

## Uji Cemaran Mikroba pada Sediaan Lipstik Cair

### *(Microbial Pollution Test on liquid Lipsticks)*

Desy Muliana Wenas<sup>1,\*</sup>, Jessica Suardi<sup>2</sup> dan Wahidin<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup>Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional

<sup>3</sup>Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

\*Email korespondensi : desywenas@istn.ac.id

#### **Abstract**

Liquid lipstick is one of favorite cosmetic products for women. It is used daily and often accidentally swallowed, then got inside the gastrointestinal tract. Most women keep lipstick for a long time, therefore with a long storage period can cause microbial contamination. The purpose of this study was to detect contamination and the types of microbes found in liquid lipsticks. The method used to analyze bacterial contamination is total plate count (TPC), and continued with identification of bacteria in specific agar media. Liquid lipstick samples used in this study included 5 liquid lipsticks that were used and stored for  $\pm$  3 months,  $\pm$  6 months and  $\pm$  12 months, and 5 new and sealed liquid lipsticks. From 3 samples of liquid lipstick that were  $\pm$  12 months old, 2 samples were found to be contaminated with *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. However, all the samples were within the normal range of total plate count (TPC) requirements according to BPOM HK.03.1.23.07.11.6662 in 2011, because the bacterial colonies that grew in the media were less than  $10^3$ .

**Keywords:** Bacteria, Contamination, Liquid Lipstick, Specific Agar Media, Total Plate Count.

#### **Abstrak**

Lipstik cair merupakan salah satu produk kosmetik yang disukai kaum hawa. Lipstik cair biasa digunakan sehari-hari dan juga sering secara tidak sengaja masuk ke dalam rongga mulut dan dapat mencapai saluran pencernaan. Sebagian besar wanita menyimpan lipstik dalam jangka waktu yang lama sehingga cemaran mikroba pasti ditemukan pada lipstik tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi cemaran dan jenis mikroba yang terdapat pada lipstik cair. Metode yang digunakan untuk menganalisa cemaran bakteri yaitu *total plate count* (TPC), dan dilanjutkan dengan identifikasi bakteri di media agar selektif. Sampel lipstik cair yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu 5 buah lipstik cair yang telah digunakan dan disimpan  $\pm$ 3 bulan,  $\pm$ 6 bulan dan  $\pm$ 12 bulan, dan 5 buah lipstik cair baru dan masih bersegel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 3 sampel lipstik cair usia  $\pm$ 12 bulan yang diteliti, 2 sampel diantaranya ditemukan terkontaminasi *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Namun dari semua sampel yang diteliti, semua sampel masih dalam ambang batas normal syarat angka lempeng total (ALT) menurut persyaratan BPOM nomor HK.03.1.23.07.11.6662 Tahun 2011, karena koloni bakteri yang tumbuh di media tidak lebih dari  $10^3$ . Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa seluruh sampel lipstik cair yang diteliti termasuk aman.

**Kata kunci:** Angka Lempeng Total, Bakteri, Kontaminasi, Lipstik Cai, Media Agar Selektif.

## I. Pendahuluan

Kosmetik sangat berperan penting dalam kehidupan bagi wanita. Lipstik berfungsi untuk melembabkan dan juga memperbaiki kondisi bibir yang rusak. Lipstik cair adalah produk yang paling mudah ditemui di pasaran, dan harganya sangat terjangkau. Lipstik cair biasa digunakan sehari-hari oleh wanita, Lipstik cair sering secara tidak sengaja masuk ke dalam saluran pencernaan. Oleh karena itu sangat penting untuk memperhatikan kebersihan dari produk lipstik cair tersebut <sup>1</sup>.

Para wanita bisa memiliki lebih dari satu produk lipstik cair terutama berbeda warna. Mereka terkadang tidak memperhatikan cara pemakaian dan penyimpanan yang baik sehingga lipstik cair mudah tercemar bakteri. Penggunaan 1 lipstik cair lebih dari 1 orang dan pemakaian yang tidak memperhatikan tanggal kadaluarsa dapat mempermudah pertumbuhan mikroba pada lipstik cair tersebut. Produk lipstik cair agar tidak mudah tercemar bakteri seharusnya digunakan pada permukaan bibir yang bersih, juga penggunaan 1 lipstik cair lebih dari 1 orang perlu dihindari untuk mencegah pertumbuhan bakteri lebih banyak lagi, serta tanggal kadaluarsa juga harus diperhatikan.

Adanya cemaran mikroba dalam sediaan kosmetik dapat menyebabkan tidak stabilnya sediaan dan menyebabkan timbulnya reaksi alergi, infeksi pada kulit, sensitifitas dan penyakit kulit lainnya. Kosmetik sediaan rias wajah termasuk lipstik cair harus memenuhi persyaratan mutu serta sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan yaitu cemaran mikroba pada sediaan untuk uji angka lempeng total tidak lebih dari  $10^3$  koloni/g atau koloni/ml, uji bakteri *Pseudomonas aeruginosa* negatif per 0,1 mL sampel, *Candida albicans* negatif per 0,1 mL sampel, dan *Staphylococcus aureus* negatif per 0,1 mL sampel <sup>2</sup>.

Penelitian yang berhubungan dengan cemaran mikroba pada lipstik cair telah dilakukan pada 12 produk lipstik cair, yang di antaranya adalah 4 lipstik cair merk internasional yang belum digunakan, 4 merk internasional yang telah digunakan, dan 4 lipstik cair merk lokal yang telah digunakan dan belum digunakan. Hasilnya terdapat pertumbuhan bakteri *Proteus penneri* dan *Providencia vermicola* pada 4 lipstik cair merk internasional yang belum digunakan; *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, dan *Pseudomonas* sp. pada 4 lipstik cair merk internasional yang telah digunakan; dan *Staphylococcus arlettae* pada 4 lipstik cair merk lokal <sup>1</sup>.

Dengan penggunaannya yang berulang dan cara penyimpanannya yang kurang tepat dapat menimbulkan cemaran mikroba pada kosmetik. Cemaran mikroba pada kosmetik tidak hanya dapat menimbulkan masalah iritasi ringan pada kulit, tetapi dapat menimbulkan infeksi kulit. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi cemaran mikroba pada lipstik cair yang penggunaannya berulang dan disimpan pada jangka waktu  $\pm 3$  bulan,  $\pm 6$  bulan dan  $\pm 12$  bulan untuk melihat ada atau tidaknya kontaminasi *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, dan *Escherichia coli*. Atas dasar ini, peneliti ingin melihat pengaruh lama pemakaian dan penyimpanan lipstik cair terhadap pertumbuhan mikroba dan membandingkan dengan lipstik cair yang baru dan masih bersegel.

## II. Metode Penelitian

Bahan yang diuji dalam penelitian ialah sebanyak 10 sampel lipstik cair (5 buah lipstik cair setelah pemakaian dan penyimpanan;  $\pm 3$  bulan,  $\pm 6$  bulan, dan  $\pm 12$  bulan, dan 5 buah lipstik cair baru dan masih bersegel) dengan perincian umur pemakaian sebagai berikut :

- Sampel A1: lipstik cair setelah 12 bulan pemakaian merk A
- Sampel A2: lipstik cair baru & bersegel berusia 0 bulan, merk A
- Sampel B1: lipstik cair setelah 12 bulan pemakaian merk B
- Sampel B2: lipstik cair baru & bersegel berusia 0 bulan, merk B

- Sampel C1: lipstik cair setelah 12 bulan pemakaian, merk C
- Sampel C2: lipstik cair baru & bersegel berusia 0 bulan, merk C
- Sampel D1: lipstik cair setelah 6 bulan pemakaian, merk D
- Sampel D2: lipstik cair baru & bersegel berusia 0 bulan, merk D
- Sampel E1: lipstik cair baru & bersegel berusia 0 bulan, merk E
- Sampel E2: lipstik cair setelah 3 bulan pemakaian, merk E

Seluruh sampel lipstik cair dianalisa cemaran mikroba dengan menggunakan metode *total plate count* (TPC) dalam media *Nutrient Agar* (NA) dan 3 buah sampel lipstik cair yang berumur 12 bulan diidentifikasi dengan media *Mannitol Salt Agar* (MSA), media *Cetrimide Agar* (CA), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), dan media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Kemudian dilakukan pewarnaan gram dan aktivitas biokimia pada bakteri yang positif tercemar.

### **2.1. Pengujian Total Plate Count (TPC)**

Sampel lipstik cair usia  $\pm 0$  bulan,  $\pm 3$  bulan,  $\pm 6$  bulan dan  $\pm 12$  bulan yang dibuat pengenceran  $10^{-1}$  dan ditambahkan 1ml tween 80. Sampel lipstik selanjutnya ditanam pada medium *nutrient agar* (NA) dan diratakan dengan metode *spread* menggunakan batang L secara aseptis, di setiap pengenceran dilakukan secara triplo. Sampel yang ditanam pada masing-masing agar akan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam sampai dengan 48 jam. Jumlah koloni masing-masing cawan dihitung dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Jumlah total koloni yang dihitung adalah koloni yang tumbuh pada cawan petri sekitar 30-300 koloni. Setelah diinkubasi, maka koloni yang tumbuh pada agar tersebut akan dihitung dan dilakukan identifikasi.

### **2.2. Identifikasi Bakteri pada Media Agar Selektif**

Media agar selektif yang digunakan adalah *Mannitol Salt Agar* (MSA) untuk mengidentifikasi *S. aureus* yang ditandai dengan tumbuhnya koloni berwarna kuning, *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk mengidentifikasi *C. albicans* yang ditandai dengan tumbuhnya koloni berwarna putih kekuningan, timbul di atas permukaan media, mempunyai permukaan yang pada permulaan halus dan licin, *Cetrimide Agar* (CA) untuk mengidentifikasi *P. aeruginosa* yang ditandai dengan tumbuhnya koloni berwarna hijau-biru, dan *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) untuk mengidentifikasi *E. coli* yang ditandai dengan tumbuhnya koloni berwarna hijau dengan bintik hitam ditengahnya dengan kilap warna hijau metalik.

### **2.3. Pewarnaan Gram**

*Slide* kaca mikroskop dibersihkan, kemudian diletakkan sampel bakteri ke atas *slide* kaca menggunakan ose bulat. Ose bulat adalah alat transfer mikroba berbentuk bulat yang biasa digunakan untuk menginokulasi koloni bakteri. Kemudian seluruh permukaan *slide* digenangi dengan *crystal violet*, setelah itu dibiarkan selama 60 detik, kemudian *slide* dicuci di bawah air mengalir selama 5 detik. Lalu *slide* digenangi dengan larutan iodine, dibiarkan selama 60 detik, dicuci dengan air mengalir selama 5 detik. Kemudian *slide* ditetaskan etanol sedikit demi sedikit sampai warna keunguan pada *slide* luntur, kemudian *slide* dicuci kembali di bawah air mengalir selama 5 detik. Langkah terakhir adalah *slide* digenangi dengan safranin selama 60 detik lalu dicuci di bawah air mengalir selama 5 detik. *Slide* dibiarkan kering, ditutup dengan *cover glass*, dan dapat dilihat menggunakan mikroskop cahaya<sup>3</sup>.

## 2.4. Uji Biokimia

### 2.4.1. Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Kultur diinokulasikan pada tabung reaksi berisi agar miring *triple sugar iron agar* (TSIA) pada suhu 35°C selama 24-48 jam. Kemudian perubahan warna diperhatikan. Hasil dikatakan positif jika terdapat perubahan warna awal dari *orange* menjadi merah (tidak ada fermentasi karbohidrat), menjadi kuning (ada fermentasi karbohidrat yang menghasilkan asam) dan menjadi hitam (menandakan adanya reduksi sulfur).

### 2.4.2. Uji Sulfur Indole Motility (SIM)

Kultur diinokulasikan pada tabung reaksi berisi agar SIM yang sudah diberi mikroorganisme dengan memasukkan jarum pada agar dan kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24-48 jam. Munculnya cincin warna merah pada agar setelah diberi reagen *Kovacs* menandakan adanya indol yang dihasilkan. Perubahan warna pada agar menjadi hitam menandakan adanya reduksi sulfur. Gambaran pertumbuhan yang tampak di sekitar tusukan ose menunjukkan bahwa adanya motilitas atau pergerakan bakteri.

Reagen *kovacs* dapat bereaksi dengan indol membentuk senyawa yang berwarna merah pada permukaan agar medium. Terbentuknya warna merah pada permukaan medium setelah ditetesi reagen *kovacs*, maka mikroba yang diuji positif terhadap uji indol. Sebaliknya, apabila tidak terbentuk senyawa berwarna merah berarti mikroba yang diuji negatif terhadap uji indol<sup>4</sup>.

### 2.4.3. Uji Sitrat

Kultur diinokulasikan pada tabung reaksi berisi agar miring *Simmon's citrate agar* (SCA) pada suhu 35°C selama 24-48 jam. Lalu perubahan warna diperhatikan pada spesimen. Hasil positif jika terdapat perubahan warna agar dari hijau menjadi biru<sup>5</sup>.

## III. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Pengujian Total Plate Count (TPC)

*Total Plate Count* (TPC) merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba pada suatu sampel. TPC menggunakan pengenceran sampel dituang ke dalam media padat untuk memudahkan perhitungan koloni dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung. Percobaan pada perhitungan koloni dilakukan tiga kali, lalu diambil rata-rata. Hasilnya dibandingkan dengan standar uji cemaran menurut BPOM berdasarkan persyaratan Cemaran Mikroba pada Kosmetik<sup>2</sup>. Hasil uji TPC dapat dilihat di **Tabel 1**.

Hasil uji TPC pada 10 sampel lipstik cair yang di antaranya 3 sampel usia 12 bulan, 1 sampel usia 6 bulan, 1 sampel usia 3 bulan, dan 5 sampel usia 0 bulan didapatkan hasil dari sampel B1 yang berusia 12 bulan adalah  $2.6 \times 10^3$ , menurut BPOM produk lipstik cair sampel B1 yang berusia 12 bulan melebihi ambang batas. Uji TPC pada sampel lainnya menunjukkan bahwa koloni bakteri yang tumbuh di media  $<25$  (kurang dari dua puluh lima). Adanya pertumbuhan koloni bakteri tetapi kurang dari 25 ( $<25$ ). Menurut BPOM produk-produk ini memenuhi syarat, karena syarat BPOM adalah tidak lebih dari  $10^3$  koloni/ml. Hal ini terjadi kemungkinan karena adanya bahan pengawet yang dapat menekan pertumbuhan bakteri<sup>6</sup>.

**Tabel 1.** Total Plate Count (TPC) terhadap Total Bakteri

Sampel	Jumlah Koloni Dalam Pengenceran			Keterangan
	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	
A1 (Usia 12 Bulan)	13	6	4	TSUD*
	14	6	3	
	9	1	2	
A2 (usia 0 bulan)	-	-	-	TSUD*
	-	-	-	
	-	-	-	
B1 (Usia 12 Bulan)	13	8	3	2,6x10 <sup>3</sup>
	10	5	4	
	26	4	3	
B2 (usia 0 bulan)	-	-	-	TSUD*
	-	-	-	
	-	-	-	
C1 (Usia 12 Bulan)	15	4	2	TSUD*
	10	3	2	
	7	4	1	
C2 (usia 0 bulan)	-	-	-	TSUD*
	-	-	-	
	-	-	-	
D1 (usia 6 bulan)	10	10	-	TSUD*
	14	7	1	
	24	3	1	
D2 (usia 0 bulan)	-	-	-	TSUD*
	-	-	-	
	-	-	-	
E1 (usia 3 bulan)	13	6	4	TSUD*
	10	5	3	
	13	4	4	
E2 (usia 0 bulan)	-	-	-	TSUD*
	-	-	-	
	-	-	-	

Keterangan: TSUD\*: terlalu sedikit untuk dihitung, (-): tidak ada koloni yang tumbuh.

Syarat BPOM : Tidak lebih dari  $10^3$  koloni/ml

Sediaan kosmetik termasuk lipstik cair telah mengandung bahan pengawet, namun tidak menutup kemungkinan sampel lipstik cair tersebut tidak tercemar dari berbagai macam bakteri dan fungi. Bakteri dan fungi yang terdapat dalam sampel lipstik cair yaitu *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, dan *C. albicans*. Kontaminasi tersebut kemungkinan disebabkan dari pemakaian sampel lipstik cair secara bersamaan, atau terlalu lama membuka tutup sampel lipstik cair sehingga terkontaminasi mikroba yang ada di udara, dan penyimpanan lipstik cair yang sudah lewat dari batas tanggal kadaluarsa. Masa simpan lipstik cair adalah 12 sampai 18 bulan setelah produk dibuka, karena aplikator lipstik cair ada di dalam produk tersebut.

### 3.2. Identifikasi Bakteri dengan Media Agar Selektif

Media agar selektif yang digunakan adalah *Mannitol Salt Agar* (MSA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Cetrimide Agar* (CA) dan *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Syarat berdasarkan BPOM ialah Negatif per 0,1g atau 0,1 mL sampel. MSA untuk mengidentifikasi *S. aureus* (koloni kuning), PDA untuk mengidentifikasi *C. albicans* (koloni putih kekuningan, permukaan halus dan licin), CA untuk mengidentifikasi *P. aeruginosa* (koloni hijau-biru), dan EMBA untuk mengidentifikasi *E. coli* (koloni mengkilap hijau metalik dengan bintik hitam di tengah).

Pengujian dengan media MSA memperlihatkan pertumbuhan koloni berwarna kuning pada sampel A1 dan B1, sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua sampel tersebut dicurigai terkontaminasi *S. aureus* (**Tabel 2**). Kulit manusia merupakan habitat alami bagi flora normal seperti *S. aureus*, terutama di bagian tangan dan hidung manusia. Kontaminasi juga dapat terjadi pada saluran pernafasan. Benda-benda di sekitar manusia pun akan tercemar juga dengan bakteri ini dan terakumulasi seiring dengan kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhannya<sup>5</sup>. Kontaminasi *S. aureus* juga dapat disebabkan karena penggunaan lipstik cair oleh lebih dari 1 orang.

**Tabel 2.** Hasil Pengujian Sampel Lipstik Cair usia 12 bulan pada Media Agar Selektif

Sampel	Media MSA	Media CA	Media PDA	Media EMBA
A1	(koloni kuning) +	-	-	(koloni hijau metalik) +
B1	(koloni kuning) +	-	-	(koloni hijau metalik) +
C1	-	-	-	-

Keterangan: + : terdapat pertumbuhan bakteri, - : tidak ada pertumbuhan bakteri

Media CA digunakan untuk mendeteksi adanya kontaminasi dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Inokulasi media CA menghasilkan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan karakteristik membentuk pigmen biru. Pigmen tersebut menyerap masuk dalam pembedihan terdiri dari zat *flourens* warna hijau yang larut dalam air dan *pyocianin* warna biru kehijauan yang larut dalam klorofom. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ketiga sampel tidak terdapat *Pseudomonas aeruginosa*, dan tidak terbentuk koloni apapun pada media CA<sup>7</sup>.

Inokulasi media PDA menghasilkan koloni *Candida albicans* sebesar kepala jarum pentul, kemudian koloni dapat dilihat dengan jelas setelah 1-2 hari. Koloni *Candida albicans* berwarna putih kekuningan, timbul di atas permukaan media, mempunyai permukaan yang pada permukaan halus dan licin serta agak keriput dengan bau ragi yang khas<sup>8</sup>. Hasil pada **Tabel 2** diketahui bahwa sebanyak 3 sampel negatif *C. albicans*, dan tidak terbentuk koloni apapun pada media PDA.

Media EMBA digunakan untuk mendeteksi adanya kontaminasi dari *E. coli*. Hasil pengujian memperlihatkan adanya pertumbuhan koloni dengan penampilan kilap warna hijau metalik pada media EMBA, sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel A1 dan B1 terkontaminasi *E. coli*. Keberadaan *E. coli* pada sampel lipstik cair dapat dipengaruhi oleh air liur yang berasal dari rongga mulut dan terbawa pada saat pengaplikasian bibir, dan bisa juga tercemar dari makanan dan air, karena *Escherichia coli* habitatnya juga bervariasi, mulai dari air, tanah, dan udara. Dalam jumlah yang berlebihan bakteri *E. coli*

dapat mengakibatkan diare, dan bila bakteri ini menjalar ke sistem/organ tubuh yang lain dapat mengakibatkan infeksi <sup>9</sup>.

### 3.3. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram digunakan untuk membedakan antara bakteri Gram positif dengan Gram negatif berdasarkan reaksi warna yang muncul pada sel tersebut. Bakteri Gram positif akan menghasilkan warna ungu sedangkan bakteri Gram negatif akan menghasilkan warna merah<sup>10</sup>. Hasil pewarnaan Gram sampel lipstik cair usia 12 bulan menunjukkan bahwa dua sampel tersebut memperlihatkan morfologi dari bakteri *E. coli* yang bersifat Gram negatif dan berbentuk basil pendek, sedangkan morfologi bakteri *S. aureus* bersifat Gram positif dan berbentuk kokus (**Tabel 3**).

**Tabel 3** Hasil Pewarnaan Gram pada Sampel Lipstik Cair Usia 12 Bulan.

Sampel	Dari isolasi media MSA		Dari isolasi media EMBA	
	Bentuk sel	Pewarnaan Gram	Bentuk sel	Pewarnaan Gram
A1	Kokus	Gram positif	Basil pendek	Gram negatif
B1	Kokus	Gram positif	Basil pendek	Gram negatif

### 3.4. Uji Biokimia

Uji biokimia menentukan sifat dasar suatu bakteri selama pertumbuhannya, keberadaan suatu enzim, dan mekanisme dalam menghasilkan energi. Pengujian biokimia meliputi media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfit Indol Motility* (SIM), dan *Simmon's Citrate Agar* (SCA) (**Tabel 4**).

**Tabel 4.** Hasil Uji Biokimia pada Lipstik Cair Usia 12 Bulan.

Sampel	Bakteri	Hasil pengujian biokimia		
		Indol	SCA	TSIA
A1	Bakteri 1	-	-	+
	Bakteri 2	+	-	+
B1	Bakteri 1	-	-	+
	Bakteri 2	+	-	+

Keterangan: (+) positif, (-) negatif.

#### 3.4.1. Uji Indol

Uji indol bertujuan untuk mengetahui produksi indol dari asam amino *tryptophanase*. Media SIM yang ditanam Bakteri 1 diperoleh hasil negatif, yang ditandai dengan tidak terbentuknya cincin merah setelah diberikan reagen *Kovacs* sebanyak 5-10 tetes. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa Bakteri 1 adalah *S. aureus* karena Bakteri 1 tidak dapat memproduksi indol. Pengujian indol pada Bakteri 2 memperlihatkan adanya warna merah pada permukaan media apabila ditambahkan reagen *Kovacs* pada media SIM. terbentuknya cincin berwarna merah menunjukkan bahwa Bakteri 2 dapat memproduksi indol sehingga Bakteri 2 dicurigai adalah *E. coli*.

### 3.4.2. Uji *Simmon's Citrate (SCA)*

Uji *Simmon's citrate* (SCA) bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya karbon energi. Hasil uji SCA pada Bakteri 1 dan Bakteri 2 menunjukkan hasil negatif karena tidak adanya perubahan warna menjadi biru, artinya bakteri tersebut tidak memanfaatkan sitrat sebagai sumber energinya.

### 3.4.3. Uji *Triple Sugar Iron (TSIA)*

Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memecah karbohidrat. Bagian *slant* terjadi perubahan warna agar dari *orange* menjadi merah atau merah muda karena tidak ada fermentasi karbohidrat, dan perubahan warna dari *orange* menjadi kuning karena ada fermentasi karbohidrat yang menghasilkan asam. Hasil uji TSIA pada Bakteri 1 dan Bakteri 2 menunjukkan perubahan warna dari *orange* ke kuning<sup>5</sup>. Dari hasil dicurigai bahwa Bakteri 1 dan Bakteri 2 adalah *S. aureus*, dan *E. coli*. Hal tersebut dikarenakan kedua bakteri tersebut dapat mendegradasi karbohidrat.

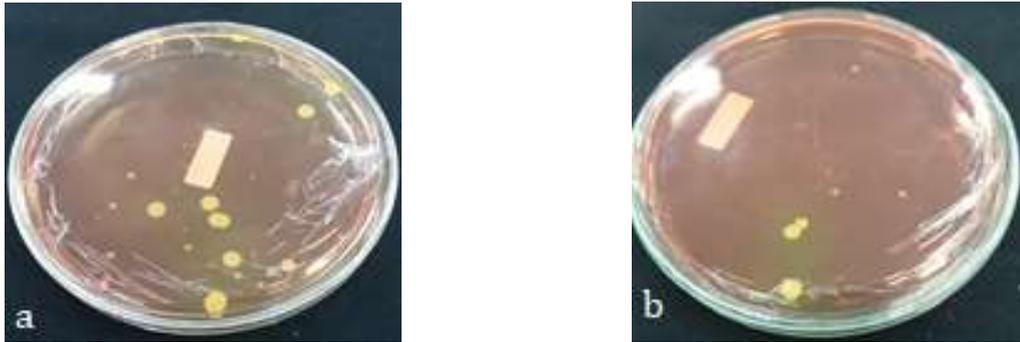
## 3.5. Kontaminasi Bakteri pada Sampel Lipstik Cair

Bakteri 1 dapat disimpulkan merupakan bakteri *S. aureus*, karena terbentuk koloni berwarna kuning pada media MSA. Bakteri *S. aureus* yang diinokulasi pada media MSA akan membentuk koloni abu-abu sampai kuning emas tua (Gambar 1). Pigmen *lipochrom* yang menyebabkan koloni berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. *S. aureus* pada media MSA akan terlihat pertumbuhan koloni berwarna kuning dengan tepi koloni berwarna kuning yang lebih cerah karena kemampuan *S. aureus* memfermentasi manitol<sup>11</sup>. Berdasarkan hasil dari pewarnaan Gram (Gambar 2), bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk kokus yang bergerombol. Berdasarkan uji biokimia, Bakteri 1 yang telah diinokulasikan ke media TSIA memperlihatkan perubahan warna dari *orange* ke kuning (Tabel 5). Hal tersebut artinya bakteri ini menunjukkan adanya fermentasi karbohidrat yang menghasilkan asam. *S. aureus* yang terdapat di dalam kosmetik dapat menyebabkan infeksi kulit pada kasus ringan berupa timbulnya jerawat. Infeksi kulit pada kasus berat seperti pengerasan kulit atau peradangan lapisan dermis kulit dan jaringan ikat di bawah kulit, dapat menyebabkan pembengkakan, kemerahan, *impetigo* dan *konjungtivitis*<sup>12</sup>.

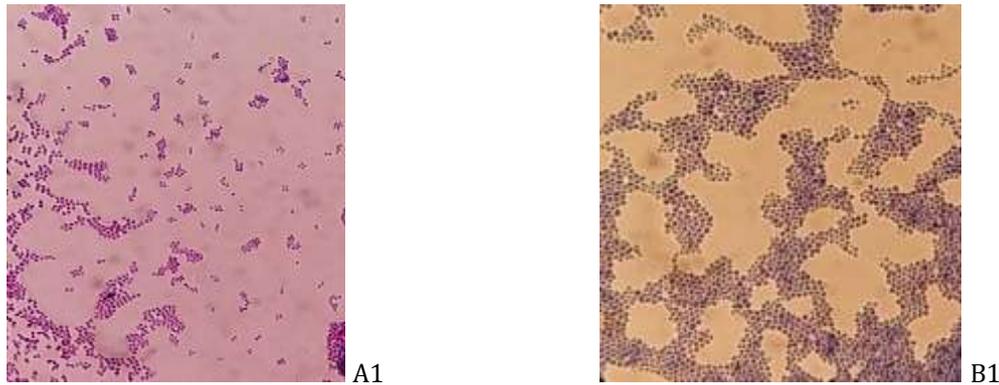
**Tabel 5.** Identifikasi Bakteri pada Sampel Lipstik Cair.

Bakteri	Identifikasi pada media diferensial				Pewarnaan gram	Uji Biokimia			Keterangan
	MSA	CA	PDA	EMBA		Indol	TSIA	SCA	
Bakteri 1	+	-	-	-	Gram Positif	-	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
Bakteri 2	-	-	-	+	Gram Negatif	+	+	-	<i>Escherichia coli</i>

Keterangan: (+) positif, (-) negatif.



**Gambar 1** Penampakan koloni bakteri berwarna kuning pada media MSA (a) dari atas cawan petri. (b) dari bawah cawan petri.

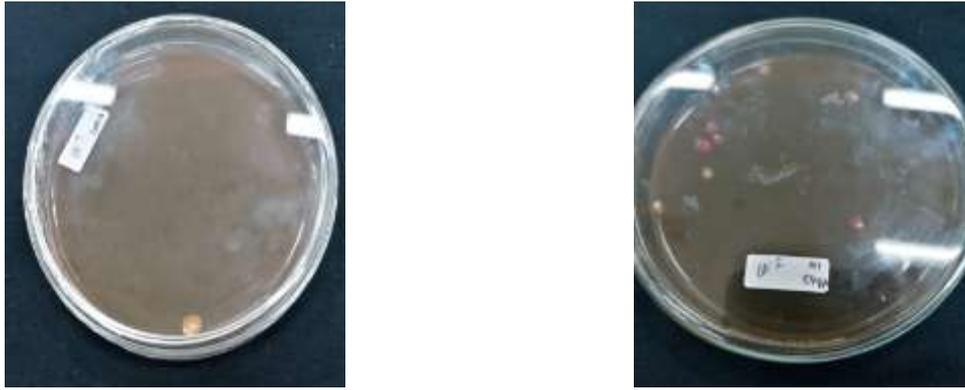


**Gambar 2** Hasil Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* dari sampel A1 dan B1 yang berusia 12 bulan.

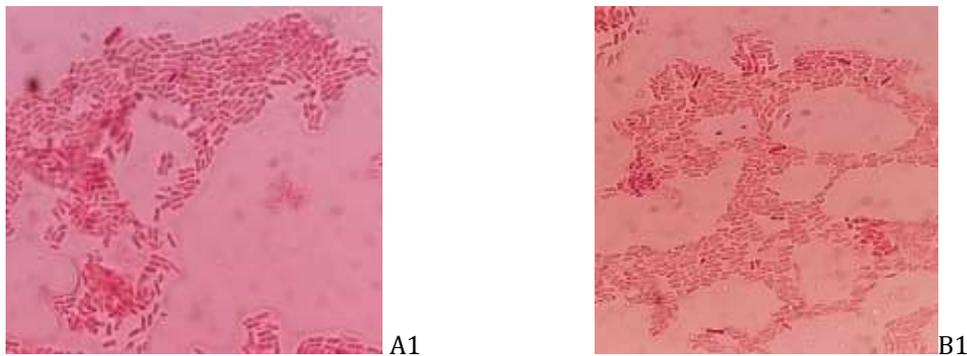
Bakteri 2 dapat disimpulkan merupakan bakteri *E. coli*, karena terbentuk koloni yang memiliki kilap warna hijau metalik pada media EMBA. *E. coli* yang diinokulasi pada media EMBA akan menghasilkan koloni berwarna kehijauan dengan bintik hitam di tengah koloni dan kilap logam hijau metalik (Gambar 3). Hal tersebut terjadi karena EMBA mengandung *eosin* dan *methylene blue* yang menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif sehingga bakteri yang tumbuh terseleksi hanya bakteri Gram negatif<sup>13</sup>. Hasil pewarnaan Gram memperlihatkan bahwa bakteri 2 bersifat Gram negatif dan berbentuk basil pendek (**Gambar 4**). Berdasarkan uji biokimia, Bakteri 2 yang telah diinokulasikan ke media TSIA memperlihatkan perubahan warna dari *orange* menjadi kuning yang artinya bahwa ada fermentasi karbohidrat. Setelah penambahan reagen *Kovacs* pada media SIM, didapatkan cincin merah (**Gambar 5a**). Hal tersebut menandakan adanya senyawa indol yang dihasilkan oleh bakteri tersebut.

Keberadaan *E. coli* pada sampel lipstik cair dapat dipengaruhi oleh air liur yang berasal dari rongga mulut dan terbawa pada saat pengaplikasian bibir. Pencemaran *E. coli* bisa juga berasal dari makanan dan air, karena *E. coli* habitatnya juga bervariasi, mulai dari air, tanah, dan udara. Bakteri *E. coli* dalam jumlah yang berlebihan dapat mengakibatkan diare bila bakteri ini menjalar ke organ tubuh yang lain<sup>9</sup>.

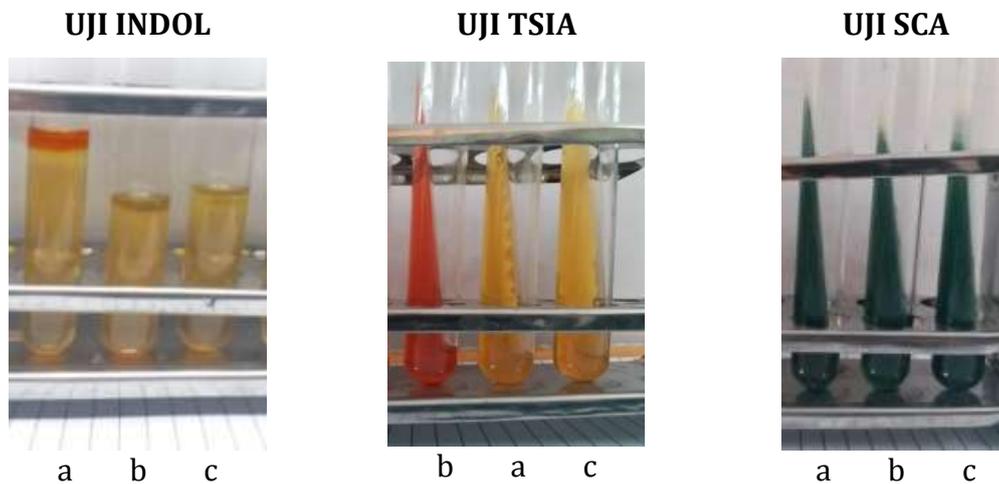
Hasil uji ALT didapatkan koloni bakteri yang tumbuh di media <30 (kurang dari tiga puluh), dan 2 sampel diantaranya positif *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil tersebut sejalan dengan hasil yang didapatkan oleh Onurdag dan Abbasoglu (2010)<sup>14</sup>. Berdasarkan hasil penelitian, dapat ditarik kesimpulan bahwa sediaan lipstik cair memiliki resiko kontaminasi bakteri yang menyebabkan penggunaannya beresiko terkena penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut.



**Gambar 3** Penampakan koloni bakteri berwarna hijau metalik pada media EMBA (A) dari atas cawan Petri, (B) dari bawah cawan petri.



**Gambar 4** Hasil Pewarnaan Gram *Escherichia coli* dari sampel A1 Dan B1 yang berusia 12 bulan.



**Gambar 5** Hasil Uji Biokimia. a: Bakteri 2, b: Kontrol, c: Bakteri 1

Sediaan kosmetik diharapkan bebas dari kontaminasi mikroorganisme ketika pertama kali digunakan atau yang telah digunakan secara berulang-ulang. Hal tersebut sesuai dengan laporan FDA 1989 pada kontaminasi dari sampel sediaan kosmetik di konter-konter yang ada di pusat perbelanjaan. Setiap kali satu botol *foundation* atau satu set *eye shadow* dibuka, mikroorganisme di udara memiliki kesempatan untuk masuk ke dalam sediaan kosmetik tersebut, tapi produk yang memiliki bahan pengawet yang baik dapat membunuh mikroorganisme dan menjaga produk tetap aman saat digunakan <sup>14</sup>.

## IV. Kesimpulan

Uji angka lempeng total pada 10 sampel lipstik cair yang terdiri dari 3 sampel usia 12 bulan, 1 sampel usia 6 bulan, 1 sampel usia 3 bulan, dan 5 sampel usia 0 bulan ditemukan sampel sampel B1 yang berusia 12 bulan menunjukkan hasil angka lempeng total  $2.6 \times 10^3$ , sedangkan untuk sampel lainnya koloni bakteri yang tumbuh di media sebesar  $< 25$  (kurang dari dua puluh lima) sehingga terlalu sedikit untuk dihitung. Berdasarkan uji identifikasi pada 3 sampel lipstik cair dengan usia 12 bulan, 2 diantaranya ditemukan positif tercemar *S. aureus* dan *E. coli*. Uji angka lempeng total pada 10 sampel lipstik cair menghasilkan 1 sampel diantaranya melampaui ambang batas yang telah ditentukan oleh BPOM karena koloni bakteri yang tumbuh lebih dari  $10^3$ . Hasil uji angka lempeng total pada sampel lainnya masih dalam ambang batas normal menurut persyaratan BPOM. Kontaminasi *S. aureus* dan *E. coli* pada lipstik cair melebihi ambang batas yang telah ditentukan oleh BPOM.

## Ucapan Terimakasih

Terima kasih kepada seluruh anggota tim penelitian yang membantu terlaksananya penelitian.

## Daftar Pustaka

1. Sawant SS, Kelkar-Mane V. *Study of bacterial contaminants in local as well as branded lipsticks before and after consumer use. Int J Recent Adv Multidiscip Res.* 2015;2(1):149-154. <http://www.ijramr.com/sites/default/files/issues-pdf/089.pdf>.
2. BPOM RI. *Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.07.11.6662 Tahun 2011. Persyaratan Cemaran Mikroba Dan Logam Berat Dalam Kosmetika.* Vol 53. Jakarta: BPOM RI; 2011. doi:10.1017/CB09781107415324.004
3. Leboffe MJ, Pierce BE. *Microbiology Laboratory Theory & Application.* 3rd editio. Colorado: Morton Publishing Company; 2008.
4. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. *Laboratory Exercises in Microbiology.* 5th editio.; 2002.
5. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology.* 26th editi. Chicago: McGraw Hill; 2013.
6. Puspandari N, Isnawati A. Deskripsi Hasil Uji Angka Lempeng Total (ALT) Pada Beberapa Susu Formula Bayi. *J Kefarmasian Indones.* 2015;5(2):106-112. doi:10.22435/jki.v5i2.4405.106-112
7. Rapi DH, Erina, Darniati. Isolasi dan Identifikasi Pseudomonas sp. pada Telur Burung Puyuh (*Coturnix-coturnix japonica*) yang Gagal Menetas di Desa Garot Kecamatan Darul Imarah Aceh Besar. *Jimvet.* 2017;01(1):19-23.
8. Mutiawati VK. Pemeriksaan mikrobiologi pada *Candida albicans*. *J Kedokt Syiah Kuala.* 2016;16(1):53-63. <http://e-repository.unsyiah.ac.id/JKS/article/viewFile/5013/4444>.
9. Pelcezar M, Chan J. *Dasar-Dasar Mikrobiologi.* Jakarta: UI Press; 2006.
10. Leboffe MJ, Pierce BE. *A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory.* 4th Editio. (Ferguson D, ed.). Colorado: Morton Publishing; 2011.
11. Dewi AK. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas Staphylococcus aureus terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *JSV.* 2013;31(2):138-150.

12. Neza E, Centini M. Microbiologically Contaminated and Over-Preserved Cosmetic Products According Rapex 2008–2014. *Cosmetics*. 2016;3(3):1-11. doi:10.3390/cosmetics3010003
13. Rahayu SA, Gumilar MH. Uji Cemarkan Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *IJPST*. 2017;4(2):50-56.
14. Onurdağ FK, Özgen S, Abbasoğlu D. Microbiological investigation of used cosmetic samples. *Hacettepe Univ J Fac Pharm*. 2010;30(1):1-16.