

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Uji Viabilitas dan Angka Lempeng Total (ALT) BAL



Gambar 9. Sediaan lotion probiotik (dokumentasi pribadi)

Pembelian bahan sediaan *lotion* probiotik dibeli secara online melalui *marketplace* diantaranya yaitu Shoppe, Tokopedia ataupun Lazada. Tanpa merugikan pihak penjual yang terkait, penelitian ini tidak mencantumkan nama merk produk dagang *skin care* tersebut. Dalam penjelasan deskripsi para penjual, bahwa ke 5 *skin care* tersebut mencatumkan adanya bakteri asam laktat pada sediaan *lotion* probiotik. Langkah awal penelitian pada sampel ini dilakukan dengan pengujian viabilitas selama 7 hari berturut turut. Uji viabilitas bertujuan untuk mengetahui ketahanan hidup koloni bakteri pada kemasan yang telah dibuka terhadap pengaruh lingkungan (Diyaulhaq *et al.*, 2020).

Tabel 1. Hasil uji viabilitas sediaan *lotion* probiotik selama 7 hari

Sampel <i>Skin care</i>	Hari Viabilitas						
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6	Hari 7
1	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√
3	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	√	√	√	√	√
5	√	√	√	√	√	√	√

Berdasarkan Tabel 1 diatas pada uji viabilitas sediaan *lotion* probiotik menunjukkan masih adanya ketahanan hidup bakteri selama 7 hari berturut turut. Bakteri asam laktat yang terdapat pada sediaan masih bertahan walaupun kemasan produk telah dibuka dan terkena kontaminasi pengaruh lingkungan. Ke 5 sampel tersebut menandakan adanya bakteri asam laktat karena pengerjakan sampel menggunakan media MRS yang spesifik untuk asam laktat. Sampel ini di inkubasi selama 48 jam didalam inkubator.

Dari beberapa penelitian tentang sediaan topikal, *skin care* yang telah digunakan sebaiknya tidak dibiarkan terbuka terlalu lama, karena dapat mempengaruhi ketahanan hidup mikroba dalam sediaan dan mempercepat rusaknya *skin care* tersebut. Pada penelitian lain tentang pengaruh lama penggunaan *skin care* juga telah terbukti bahwa lama pemakaian sebuah sediaan kosmetik dapat berpengaruh terhadap peningkatan cemaran mikroba (Pratama, R.w & Prasetyo, D., 2023).



Gambar 10. Hasil inkubasi bakteri asam laktat (dokumentasi pribadi)

Setelah pengujian viabilitas untuk melihat ketahanan hidup bakteri, kemudian dilakukan perhitungan dengan metode Angka Lempeng Total (ALT) untuk mengetahui jumlah bakteri asam laktat pada sediaan. angka lempeng total (ALT) atau yang disebut *Total plate count* merupakan angka yang menunjukkan jumlah bakteri mesofil dalam tiap 1 ml atau 1 gram sampel yang diperiksa (Indriyati *et al.*, 2021).

Perhitungan dilakukan terhadap cawan petri dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300 (Sundari, 2019). Hal ini dikarenakan media agar dengan jumlah koloni tinggi (>300 koloni) tidak sah dihitung, sehingga kemungkinan besar kesalahan perhitungan sangat besar, sedangkan jumlah untuk koloni yang sedikit (<30 koloni) tidak sah dihitung secara statistik dan deretan yang terlihat garis tebal dihitung satu koloni (Pratama, R.w & Prasetyo, D., 2023).

Tabel 2. Hasil angka lempeng total (ALT) BAL

Sampel	Jumlah Koloni				ALT (CFU/mL)
	Cawan I 10^{-4}	Cawan II 10^{-5}	Cawan III 10^{-6}	Kontrol Negatif	
1	107	98	71	0	$27,3 \times 10^6$
2	200	3	0	0	$2,0 \times 10^6$
3	120	95	0	0	$5,4 \times 10^6$
4	597	200	65	0	$42,5 \times 10^6$
5	206	109	1	0	$6,5 \times 10^6$

Berdasarkan Tabel 2 diatas menunjukkan jumlah isolat koloni bakteri asam laktat pada ke 5 sampel tersebut masih memasuki syarat rentang yang telah ditetapkan, yaitu 30-300 untuk perhitungan koloni dan 10^6 CFU/mL untuk bakteri yang diaplikasikan pada kulit manusia.

Sampel 1 pada cawan petri I (10^{-4}) sebanyak 107 koloni , cawan petri II(10^{-5}) sebanyak 98 koloni dan cawan petri III (10^{-6}) sebanyak 71 isolat koloni. Ketiga cawan petri pada sampel tersebut masih memasuki syarat rentang perhitungan yang telah di tetapkan yaitu 30-300 dengan hasil $27,3 \times 10^6$ CFU/mL, Pengujian ini memiliki kontrol negatif yang baik tanpa bakteri kontaminasi. Pengukuran pH sampel 1 memiliki pH Netral yaitu 6.30, pada pH ini pertumbuhan bakteri asam laktat masih stabil dan hasil tersebut masih aman untuk diaplikasikan pada kulit.

Kemudian sampel kedua menunjukkan pada cawan petri I (10^{-4}) sebanyak 200 koloni , cawan petri II (10^{-5}) sebanyak 3 koloni dan cawan petri III (10^{-6}) sebanyak 0 isolat koloni. Ketiga cawan petri tersebut memiliki kontrol negatif yang baik tanpa bakteri kontaminasi. dari pengujian ini hanya cawan petri ke I yang masih memasuki syarat rentang yaitu 30-300 koloni dengan hasil 2×10^6 CFU/mL. Tetapi

pada cawan ke II-III bakteri tidak sampai pada syarat rentang yang telah ditetapkan. Hal ini terjadi karena BAL yang terdapat pada produk tersebut memang jumlahnya sedikit akibat faktor pengenceran ataupun pengaruh oleh faktor penyimpanan saat di inkubator. Dari hasil cek pH yang telah dilakukan pada sampel 2 yaitu 4.58, Pada pH pertumbuhan isolat bakteri masih efektif, tetapi faktor yang bisa mempengaruhi bakteri tidak dapat tumbuh bisa saja karena perbedaan habitat asal starter (Susilowati *et al*, 2022). Dalam hal ini produk masih aman digunakan untuk diaplikasikan pada kulit.

Sampel 3 menunjukan pada cawan petri I (10^{-4}) sebanyak 120 koloni , cawan petri II (10^{-5}) sebanyak 95 koloni dan cawan petri III (10^{-6}) sebanyak 0 isolat koloni. Ketiga cawan petri tersebut memiliki kontrol negatif yang baik tanpa bakteri kontaminasi. Pada sampel ke 3 hanya cawan petri ke I dan II yang memasuki syarat rentang yang ditetapkan yaitu 30-300 koloni dengan hasil $5,4 \times 10^6$ CFU/mL. Pada cawan petri ke III tidak ada pertumbuhan bakteri,. Hal ini terjadi karena memang bakteri tersebut sedikit akibat faktor pengenceran ataupun penyimpanan isolat bakteri. Dari hasil uji cek pH yang dilakukan, sampel 3 yaitu 7.04, dalam hal ini juga bisa mempengaruhi pertumbuhan bakteri karena pH pada produk tersebut cenderung basa yang menyebabkan bakteri sulit tumbuh (0 koloni).

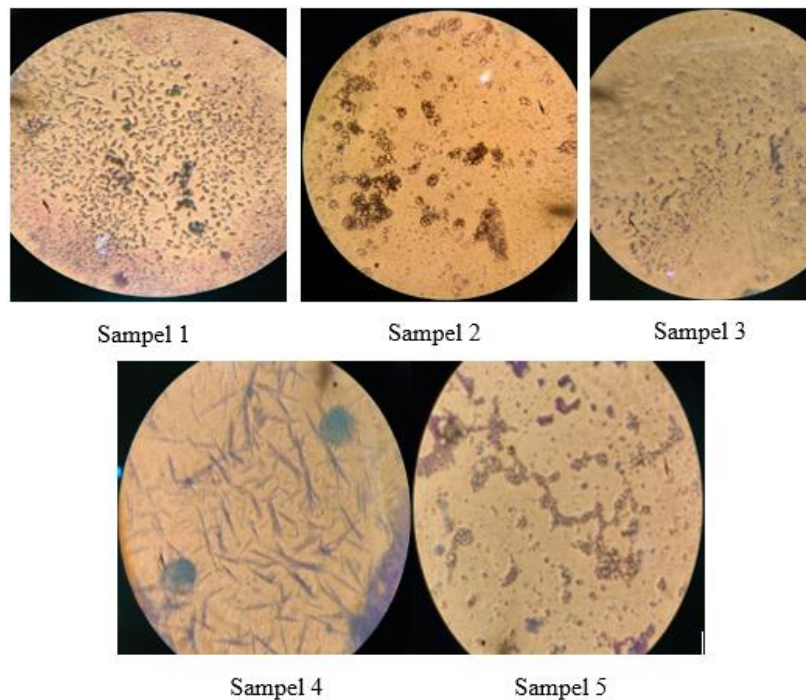
Pada sampel ke 4 menunjukan pada cawan petri I (10^{-4}) sebanyak 597 koloni, cawan petri II (10^{-5}) sebanyak 200 koloni dan cawan petri III (10^{-6}) sebanyak 65 isolat koloni. Ketiga cawan petri tersebut memiliki kontrol negatif yang baik tanpa bakteri kontaminasi. Pada sampel 4 ini, hanya cawan ke II dan ke III yang memasuki rentang yang telah ditetapkan yaitu 30-300 koloni dengan hasil $42,5 \times 10^6$ CFU/mL. Pada cawan I tidak memasuki rentang karena jumlah koloni diatas >300 hal ini tidak sah untuk dihitung dan memungkinkan kesalahan perhitungan sangat besar. Dari hasil uji cek pH yang dilakukan, sampel 4 yaitu 5.03 bisa dikatakan pH Netral. Dengan rentang pH yang dihasilkan produk tersebut memicu bakteri dapat tumbuh dengan hasil optimal ataupun lebih dan produk ini masih aman untuk diaplikasin pada kulit.

Pada sampel ke 5 menunjukkan cawan petri I (10^{-4}) sebanyak 206 koloni, cawan petri II (10^{-5}) sebanyak 109 koloni dan cawan petri III (10^{-6}) sebanyak 1 isolat koloni. Ketiga cawan petri tersebut memiliki kontrol negatif yang baik tanpa bakteri kontaminasi. Untuk sampel 5 hanya cawan petri ke I dan II yang memasuki rentang yang telah ditetapkan yaitu 30-300 koloni dengan hasil $6,5 \times 10^6$ CFU/mL. Tetapi pada cawan petri ke III hanya tumbuh 1 isolat koloni, jauh dari syarat yang telah ditetapkan yaitu 30-300. Hal ini terjadi karena pengurangan bakteri oleh faktor pengenceran dan media yang dipakai pada sampel ini kualitasnya kurang baik. Dari hasil uji cek pH yang dilakukan, sampel 5 yaitu 6.95, hal ini juga bisa mempengaruhi pertumbuhan isolat bakteri pada sampel tersebut karena nilai pH cenderung basa. produk terakhir masih efektif dan aman diaplikasikan pada kulit.

Pengujian ke 5 sampel tersebut sudah dilakukan secara triplo untuk mendapatkan data validasi yang valid. Keberagaman pertumbuhan bakteri ataupun tidak ada pertumbuhan pada produk bisa terjadi oleh banyak faktor, mulai dari media yang dibeli kurang berkualitas, kontaminasi lingkungan ataupun faktor penyimpanan yang kurang baik. Kontrol negatif yang dilakukan berperan penting dalam menjaga ke aseptisan selama penelitian Angka Lempeng Total (ALT) berlangsung.

4.2 Hasil Uji Pemeriksaan Bakteri Secara Mikroskopis Dan Makroskopis

a. Mikroskopis



Gambar 11. Hasil uji pemeriksaan mikroskopis BAL (dokumentasi pribadi)

Setelah dilakukan perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) kemudian dilakukan pengamatan mikroskopis dengan teknik pewarnaan sederhana. Dari ke 5 sampel tersebut menunjukkan adanya bakteri asam laktat dari pengenceran 10^{-1} , hasil tersebut menunjukkan ke 4 sampel produk memiliki koloni berbentuk batang dan 1 produk (sampel 5) berbentuk coccus yang telah ditetesi menggunakan *methilen blue*, pemeriksaan ini menggunakan alat mikroskop cahaya dengan 1000x perbesaran lensa.

Pewarnaan sederhana merupakan teknik pemberian warna pada bakteri dengan menggunakan larutan tunggal suatu pewarna pada lapisan tipis yang sudah difiksasi. Pewarnaan berfungsi untuk memudahkan pengamatan bakteri dengan menggunakan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri diantaranya yaitu dinding sel, menghasilkan sifat-sifat dan kimia yang khas bakteri dengan zat warna, serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya (Fatma Azizah *et al.*, 2023).

Berdasarkan karakter bentuk selnya, BAL terdiri dari 2 famili. Famili *Lactobacillaceae* yang berbentuk batang/basil dan famili *Streptococcoceae* yang berbentuk bulat/kokus. Isolat yang berbentuk batang termasuk famili *Lactobacillaceae* yaitu genus *Lactobacillus* dan yang berbentuk bulat/kokus termasuk dalam famili *Streptococcoceae* yaitu genus *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus*. *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri yaitu selnya berbentuk batang dengan ukuran yang sangat beragam. Beberapa memiliki ukuran panjang dan beberapa spesies lain memiliki bentuk yang pendek (Surenshy B *et al.*, 2019).

b. Makroskopis



Gambar 12. Hasil uji pemeriksaan makroskopis BAL (dokumentasi pribadi)

Setelah pengujian mikroskopis selanjutnya dilakukan pengujian secara makroskopik pada sampel yang meliputi warna, bentuk, tepi, permukaan, dan sudut elevasi dari koloni. Sampel diamati secara langsung yang telah diinkubasi selama 48 jam.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan makroskopis BAL

Sampel	Warna	Bentuk	Tepi	Pemukaan	Sudut Elevasi
1	Cream	Circular	Entire	Flat	Convex
2	Cream	Circular	Entire	Flat	Convek
3	Cream	Circular	Entire	Flat	Convek
4	Cream	Circular	Entire	Flat	Convek
5	Cream	Circular	Entire	Flat	Convek

Berdasarkan Tabel 3 diatas menunjukan isolat bakteri berwarna cream, bentuk cirkular , tepi entire, permukaan flat, dan memiliki sudut elevasi convek. Dari kelima sampel tersebut memiliki makroskopik yang selaras yang menandakan bakteri tersebut asam laktat.

4.3 Hasil Uji pH Sediaan *Lotion* Probiotik

Tabel 4. Hasil Uji pH Sediaan Lotion Probiotik

Sampel	pH Sampel
1	6,30 ± 0
2	4,58 ± 0
3	7,04 ± 0
4	5,03 ± 0
5	6,95 ± 0

Berdasarkan Tabel 4 diatas menunjukan sampel 1 memiliki pH 6,30, sampel 2 memiliki pH 4,58, sampel 3 memiliki pH 7,04, lalu sampel 4 memiliki pH 5,03 dan sampel 5 memiliki pH 6,95. Hasil pH ke 5 produk tersebut masih memasuki syarat rentang yang ditetapkan oleh standar nasional indonesia (SNI 16-4399-1996) yaitu 4.5-8.0 untuk sediaan topikal *lotion*. Dalam pengujian ini dilakukan secara triplo untuk setiap pengulangan.

Sebelum pengujian lebih lanjut ke uji kadar asam total untuk mengetahui kandungan asam laktat, dilakukan uji pH terhadap 5 produk terebut. Uji pH ini bertujuan untuk mengetahui keasaman sediaan *lotion* pada saat penggunaan agar tidak mengiritasi terhadap kulit. Sediaan topikal dengan nilai pH yang terlalu asam dapat mengiritasi kulit sedangkan bila nilai pH terlalu basa dapat membuat kulit kering dan bersisik. Bila pH sediaan berada di bawah interval pH kulit dikhawatirkan akan menyebabkan kulit bersisik atau bahkan terjadi iritasi,

sedangkan bila berada di atas pH kulit dapat menyebabkan kulit terasa licin, cepat kering, serta dapat mempengaruhi elastisitas kulit (Iskandar *et al.*, 2021).

4.4 Hasil Uji Kadar Asam Total



Gambar 13. Hasil uji kadar asam total asam laktat (dokumentasi pribadi)

Hasil uji kadar asam total menandakan adanya kandungan asam laktat pada sediaan *lotion* probiotik, mulai dari perubahan warna bening menjadi merah muda. Pengujian aktivitas isolat BAL dalam memproduksi asam laktat dilakukan dengan metode titrasi (asam basa) pada sediaan *lotion* probiotik untuk mengetahui kandungan asam laktat pada produk tersebut. Hal ini karena asam-asam organik dapat dianalisis dengan mengukur keasaman (pH) dan dengan metode titrasi. Data hasil pengujian titrasi dihitung konsentrasi dengan menggunakan salah satu asam standar yaitu asam laktat, karena bakteri asam laktat merupakan kelompok besar mikroorganisme yang secara fisiologis menghasilkan asam laktat sebagai metabolit utama (Kurnia *et al.*, 2020).

Tabel 5. Hasil uji titrasi dan kadar asam laktat dari sediaan *lotion* probiotik

Sampel	Pengulangan			Rata-Rata
	Replikasi 1 Kadar (%)	Replikasi 2 Kadar (%)	Replikasi 3 Kadar (%)	
1	0,0909	0,0081	0,0711	$0,0567 \pm 0,0432$
2	0,0018	0,0162	0,0180	$0,0066 \pm 0,0083$
3	0,2061	0,2016	0,2205	$0,2094 \pm 0,0099$
4	0,0972	0,0099	0,0927	$0,0666 \pm 0,0492$
5	0,0855	0,0810	0,0855	$0,0597 \pm 0,0447$

Berdasarkan tabel 4 diatas menunjukan sampel 1 memiliki rata rata %kadar asam laktat 0,0567 %, kemudian sampel 2 memiliki rata rata 0,0066 %, sampel 3 memiliki rata rata 0,2094 %, kemudian sampel 4 memiliki rata rata 0,0666 %, lalu sampel 5 yang terakhir memiliki rata rata 0,0597 %.

Perubahan warna pada titrasi sebenarnya belum memperkuat untuk tervalidasi, karena mungkin saja di dalam produk tersebut masih banyak kandungan asam yang lain selain asam laktat. Oleh karena itu, perhitungan kadar asam total diperlukan untuk produk tersebut. Pada beberapa literatur pengujian titrasi asam laktat yang telah ditemukan, SNI belum menetapkan syarat rentang yang khusus untuk *skin care*. Syarat rentang yang ditetapkan oleh SNI hanya mencantumkan untuk produk pangan dan minuman saja yaitu 0,5-2,0 % (Suhaeni, S. 2018).