai konsentrasi mikonazol dapat dilihat pada Tabel 2, dan dapat disimpulkan bahwa mikonazol memberikan hambatan pada konsentrasi 40 ppm, sehingga dapat dinyatakan bahwa *tea tree oil* 3,5% memiliki kekuatan yang sama dengan mikonazol 40 ppm.

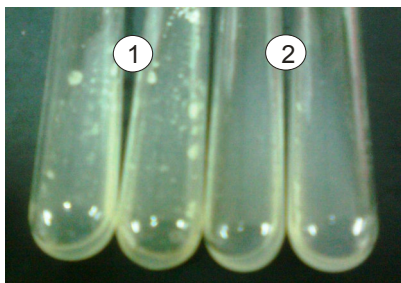
Tabel1. Hasil Pengamatan KHM *Tea Tree Oil* Setelah 72 Jam

Konsentrasi <i>tea tree oil</i> (% b/v)	Pertumbuhan jamur
5	-
4	-
3,5	-
3	+
2,5	+
1	+
0,5	+
Blanko	+
Kontrol positif	+
Kontrol negatif	-

Keterangan:

- = tidak ada pertumbuhan

+ = ada pertumbuhan



Gambar 2. Hasil penentuan KHM *tea tree oil*. Tabung (1) berisi 3% *tea tree oil* dan tabung (2) berisi 3,5% *tea tree oil*.

Formula sampo anti ketombe dikembangkan berdasarkan nilai KHM *tea tree oil* yang didapat. Jumlah *tea tree oil* dalam formula ditingkatkan hingga 15% b/v. Hal ini dilakukan sebagai antisipasi adanya penurunan aktivitas anti jamur dari *tea tree oil* setelah dibuat sebagai sediaan.

Pada tahap awal formulasi dilakukan optimasi jumlah natrium lauril sulfat yang akan digunakan. Optimasi dilakukan dengan jumlah natrium lauril sulfat sebesar 10, 15, dan 20% b/v. Tiap formula dihitung nilai Hv/Ho selama tujuh hari dan digunakan formula yang memberikan nilai Hv/Ho yang paling mendekati 1, yang paling stabil.

Uji tinggi dan kestabilan busa dilakukan menggunakan dua jenis air, yaitu air suling dan air sadah. Kesadahan air dibagi menjadi 2 yaitu air sadah sementara (dapat hilang oleh pendidihan, umumnya disebabkan oleh ion karbonat ataupun bikarbonat) dan air sadah tetap (tidak dapat hilang hanya oleh pendidihan, umumnya disebabkan oleh ion CaCl_2). Uji ini dilakukan menggunakan air sadah tetap. Menurut pustaka, air sangat sadah diklasifikasikan mengandung lebih dari 180 ppm CaCO_3 oleh WHO, lebih dari 534 ppm CaCO_3 menurut E. Merck, dan lebih dari 300 ppm CaCO_3 oleh *Environmental Protection Agency* (EPA) (Kusuma et al. 2009). Karena itu, uji tinggi dan kestabilan busa dilakukan menggunakan air sadah tetap yang dibuat dari 600 ppm CaCl_2 yang didapat dari kesetaraan dengan 540 ppm CaCO_3 .

Tabel2. Hasil Pengamatan KHM Mikonazol Setelah 72 jam

Konsentrasi mikonazol (ppm)	Pertumbuhan jamur
50	-
40	-
30	+
20	+
10	+
Kontrol positif	+
Kontrol negatif	-

Keterangan:

- = tidak ada pertumbuhan

+ = ada pertumbuhan

Menurut pustaka, tinggi dan kestabilan busa, untuk air suling dan air sadah, dianggap memenuhi syarat apabila tingginya berada dalam rentang 13–220 mm (Harry 1973). Sediaan dengan konsentrasi 10% natrium lauril sulfat menghasilkan sediaan jernih seperti larutan yang diduga merupakan mikroemulsi, sedangkan konsentrasi 15% dan 20% menghasilkan sediaan emulsi yang berwarna putih susu. Ketiga formula memenuhi syarat yang ditetapkan, namun karena konsentrasi 20% menghasilkan emulsi yang lebih tidak stabil, maka dipilih konsentrasi natrium lauril sulfat yang menghasilkan busa yang lebih banyak dan lebih stabil, yaitu 15%.

Tabel 3. Data Pengamatan Hv/Ho pada Optimasi Natrium Lauril Sulfat

Jumlah natrium lauril sulfat (% b/v)	Hv/Ho pada hari ke-				
	0	1	2	3	7
10*	1	1	1	1	1
15	1	0,96	0,96	0,96	0,96
20	1	0,96	0,79	0,71	0,53

Keterangan: * = sediaan jernih seperti larutan

Tabel 4. Hasil Pengukuran Tegangan Permukaan dan pH Sediaan

Kombinasi natrium lauril sulfat: setostearil alkohol (b/v)	Tegangan permukaan (dyne/cm)	pH
15: 1	33,27 ± 0,35	7,87 ± 0,21
15:2	34,13 ± 0,32	8,03 ± 0,19
15:3	34,47 ± 0,21	8,22 ± 0,28
15:4	34,69 ± 0,25	8,02 ± 0,31
15:5	35,00 ± 0,17	7,80 ± 0,35

Tabel 6. Evaluasi Aktivitas Sediaan pada Uji Stabilitas Dipercepat

Waktu Evaluasi (hari)	Pertumbuhan Jamur			
	Sampo bets 1	Sampo bets 2	Sampo bets 3	Blanko
0	—	—	—	+
7	—	—	—	+
14	—	—	—	+
21	—	—	—	+
28	—	—	—	+
35	—	—	—	+
42	—	—	—	+

Keterangan:

— = tidak ada pertumbuhan

+ = ada pertumbuhan

Setelah diperoleh jumlah natrium lauril sulfat, dilakukan optimasi untuk menentukan jumlah setostearil alkohol yang akan digunakan. Setostearil alkohol ditambahkan sebagai surfaktan dan juga sebagai peningkat viskositas. Optimasi dilakukan dengan jumlah setostearil alkohol sebesar 1, 2, 3, 4, dan 5% b/v. Sediaan dengan konsentrasi setostearil sebanyak 1% dan 2% juga menghasilkan sediaan jernih seperti larutan, sedangkan konsentrasi 3, 4, dan 5% menghasilkan sediaan emulsi. Hasil pengamatan Hv/Ho menunjukkan bahwa hanya 2 formula awal yang memiliki stabilitas yang paling baik dan dapat dilihat bahwa peningkatan jumlah setostearil berbanding terbalik dengan tinggi busa yang dihasilkan, namun berbanding lurus dengan viskositas sediaan yang diamati secara visual. Karena alasan viskositas, maka dipilih 2% setostearil alkohol dan bukan konsentrasi 1% yang menghasilkan busa yang paling banyak. Hasil pengukuran tegangan permukaan dan pH sampo dengan berbagai kombinasi natrium lauril sulfat dan setostearil alkohol dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil pengukuran distribusi ukuran globul sediaan menunjukkan bahwa ukuran globul terdistribusi

maksimal pada rentang 167–357 nm dengan ukuran globul rata-rata adalah 321,8 nm. Rentang ukuran globul makroemulsi adalah antara 1–100 µm (Salager 2000). Distribusi globul ini berada di bawah rentang ukuran makroemulsi dan sediaan berwarna transparan, karena itu, dapat disimpulkan bahwa sediaan yang dihasilkan adalah mikroemulsi. Mikroemulsi juga memiliki stabilitas yang lebih baik dibandingkan dengan makroemulsi (Prince 1977).

Uji stabilitas fisik dilakukan dengan metode sentrifugasi, *freeze-thaw* dan uji stabilitas dipercepat dengan *climatic chamber*. Untuk melihat pengaruh gaya gravitasi terhadap stabilitas sediaan, dilakukan metode sentrifugasi. Uji dilakukan dengan cara sediaan disentrifuga dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam disertai dengan pengamatan setiap satu jam. Hasil menunjukkan bahwa sediaan stabil, yang ditandai tidak terjadinya pemisahan fasa.

Untuk melihat pengaruh suhu terhadap stabilitas fisik sediaan, dilakukan metode *freeze-thaw* dan uji stabilitas dipercepat dengan *climatic chamber*. Untuk uji *freeze-thaw*, sediaan diuji selama 6 siklus dengan satu siklus penyimpanan dilakukan pada suhu 4°C

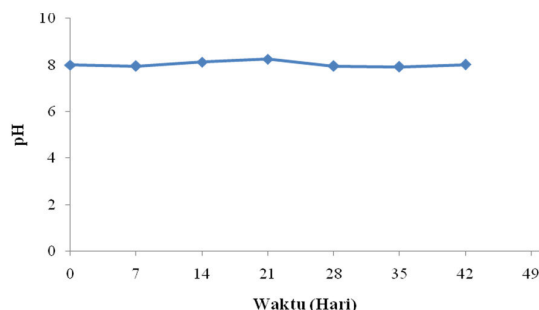
selama 48 jam dan kemudian dipindahkan pada suhu 40°C selama 48 jam. Setiap setengah siklus diamati terjadinya pemisahan pada sediaan. Hasil evaluasi menunjukkan tidak adanya pemisahan namun terbentuk warna kuning yang muncul mulai siklus ke dua. Warna ini semakin pekat sejalan dengan waktu evaluasi. Sedangkan untuk sediaan yang dimasukkan dalam *climatic chamber* pada suhu 40°C dan 75% RH dievaluasi penampilan organoleptik, pH, viskositas, dan aktivitas anti jamur. Setiap 7 hari, satu botol dari tiap betas diambil untuk dievaluasi. Secara organoleptik, tidak terjadi pemisahan fasa dari sediaan, namun terbentuk warna kuning yang muncul setelah tujuh hari penyimpanan pertama. Warna kuning yang muncul semakin pekat sejalan dengan waktu penyimpanan.

Terjadinya perubahan warna menjadi kuning, menunjukkan bahwa *tea tree oil* teroksidasi walaupun sudah ditambahkan BHA sebagai antioksidan. Pada saat *tea tree oil* teroksidasi, akan dihasilkan senyawa *p-cymene* yang merupakan sumber warna kuning tersebut. Hal ini seharusnya tidak mempengaruhi aktivitas anti jamur dari *tea tree oil* karena senyawa dalam *tea tree oil* yang memiliki aktivitas anti jamur adalah *terpinen-4-ol* yang jumlahnya tidak berubah akibat oksidasi yang terjadi (Carson *et al.* 2006). Tetapi perubahan ini tidak diamati terjadi pada sediaan yang disimpan dalam temperatur kamar.

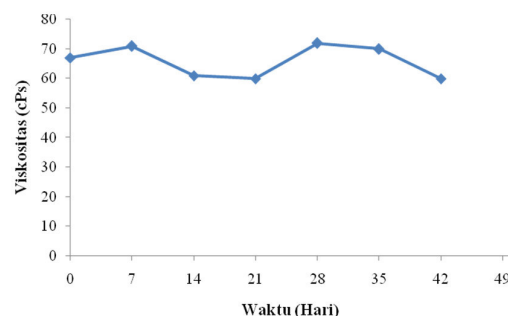
Evaluasi aktivitas anti jamur dilakukan untuk melihat pengaruh perubahan warna kuning pada sediaan terhadap aktivitas sediaan. Data evaluasi selama 42 hari dapat dilihat pada Tabel 6. Evaluasi menunjukkan bahwa sediaan masih memiliki aktivitas anti jamur. Blanko yang dibuat dari fasa air sediaan sampo tidak memberikan aktivitas anti jamur yang menghambat pertumbuhan *M. furfur*. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan warna tidak memiliki pengaruh terhadap aktivitas sediaan.

Hasil evaluasi pH selama 42 hari dapat dilihat pada Gambar 3. Sediaan memiliki pH yang berada dalam rentang sekitar pH 8. Nilai ini berada dalam rentang syarat pH sampo yaitu 6–9 (Sagarin dan Power 1966). Data diuji dengan metode *t-student* berpasangan ($p > 0,05$) dan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan berarti, sehingga dapat dinyatakan bahwa pH sediaan stabil.

Hasil evaluasi viskositas sediaan selama 42 hari dapat dilihat pada Gambar 4. Sediaan memiliki viskositas yang berada dalam rentang 60–70 cPoise. Data diuji dengan metode *t-student* berpasangan ($p > 0,05$) dan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan berarti, sehingga dapat dinyatakan bahwa viskositas sediaan stabil.



Gambar 3. Evaluasi pH sediaan dalam 42 hari.



Gambar 4. Evaluasi viskositas sediaan dalam 42 hari.

Kesimpulan

Sampo yang mengandung *tea tree oil* yang stabil secara fisika diperoleh dengan formula yang terdiri dari 15% *tea tree oil*, 15% natrium lauril sulfat, 2% setostearil alkohol, dengan 10% propilen glikol sebagai humektan. Sediaan yang memiliki tinggi busa $206,67 \pm 5,51$ mm dalam air suling dan $150,00 \pm 7,33$ mm dalam air sadah 600 ppm, viskositas $66,7 \pm 11,95$ cP dan pH $8,18 \pm 0,36$ ini memiliki aktivitas terhadap 2×10^3 CFU/mL *Malassezia furfur*. Sediaan yang dihasilkan tidak mengalami pemisahan fasa namun terbentuk warna kuning saat dilakukan evaluasi kestabilan fisik pada suhu 40°C. Terjadinya warna kuning ini tidak mempengaruhi aktivitas anti jamur dari sediaan.

Daftar Pustaka

- Agarwal U, Pande PS, Patki PS, Mitra SK, 2009, Evaluation of the Clinical Efficacy and Safety of "Anti-dandruff Hair Cream" in the Treatment of Dandruff, The Antiseptic 106(1): 37-9.
- Carson CF, Hammer KA, Riley TV, 2006, *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties, Clin. Microbiol. Rev. 19(1): 50–62.

Halcon L, Milkus K, 2004, *Staphylococcus aureus* and wounds: a review of tea tree oil as a promising antimicrobial, Am. J. Infect. Control. 32(7): 402-8.

Hammer KA, Carson CF, Riley TV, 1997, In Vitro Susceptibility of *Malassezia furfur* to the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia*, J. Med. Vet. Mycol. 35(5): 375-7.

Hammer KA, CarsonCF, RileyTV, 2000, In Vitro Activities of Ketoconazole, Econazole, Miconazole, and *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil Against *Malassezia* Species, Antimicrob. Agents Chemother. 44(2): 467-9.

Hanson, L.H., and D.A. Stevens, 1989, Evaluation of Cilofungin, a Lipopeptide Antifungal Agent, In Vitro Against Fungi Isolated from Clinical Specimens, Antimicrob. Agents Chemother. 33(8), 1391-2.

Harry RG (eds), 1973, Harry's Cosmeticology, 6th ed., Leonard Hill Books, England, 378-406, 427-66.

Ingham E, Cunningham AC, 1993, *Malassezia furfur*, J. Med. Vet. Mycol. 31: 265-288.

Kusuma T, Atika, Ulfa M, 2009, Penghilangan Kesadahan Air dengan Metode Isoterm Adsorpsi Freundlich dengan Adsorben Zeolit, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang.

Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL, 1976, The Theory and Practice in Industrial Pharmacy, Lea & Febiger, Philadelphia, 210

Prince LM, 1977, Microemulsions Theory and Practice, London: Academic Press, 1-8, 139-145.

Sagarin E, PowerDH, 1966, Cosmetic, Science and Technology, Sagarin E (Eds), John Wiley & Sons Inc., New York, 380-420.

Salager J, 2000, Pharmaceutical Emulsions and Suspensions, Marcel Dekker Inc., New York, 81.