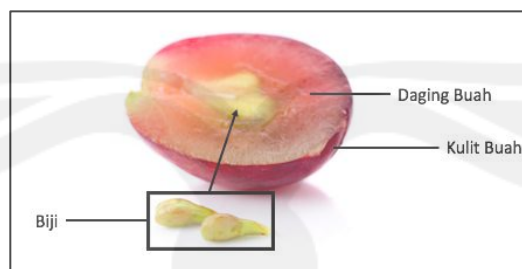


II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Biji Anggur (*Vitis vinifera*)

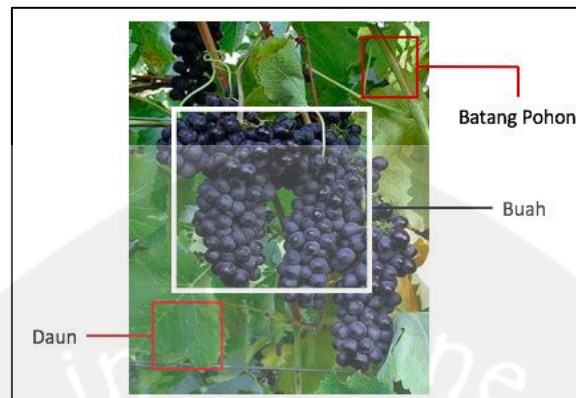
Produksi anggur menjadi salah satu aktivitas agroekonomi terpenting di dunia, dengan lebih dari 67 juta ton anggur (*Vitis vinifera*) pada tahun 2012, dan sekitar 22 juta ton diproduksi dari Eropa (FAOSTAT, 2012). Dalam berbagai penelitian, buah anggur terbukti memiliki nilai baru di dunia biologi yaitu sebagai antimikrobia, antioksidan, dan sebagainya. Secara taksonomi, klasifikasi anggur sebagai berikut NCBI (2015) :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Vitales
Suku	: Vitaceae
Marga	: <i>Vitis</i>
Jenis	: <i>Vitis vinifera</i> L.



Gambar 1. Biji Anggur (*Vitis vinifera*)

Sumber : Anonim, 2013, www.jurnalasia.com
Keterangan : Buah berbentuk bulat atau agak lonjong, berkulit halus, berwarna ungu hingga ungu kehitaman, mengandung 2-4 biji. Biji berbentuk lonjong berukuran 1-2 cm dan berwarna coklat muda



Gambar 2. Anggur (*Vitis vinifera*)

Sumber : Yuwono, 2015, darsatop.lecture.ub.ac.id

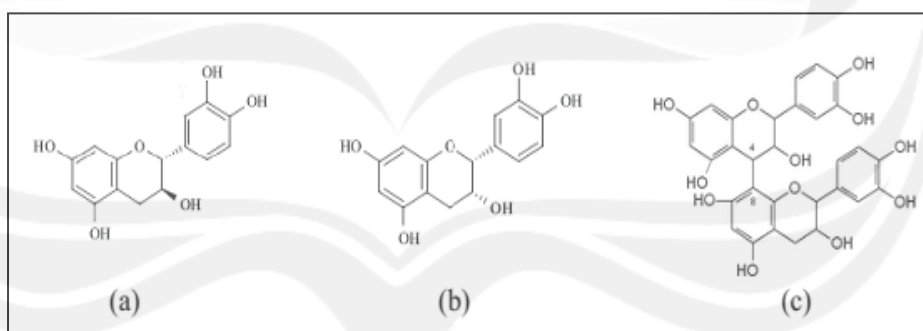
Keterangan: Batang pohon berkayu warna coklat kehijauan, buah berbentuk bulat berwarna ungu kehitaman, daun tunggal berbentuk bulat panjang dan berwarna hijau

Senyawa utama yang terdapat dalam anggur adalah flavonoid, diantaranya proanthocyanidins, anthocyanin dan flavonol. Flavonol ditemukan dalam kulit anggur sebagai glikosida dari kaempferol, quercetin, myricetin dan isorhamnetin. Sedangkan biji anggur mengandung flavan-3-OLS termasuk (+) katekin, (-) epikatekin (EC), (-) epikatekin-3-O-galat, baik sebagai monomer maupun polimer proanthocyanidins. Kulit anggur memiliki konsentrasi flavan-3-ol (monomer proanthocyanidins yang mengandung (-) epigallocatechin) lebih rendah jika dibandingkan dengan biji anggur (Cortell dan Kennedy, 2006).

Pada umumnya biji anggur mengandung 74 -78% oligometrik proantosianidin dan kurang dari 6% berat kering ekstrak biji anggur mengandung flavonoid. Proantosianidin biji anggur merupakan kelompok dari polifenolik bioflavonoid. Warna kemerah-merahan dan rasa

astringen biji anggur dapat mengindikasikan bahwa biji anggur kaya akan komponen polifenol terutama proantosianidin (Perumalla dan Hettiarachchy, 2011).

Biji anggur mengandung 40% serat, 16% minyak, 11% protein, dan 7% fenol kompleks. Senyawa fenolik pada biji anggur dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri untuk menghambat beberapa bakteri patogen (Jayaprakasha dkk., 2002). Biji anggur kaya akan komponen monomer fenolik seperti katekin, epikatekin, epikatekin-3-O-gallat, dan proantosianidin (pada bentuk dimetrik, trimetrik, dan tetrametrik) yang memiliki efek mutagenik dan antivirus (Kim dkk., 2006). Struktur katekin, epikatekin dan dimetrik proantosianidin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia katekin (a), epikatekin (b), dan dimeric proanthocyanidin (c)

Sumber: Shahidi & Nacz, 1995

Efek dari fenolik tergantung pada konsentrasi. Pada konsentrasi rendah, fenolik memengaruhi aktivitas enzim, terutama enzim yang berkaitan dengan produksi energi. Pada konsentrasi tinggi, fenolik dapat menyebabkan denaturasi protein. Peran antioksidan fenolik dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan produksi toksin

menyebabkan komponen ini mampu mengubah permeabilitas sel mikroorganisme, memungkinkan hilangnya makromolekul dalam sel. Fenolik juga dapat berinteraksi dengan protein membran, menyebabkan perubahan struktur dan fungsionalnya. Aktivitas antibakteri komponen fenolik telah terbukti dapat menghambat beberapa jenis bakteri, terutama bakteri gram positif. Secara umum, bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap komponen ini (Davidson dkk., 2005).

Grape Seed Extract/GSE dapat menghambat aktivitas dihidrofolat reduktase dan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* merupakan salah satu patogen yang paling sering menyebabkan infeksi dan penyakit yang ditularkan melalui makanan. Kandungan intraseluler tetrahidrofolat yang merupakan jenis folat yang teridentifikasi dalam *S. aureus* secara bermakna juga menurun jika terpapar oleh GSE (Herman, 2010).

Biji anggur kaya akan komponen monomer fenolik seperti katekin, epikatekin, epikatekin-3-O-gallat, dan dimeric procyanidin yang diketahui dapat berfungsi sebagai antioksidan (Kim dkk., 2006). Selama proses pengeringan, aktivitas antioksidan mengalami perubahan. Penguapan yang terjadi selama proses pengeringan menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan (Pokorny dkk., 2001). Menurut Kim dkk. (2006) pada suhu 50°C aktivitas antioksidan pada biji anggur cenderung menurun dan tidak stabil, dikarenakan suhu tinggi selama proses pengeringan menyebabkan penguapan, sementara senyawa antioksidan mudah menguap.

Zat-zat yang terkandung di dalam *Vitis vinifera* memiliki banyak manfaat di dalam formulasi kosmetik. Seperti yang tertera dalam *International Cosmetics Ingredients Dictionary and Handbook* (2012), *Vitis vinifera* memiliki fungsi sebagai anti-*caries*, anti ketombe, anti fungi, anti mikrobia, antioksidan, agen *flavor*, *light stabilizer*, dan *sunscreen*.

Data *Voluntary Cosmetic Registration Program* (VCRP) dalam FDA (2011) mengindikasikan bahwa ekstrak biji *Vitis vinifera* digunakan pada 463 formulasi kosmetik, ekstrak buah *Vitis vinifera* pada 219 formulasi kosmetik dan ekstrak daun *Vitis vinifera* pada 78 formulasi kosmetik. Tujuh bahan lainnya digunakan pada lebih dari 10 formulasi kosmetik.

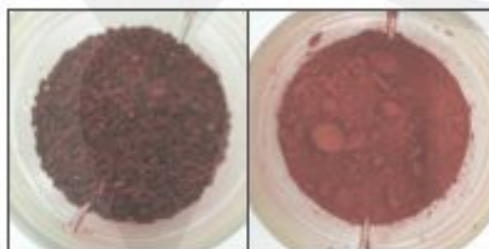
B. Angkak (*Monascus purpureus*)

Angkak merupakan produk hasil fermentasi dengan substrat beras yang menghasilkan warna merah karena aktivitas kapang *Monascus purpureus* sebagai metabolit sekunder (Hidayat dan Saati, 2006). Sejak tahun 1331, di Okinada, angkak telah banyak digunakan sebagai pewarna makanan. Di samping itu angkak dapat pula digunakan untuk mengawetkan daging karena mempunyai sifat antibakteri, mengobati penyakit asma, gangguan saluran cerna, mabuk laut, dan luka memar dalam seni pengobatan China, meningkatkan intensitas warna merah pada pengolahan daging, serta untuk menambah aroma (Hidayat dan Saati,

2006). Berikut klasifikasi kapang *Monascus purpureus* menurut NCBI (2012) :

Kerajaan : Fungi
 Filum : Ascomycota
 Kelas : Eurotiomycetes
 Bangsa : Eurotiales
 Suku : Elaphomycetaceae
 Marga : *Monascus*
 Jenis : *Monascus purpureus*

Pigmen angkak banyak dihasilkan dari beberapa jenis kapang. Beberapa galur yang mampu memproduksi pigmen adalah *Monascus purpureus*, *Monascus rubropunctatus*, *Monascus rubiginosus*, *Monascus major*, *Monascus barkari* dan *Monascus ruber* yang menghasilkan pigmen warna merah. Dari berbagai macam spesies tersebut yang paling umum digunakan adalah *Monascus purpureus*. *Monascus purpureus* juga disebut *Monascus anka* atau *Monascus kaoliang*. Pigmen merah merupakan salah satu warna yang menarik karena warna merah sangat populer pada pewarna makanan dan merupakan warna pigmen yang alami pada makanan (Hidayat dan Saati, 2006).

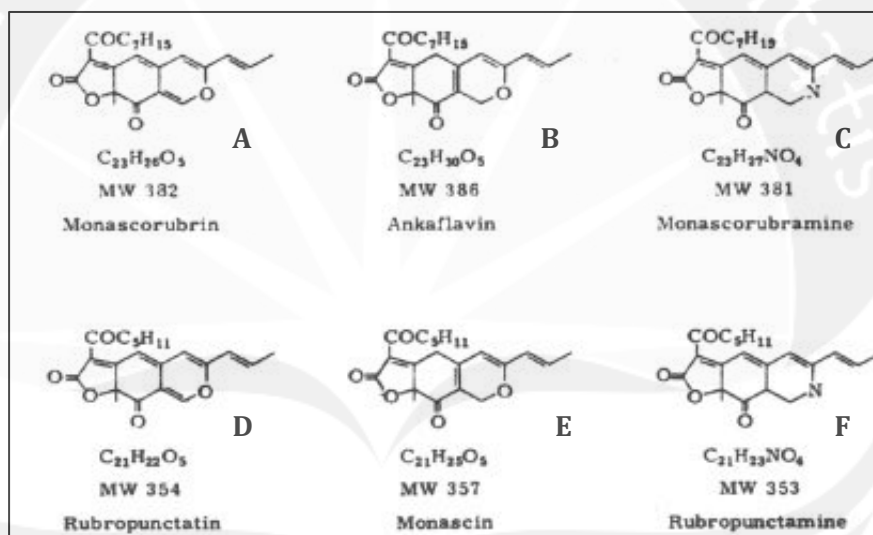


Gambar 4. (Kiri) Beras Angkak sebelum dihaluskan dan (Kanan) Beras Angkak sesudah dihaluskan

Sumber : Dokumentasi pribadi

Keterangan : Beras angkak berbentuk bulir-bulir beras, tekstur rapuh berwarna merah tua. Beras angkak setelah dihaluskan berbentuk serbuk halus berwarna merah

Pigmen *Monascus* dibedakan menjadi dua, yaitu pigmen intraseluler (tidak larut air), dan pigmen ekstraseluler (larut air). Pigmen poliketida *Monascus* disebut juga azaphilone. Ankaflavin dan monascin adalah pigmen kuning. Rubropuktatin dan monaskurubrin adalah pigmen oranye, sedangkan rubropuktamin dan monaskorubramin adalah pigmen coklat. Struktur molekul berbagai pigmen yang dibentuk oleh *Monascus* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur pigmen poliketida *Monascus*

(Sumber: Schmitt dan Blanc, 2001)

Keterangan : (A) Monascorubrin C₂₃H₂₆O₅ (B) Ankaflavin C₂₃H₃₀O₅ (C) Monascorubramine C₂₃H₂₇NO₄ (D) Rubropunctatin C₂₁H₂₂O₅ (E) Monascin C₂₁H₂₆O₅ (F) Rubropunctamine C₂₁H₂₃NO₄

Konsentrasi pigmen dapat diestimasi dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 370, 420, dan 500 nm untuk masing-masing pigmen kuning, oranye, dan merah (Timotius, 2004). Pigmen tersebut dapat membentuk kompleks dengan senyawa-senyawa

lain, misalnya asam glutamat sehingga lebih mudah larut dalam air. Pigmen merah, kuning dan jingga (oranye) tidak larut air, tetapi dapat bereaksi dengan gugus amino yang kemudian menghasilkan cincin piran sehingga larut air (Timotius, 2004). Reaksi pigmen dengan gugus amino membuat daya larutnya pada air tinggi. Wong dkk., (1981) melaporkan bahwa perubahan warna terjadi bila pigmen oranye bereaksi dengan asam amino tertentu sehingga terbentuk pigmen merah. Kapang menghasilkan pigmen yang tidak toksik dan tidak mengganggu sistem kekebalan tubuh (Fardiaz dan Zakaria, 1996).

C. Lipstik

Definisi kosmetik adalah sediaan atau paduan bahan yang siap untuk digunakan pada bagian luar badan seperti epidermis, rambut, kuku, bibir, gigi, dan rongga mulut antara lain untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit (Tranggono dan Latifah, 2007).

Lipstik merupakan pewarna bibir yang dikemas dalam bentuk batang padat (*roll up*) yang dibentuk dari minyak, lilin dan lemak. Hakekat fungsinya adalah untuk memberikan warna bibir menjadi merah, yang dianggap akan memberikan ekspresi wajah sehat dan menarik (Ditjen POM, 1985). Tetapi kenyataannya warna lain pun mulai digemari orang, sehingga corak warnanya sekarang sangat bervariasi mulai dari warna

kemudahan hingga warna sangat tua dengan corak warna dari merah jambu, merah jingga, hingga merah biru, bahkan ungu (Anonim, 1985).

Lipstik terdiri dari zat warna yang terdispersi dalam pembawa yang terbuat dari campuran lilin dan minyak dalam komposisi yang sedemikian rupa sehingga dapat memberikan suhu lebur dan viskositas yang dikendaki. Suhu lebur lipstik yang ideal sesungguhnya diatur hingga suhu yang mendekati suhu bibir, bervariasi antara 36-38°C. Tetapi karena harus memperhatikan faktor ketahanan terhadap suhu cuaca sekelilingnya, terutama suhu daerah tropik, suhu lebur lipstik dibuat lebih tinggi, biasanya berkisar antara 55-75°C (Anonim, 1985).

Adapun persyaratan untuk lipstik menurut Tranggono dan Latifah (2007) adalah : (1) Melapisi bibir secara mencukupi, (2) Dapat bertahan di bibir selama mungkin, (3) Cukup melekat pada bibir, tetapi tidak sampai lengket, (4) Tidak mengiritasi atau menimbulkan alergi pada bibir, (5) Melembabkan bibir dan tidak mengeringkannya, (6) Memberikan warna yang merata pada bibir, (7) Penampilannya harus menarik, baik warna maupun bentuknya, dan (8) Tidak meneteskan minyak, permukaannya mulus, tidak bopeng atau berbintik-bintik, atau memperlihatkan hal-hal lain yang tidak menarik.

Penentuan formula lipstik dilakukan untuk mendapatkan formula lipstik yang tidak mudah patah dan memiliki warna yang homogen. Terdapat dua formula lipstik yang digunakan sebagai acuan dalam penelitian ini. Formulasi lipstik dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Formula lipstik herbal

Bahan	Fungsi	Kuantitas (gram)			
		F1	F2	F3	F4
Castor oil	Pelarut dan Pengental	43,75	37	45	15
Beeswax	Pengeras	18,75	17	20	35
Lanolin	Pengikat basis	15,6	14,5	12	27
Propilen glikol	<i>Slipping agent</i>	6,25	9	8,5	7
Ekstrak akar Bit	Pewarna	12,5	20	10	13
Esens vanila	Presevatif dan Parfum	3	2,5	4	3
Air lemon	Antioksidan	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.

Sumber : Pharmaceutical and Biomedical Research (2014)

Tabel 2. Formula basis lipstik

<i>Paraffin wax</i>	30%
<i>Beeswax</i>	15%
<i>White petrolatum jelly</i>	35%
<i>Technical white oil</i>	20%

Sumber : Wilkinson dan Moore (1982)

D. Bahan Pembuatan Lipstik

a. Komponen Utama

1. Minyak

Minyak adalah salah satu komponen dalam basis lipstik yang berfungsi untuk melarutkan atau mendispersikan zat warna. Minyak yang sering digunakan antara lain minyak jarak atau oleum ricini atau *castor oil*, minyak mineral, dan minyak nabati lain. *Castor oil* adalah minyak lemak yang diperoleh dengan perasan dingin biji *Ricinus communis* L. yang telah dikupas. Pemerianaanya berupa cairan kental, jernih, kuning pucat atau hampir tidak berwarna, bau lemah, rasa manis dan agak pedas. Kelarutannya yaitu larut dalam kloroform, dietileter, etanol, asam asetat glasial, dan methanol. Mudah larut pada etanol 95% dan petroleum eter,

susah larut di air dan praktis tidak larut pada minyak mineral kecuali dicampurkan dengan *vegetable oil* (Rowe dkk., 2009).

Dalam sediaan farmasi biasanya digunakan pada krim topikal dan semi solid lainnya dengan konsentrasi 5-12,5%. Kelebihan dari *castor oil* yakni jika digunakan pada lipstik adalah memberikan viskositas yang tinggi sehingga memperlambat terjadinya pengendapan zat warna. *Castor oil* biasa digunakan pada kosmetik, makanan atau sediaan farmasi baik secara oral, parental dan topikal serta termasuk kedalam senyawa non iritan dan non toksik (Rowe dkk., 2009). Pada lipstik, *castor oil* dapat mencegah proses pengendapan yang mungkin terjadi pada pigmen saat proses preparasi. *Castor oil* dapat membuat lapisan film pada bibir (Jellinek, 1970).

2. Lilin

Lilin digunakan untuk memberi struktur batang yang kuat pada lipstik dan menjaganya tetap padat walau dalam keadaan hangat. Campuran lilin yang ideal akan menjaga lipstik tetap padat setidaknya pada suhu 50°C dan mampu mengikat fase minyak agar tidak ke luar atau berkeringsat, tetapi juga harus tetap lembut dan mudah dioleskan pada bibir dengan tekanan serendah mungkin. Lilin yang digunakan antara lain *carnauba wax*, *candelilla wax*, *beeswax*, *ozokerites*, *spermaceti* dan setil alkohol (Tranggono dan Latifah, 2007).

Beeswax merupakan lilin lebah yang telah diputihkan. *Beeswax* mengandung 70-75% campuran ester dan ikatan alkohol monohidrat. Biasanya *beeswax* digunakan untuk meningkatkan konsistensi pada sediaan krim dan salep. Dapat juga digunakan untuk menstabilkan emulsi air dan minyak. *Beeswax* meleleh pada suhu 61-65°C dan tidak larut air (Rowe dkk., 2009). *Beeswax* merupakan konstituen yang penting dalam sediaan lipstik karena dapat membuat lipstik menjadi keras dan menstabilkan sistem *thixotropic*. Terlalu banyak *beeswax* dapat membuat produk bergranul dan kusam (Jellinek, 1970).

Kualitas lipstik ditentukan oleh komponen penyusun basis lemak lipstik. Tekstur, kilap dan bau erat hubungannya dengan konsentrasi lilin dalam lipstik. Berdasarkan penelitian Perdanakusuma dan Wulandari (2005) untuk menghasilkan lipstik dengan sifat fisik terbaik tergantung pada pemberian konsentrasi basis lipstik yang tepat, dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kualitas Lipstik pada Perlakuan Konsentrasi Malam Lebah yang Berbeda

Peubah	Konsentrasi malam lebah (%)			
	15	25	35	45
Kekerasan	-	-	-	*#
Titik leleh	#	#	#	#
Tekstur	*	*	-	-
Kilap	*	*	-	-
Bau	-	-	-	*
Warna	*	*	*	*
Daya oles	-	*	-	-
Jumlah	4	5	2	4

Keterangan :

* = terbaik

= memenuhi standar (kekerasan menurut ASTM, 1979 dan titik leleh menurut Departemen Kesehatan RI, 1993)

- = tidak memenuhi syarat

Berdasarkan tabel di atas lipstik dengan kualitas sifat fisik terbaik adalah lipstik dengan konsentrasi malam lebih 25%, meliputi titik leleh, tekstur, kilap, warna dan daya oles.

3. Lemak

Lemak yang biasa digunakan adalah campuran lemak padat yang berfungsi untuk membentuk lapisan film pada bibir, memberi tekstur yang lembut, meningkatkan kekuatan lipstik dan dapat mengurangi efek berkeringsat dan pecah pada lipstik (Jellineck, 1970). Fungsinya yang lain dalam proses pembuatan lipstik adalah sebagai pengikat dalam basis antara fase minyak dan fase lilin dan sebagai bahan pendispersi untuk pigmen. Lemak padat yang biasa digunakan dalam basis lipstik adalah lemak coklat, lanolin, lesitin, minyak nabati terhidrogenasi, dan lain-lain (Jellineck, 1970).

4. Zat warna

Zat warna dalam lipstik dibedakan atas dua jenis yaitu *staining dye* dan pigmen. *Staining dye* merupakan zat warna yang larut atau terdispersi dalam basisnya, sedangkan pigmen merupakan zat warna yang tidak larut tetapi tersuspensi dalam basisnya (Balsam, 1972). Kedua macam zat warna ini masing-masing memiliki arti tersendiri, tetapi dalam lipstik keduanya dicampur

dengan komposisi sedemikian rupa untuk memperoleh warna yang diinginkan (Balsam, 1972).

b. Zat Tambahan

Zat tambahan dalam lipstik adalah zat yang ditambahkan dalam formula lipstik untuk menghasilkan lipstik yang baik, yaitu dengan cara menutupi kekurangan yang ada tetapi dengan syarat zat tersebut harus inert, tidak toksik, tidak menimbulkan alergi, stabil, dan dapat bercampur dengan bahan-bahan lain dalam formula lipstik. Zat tambahan yang digunakan yaitu antioksidan, pengawet dan parfum (Senzel, 1977).

1. Antioksidan

Antioksidan digunakan untuk melindungi minyak dan bahan tak jenuh lain yang rawan terhadap reaksi oksidasi. BHT, BHA dan vitamin E adalah antioksidan yang paling sering digunakan (Poucher, 2000). Antioksidan yang digunakan harus memenuhi syarat (Wasitaatmadja, 1997):

- a. Tidak berbau
- b. Tidak berwarna
- c. Tidak toksik
- d. Tidak berubah meskipun disimpan lama

2. Pengawet

Kemungkinan bakteri atau jamur untuk tumbuh di dalam sediaan lipstik sebenarnya sangat kecil karena lipstik tidak mengandung air. Akan tetapi ketika lipstik diaplikasikan pada bibir kemungkinan terjadi kontaminasi pada permukaan lipstik sehingga

terjadi pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu perlu ditambahkan pengawet di dalam formula lipstik. Pengawet yang sering digunakan yaitu metil paraben dan propil paraben (Poucher, 2000).

3. Parfum

Parfum digunakan untuk memberikan bau yang menyenangkan, menutupi bau dari lemak yang digunakan sebagai basis, dan dapat menutupi bau yang mungkin timbul selama penyimpanan dan penggunaan lipstik (Balsam, 1972).

Minyak mawar adalah minyak atsiri yang diperoleh dari penyulingan uap bunga segar *Rosa gallica* L., *Rosa damascena* Miller, *Rosa alba* L., dan varietas Rosa lainnya. Pemerianaanya yaitu berupa cairan tidak berwarna atau kuning, jika didinginkan perlahan-lahan berubah menjadi massa hablur bening yang jika dipanaskan akan mudah melebur, mempunyai bau menyerupai bunga mawar, rasa khas, pada suhu 25°C kental. Oleum rosae larut dalam kloroform dan berat jenisnya yaitu antara 0,848 sampai 0,863 (Anonim, 1979).

E. Proses Pembuatan Lipstik

Menurut Nowack (1985), secara umum metode pembuatan lipstik adalah pencetakan hasil leburan menurut tahapan berikut ini :

1. Pelarutan zat warna dalam fase minyak. Proses pelarutan ini bila perlu dapat dibantu dengan pemanasan untuk mendapatkan hasil yang lebih baik.
2. Penyiapan komponen basis lemak dan lilin dengan teknik peleburan/pelelehan, penyaringan (bila perlu), dan pengadukan. Komponen basis tersebut dapat dilelehkan bersamaan dalam satu wadah, tetapi sebaiknya dipisahkan antara lilin dan lemak, setelah keduanya melebur, baru dicampur.
3. Pendispersian zat warna ke dalam campuran basis lemak dan lilin yang telah dilebur dengan pengadukan sampai homogen, setelah suhu turun ditambahkan pengharum.
4. Pencetakan lipstik. Setelah dicetak, lipstik akan segera membeku dan siap untuk dikemas.

F. Syarat Mutu Lipstik

Imron (1985) mengemukakan kriteria lipstik yang baik sebagai berikut: (1) tidak berbahaya pada kulit, (2) bentuk dan warna harus menarik, halus dan homogen, (3) tidak boleh rapuh, terlalu keras, dan terlalu lunak karena adanya pengaruh suhu, (4) tidak boleh ada pemisahan, mudah digunakan, dapat membentuk lapisan yang stabil, tidak kering, dan mudah dihapus.

Lipstik yang baik selain memenuhi kriteria di atas juga harus memenuhi persyaratan mutu yang terdapat di SNI 16-4769-1998. Syarat mutu lipstik dalam SNI 16-4769-1998 dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Syarat mutu lipstik dalam SNI 16-4769-1998

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Penampakan	-	Baik
2.	Suhu lebur	°C	50-70
3.	Pewarna		Sesuai Permenkes No. 376/Menkes/Per/VIII/1990
4.	Pengawet		Sesuai Permenkes No. 376/Menkes/Per/VIII/1990
5.	Cemaran Mikrobia		
	Angka Kapang/Khamir	Koloni/g	Negatif
	Angka Lempeng Total	Koloni/g	Maks. 10^2
	<i>S. aureus</i>	Koloni/g	Negatif
	<i>P. aeruginosa</i>	Koloni/g	Negatif

Sumber : SNI (1998)

G. Deskripsi Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri digolongkan menjadi Gram positif dan Gram negatif berdasarkan reaksinya terhadap pewarnaan Gram. Perbedaan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif diperlihatkan dari perbedaan dinding sel. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku (Jawetz dkk., 2001). Kekakuan pada dinding sel bakteri ini membuat bakteri Gram positif resisten terhadap lisis osmotik. Bakteri Gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa* terdiri atas satu atau sangat sedikit lapisan peptidoglikan pada dinding selnya.

Selain itu dinding sel bakteri Gram negatif tidak mengandung asam teikoik tetapi mengandung sejumlah polisakarida dan lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia (Jawetz dkk., 2001).

Menurut Bergey (1998), klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Monera
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Bangsa : Bacillales
Suku : Staphylococcaceae
Marga : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz dkk., 1995).

Staphylococcus merupakan penyebab penting penyakit pada manusia. Dalam keadaan normal terdapat di saluran pernapasan atas, kulit, saluran cerna dan vagina. Orang yang sehat juga dapat menyebarkan *Staphylococcus* ke kulit dan pakaiannya sendiri dengan cara bersin atau melalui tangan yang terkontaminasi (Wistreich, 1999). *Staphylococcus*

aureus merupakan bakteri yang bersifat patogen. Infeksi kulit dan luka terbuka seperti ulkus, bekas terbakar, dan luka bekas operasi memperbesar kemungkinan terinfeksi bakteri ini dan berakibat infeksi sistemik (Wistreich, 1999).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif yang dapat menyebabkan penyakit pada hewan dan manusia (Goretti dan Mangihot, 2013). Dalam jumlah kecil *Pseudomonas aeruginosa* sering terdapat dalam flora usus normal dan pada kulit manusia dan merupakan patogen utama dari kelompoknya. *Pseudomonas* ditemukan secara luas di tanah, air, hewan, tumbuhan dan akan tumbuh dengan baik pada tempat yang banyak mengandung unsur nitrogen maupun karbon (Goretti dan Mangihot, 2013). Kelompok *Pseudomonas* bersifat aerob, beberapa diantaranya menghasilkan pigmen yang larut dalam air. Bakteri aerob ini mensekresikan beberapa jenis pigmen, diantaranya pyocyanin (hijau-biru), fluorescin (kuning-hijau) dan pyorubin (merah-coklat). Bakteri ini dapat tumbuh tanpa oksigen jika tersedia NO_3 sebagai akseptor elektron. *Pseudomonas aeruginosa* mempunyai flagella polar sehingga bakteri ini bersifat motil, berukuran 0,5-1,0 μm (Goretti dan Mangihot, 2013).

Pseudomonas aeruginosa resisten terhadap beberapa antibiotik dan tumbuh baik pada suhu 37-42°C. Bakteri ini oksidase positif dan tidak memfermentasikan karbohidrat (Bergey dkk., 1994). *Pseudomonas aeruginosa* mampu tumbuh di lingkungan yang mengandung oli dan bahan bakar minyak lainnya, sehingga bakteri ini dapat digunakan untuk

mendegradasi polutan hidrokarbon (Jawetz dkk., 2004). Kedudukan taksonomi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut (Bergey dkk., 1994):

Kerajaan : Bacteria
Divisi : Proteobacteria
Kelas : Proteobacteria
Bangsa : Pseudomonadales
Suku : Pseudomonadaceae
Marga : Pseudomonas
Jenis : *Pseudomonas aeruginosa*

H. Antibakteri

Antibakteri atau antimikroba adalah bahan yang dapat membunuh atau menghambat aktivitas mikroorganisme dengan bermacam-macam cara. Senyawa antimikroba terdiri atas beberapa kelompok berdasarkan mekanisme daya kerja atau tujuan penggunaannya. Bahan antimikroba secara fisik atau kimia dan berdasarkan peruntukannya dapat berupa desinfektan, antiseptik, sterilizer, sanitizer dan sebagainya (Lutfi, 2004).

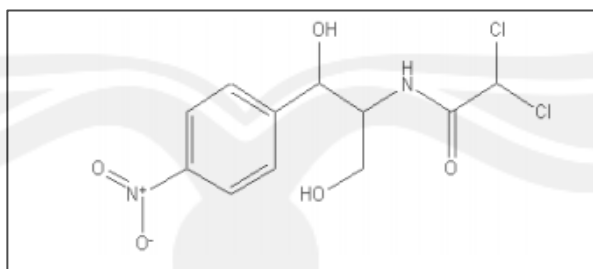
Bahan kimia yang digunakan dalam pengobatan kemoterapeutik menjadi pilihan bila dapat mematikan dan bukan hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan kimia yang mematikan bakteri disebut bakterisidal, sedangkan bahan kimia yang menghambat pertumbuhan disebut bakteriostatik. Bahan antimikroba dapat bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah namun bersifat bakteriosidal pada konsentrasi tinggi (Lay, 1994).

Aktivitas antimikroba suatu senyawa kimia ditentukan oleh konsentrasi dan sifat dari bahan yang digunakan. Umumnya hampir semua

senyawa kimia pada konsentrasi yang sangat tinggi dapat bersifat racun. Mekanisme daya kerja antimikroba terhadap sel dapat dibedakan atas beberapa kelompok sebagai berikut (Lutfi, 2004):

1. Merusak dinding sel
2. Mengganggu permeabilitas sel
3. Merusak molekul protein dan asam nukleat
4. Menghambat aktivitas enzim
5. Menghambat sintesa asam nukleat

Kloramfenikol adalah antibiotik yang diisolasi pertama kali pada tahun 1947 dari *Streptomyces venezuelae*. Penggunaan obat ini meluas dengan cepat karena mempunyai daya antibiotik yang kuat. Pada tahun 1950, diketahui bahwa antibiotik ini dapat menimbulkan anemia aplastik yang fatal sehingga penggunaannya dibatasi (Mycek dkk., 1992). Struktur kimia kloramfenikol dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur kimia kloramfenikol
Sumber: Departmen Kesehatan RI (1995)

Kloramfenikol bekerja menghambat sintesis protein pada sel bakteri. Kloramfenikol akan berikatan secara reversible dengan unit ribosom 50 S, sehingga mencegah ikatan asam amino dengan ribosom. Obat ini berikatan secara spesifik dengan akseptor (tempat ikatan awal dari

amino asil t-RNA) atau pada bagian peptidil, yang merupakan tempat ikatan kritis untuk perpanjangan rantai peptida (Setiabudy dkk, 1995; Katzung, 1998).

Kloramfenikol merupakan antibiotik dengan spektrum luas yang efektif terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Bacillus spp*, *Listeria*, *Bartonella*, *Brucella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Rickettsia*, *Treponema*, dan kuman anaerob seperti *Bacillus fragilitis*. Kloramfenikol umumnya bersifat bakteriostatik tetapi pada konsentrasi tinggi terkadang bersifat bakteriosidal (Setiabudy dkk, 1995; Katzung, 1998).

Beberapa galur *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza*, dan *Neisseria meningitidis* telah resisten terhadap antibiotik ini. *S. aureus* umumnya sensitif terhadap antibiotik ini, sedangkan kebanyakan Enterobacteriaceae telah resisten. Kebanyakan galur *Serratia*, *Providencia*, *Proteus retgerii*, *Pseudomonas aeruginosa* dan galur tertentu *Salmonella typhii* juga resisten terhadap kloramfenikol (Setiabudy dkk, 1995).

I. Parameter Aktivitas Antibakteri pada Ekstrak Biji Anggur dan Ekstrak Angkak Terhadap Bakteri Uji

1. Zona Hambat

Menurut Cappuccino dan Sherman (2011) metode standar dalam mengetahui kerentanan mikrobia penyebab penyakit terhadap obat disebut dengan metode Kirby-Bauer. Prinsipnya adalah pengukuran potensi antibakteri berdasarkan pengamatan

diameter daerah hambatan bakteri karena berdifusinya obat dari titik awal pemberian ke daerah difusi. Lubang sumuran atau silinder tak beralas yang mengandung senyawa antibakteri diletakkan di atas medium lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi, diameter daerah hambatan jernih yang mengelilingi senyawa antibakteri dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan senyawa tersebut terhadap bakteri uji (Jawetz dkk., 1996).

2. Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil (pengenceran terbesar) suatu senyawa yang masih menghambat pertumbuhan bakteri. KHM sangat penting untuk menentukan dosis efektif terkecil dari obat dan memberikan indeks perbandingan dengan obat yang lain. Aktivitas antibakteri ditentukan oleh spektrum kerja, cara kerja dan ditentukan pula oleh konsentrasi hambat minimum (Tristiyanto, 2009). Menurut Quinto dan Santos (2005), KHM dapat dilakukan dengan metode seri pengenceran, yaitu ekstrak tanaman dengan konsentrasi berbeda disiapkan di dalam medium cair pada tabung reaksi, kemudian diujikan pada mikrobia uji. Setelah periode inkubasi, tabung reaksi dianalisis dengan melihat ketidakhadirannya atau tidak tumbuhnya mikrobia uji. Pertumbuhan mikrobia dapat dilihat dari kekeruhan

mediumnya, terdapatnya sedimen dengan warna *cream* dibawah tabung atau adanya lapisan pada permukaan medium.

J. Uji Antimikroba pada Sediaan Lipstik

1. Angka Lempeng Total (ALT)

Metode kuantitatif digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada suatu sampel, umumnya dikenal dengan Angka Lempeng Total (ALT). Uji ALT merupakan metode untuk menghitung angka cemaran bakteri aerob mesofil yang terdapat dalam sampel dengan metode cara tuang (*pour plate*) pada medium padat dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 35-45°C dengan posisi dibalik. Menurut Cappucino (2008) dipilih suhu antara 35-45°C karena pada suhu ini bakteri aerob mesofilik dapat tumbuh baik. Metode yang digunakan antara lain *pour plate*, *spread plate* dan metode tetes. Prinsip pengujian ini yaitu pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah cuplikan diinokulasikan pada medium lempeng agar dengan cara tuang dan diinkubasi pada suhu yang sesuai.

2. Angka Kapang/Khamir

Salah satu parameter keamanan kosmetik adalah angka kapang/khamir. AKK adalah jumlah koloni kapang dan khamir yang tumbuh dari cuplikan yang diinokulasikan pada medium yang sesuai setelah inkubasi selama 3-5 hari dalam suhu 20-25°C.

Tujuan dilakukannya uji AKK adalah memberikan jaminan bahwa sediaan obat tradisional tidak mengandung cemaran fungi melebihi batas yang ditetapkan karena memengaruhi stabilitas dan aflatoxin yang berbahaya bagi kesehatan. Prinsip uji AKK yaitu pertumbuhan kapang/khamir setelah cuplikan diinokulasikan pada media yang sesuai dan diinkubasi pada suhu 20-25° C dan diamati mulai hari ketiga sampai hari kelima. Medium yang digunakan adalah *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) atau *Potato Dextrose Agar* (PDA). Setelah diinkubasi, kemudian dihitung koloni yang tumbuh dengan *colony counter* (Radji, 2010) dan dinyatakan dalam koloni/ml (DepKes RI, 2000).

Khamir atau yeast adalah kelompok fungi uniseluler yang bersifat mikroskopik. Ada beberapa genus khamir yang dapat membentuk miselium dengan percabangan. Khamir dapat bersifat patogen pada manusia dan binatang bersel satu. Khamir tersebar di alam, tetapi tidak seluas daerah penyebaran bakteri. Pada umumnya khamir mempunyai ukuran sel yang lebih besar dibandingkan bakteri. Ukuran lebar khamir sekitar 1-5 mikron dan panjangnya sekitar 5-30 mikron (Tarigan, 1988). Khamir tidak mempunyai flagel dan organel lain untuk melakukan pergerakan. Beberapa bentuk khamir yaitu bulat, elips atau bulat telur dan batang. Khamir bersifat fakultatif artinya dapat hidup dalam keadaan aerob maupun anaerob. Pertumbuhan khamir mula-mula berwarna putih, tetapi

jika spora telah timbul akan terbentuk berbagai warna tergantung dari jenis kapang (Radji, 2010).

K. Hipotesis

H₀ Kombinasi konsentrasi ekstrak biji anggur 1,5% dan konsentrasi ekstrak angkak 8% dapat menghasilkan sediaan lipstik dengan kualitas terbaik.

H₁ Kombinasi konsentrasi ekstrak biji anggur kurang dari atau lebih dari 1,5% dan ekstrak angkak kurang dari atau lebih dari 8% dapat menghasilkan sediaan lipstik dengan kualitas terbaik.