

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini merupakan studi eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui profil angka kapang khamir (AKK) dan angka lempeng total (ALT) pada sediaan emulgel dengan variasi konsentrasi *polyacrylate crosspolymer-6*. Rancangan penelitian ini melibatkan pengujian *total yeast and mold count* (TYMC) dan *total plate count* (TPC) guna menilai kualitas mikrobiologi dari sediaan yang dihasilkan. (Budi Santoso, 2021) Hasil perhitungan kemudian dibandingkan dengan standar yang ditetapkan oleh badan pengawas obat dan makanan (BPOM) guna mengevaluasi kelayakan mikrobiologi sediaan. Penelitian ini bertujuan untuk menjamin bahwa emulgel yang dihasilkan aman dari potensi kontaminasi mikroorganisme. (Dwisari Pulung, 2021)

4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *polyacrylate crosspolymer-6* dengan konsentrasi 0,5%, 0,75%, 1% pada emulgel ceramide dan minyak jagung

4.2.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini yaitu hasil dari uji angka kapang khamir (AKK) dan angka lempeng total (ALT) sediaan emulgel ceramide dan minyak jagung

4.3 Definisi Operasional

1. Emulgel merupakan formulasi semisolid yang menggabungkan sifat emulsi dan gel, bertujuan untuk meningkatkan stabilitas serta efektivitas bahan aktif. *polyacrylate crosspolymer-6* berperan sebagai agen pengental untuk menciptakan sediaan dengan viskositas, daya sebar, daya lekat, dan stabilitas yang optimal. Ceramide bekerja sebagai pelembap yang memperkuat lapisan pelindung kulit, sementara minyak jagung (*Zea mays* L.) mengandung vitamin E yang dapat bertindak sebagai agen antioksidan.
2. *Total plate count* (TPC) atau angka lempeng total (ALT) adalah teknik yang digunakan untuk menentukan jumlah bakteri mesofil dalam setiap 1 ml atau

1gram sampel. Uji TPC dilakukan dengan metode tuang (*pour plate*), di mana sampel emulgel yang telah diencerkan (jika diperlukan) ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan, menggunakan metode tuang (*pour plate*).

3. *Total yeast and mold count* (TYMC) atau angka kapang khamir (AKK) merupakan metode untuk menentukan jumlah mikroba yang termasuk dalam golongan fungi, baik yang multiseluler maupun uniseluler. Pengujian AKK dilakukan dengan cara menuangkan sampel emulgel yang telah diencerkan (jika diperlukan) ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan, menggunakan metode tuang (*pour plate*).

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

4.4.1 Tempat penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di laboratorium teknologi Universitas Muhammadiyah Malang dan Laboratorium Saraswanti Indo Genetech Semarang.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Mei 2025 sampai dengan bulan Juli 2025

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan

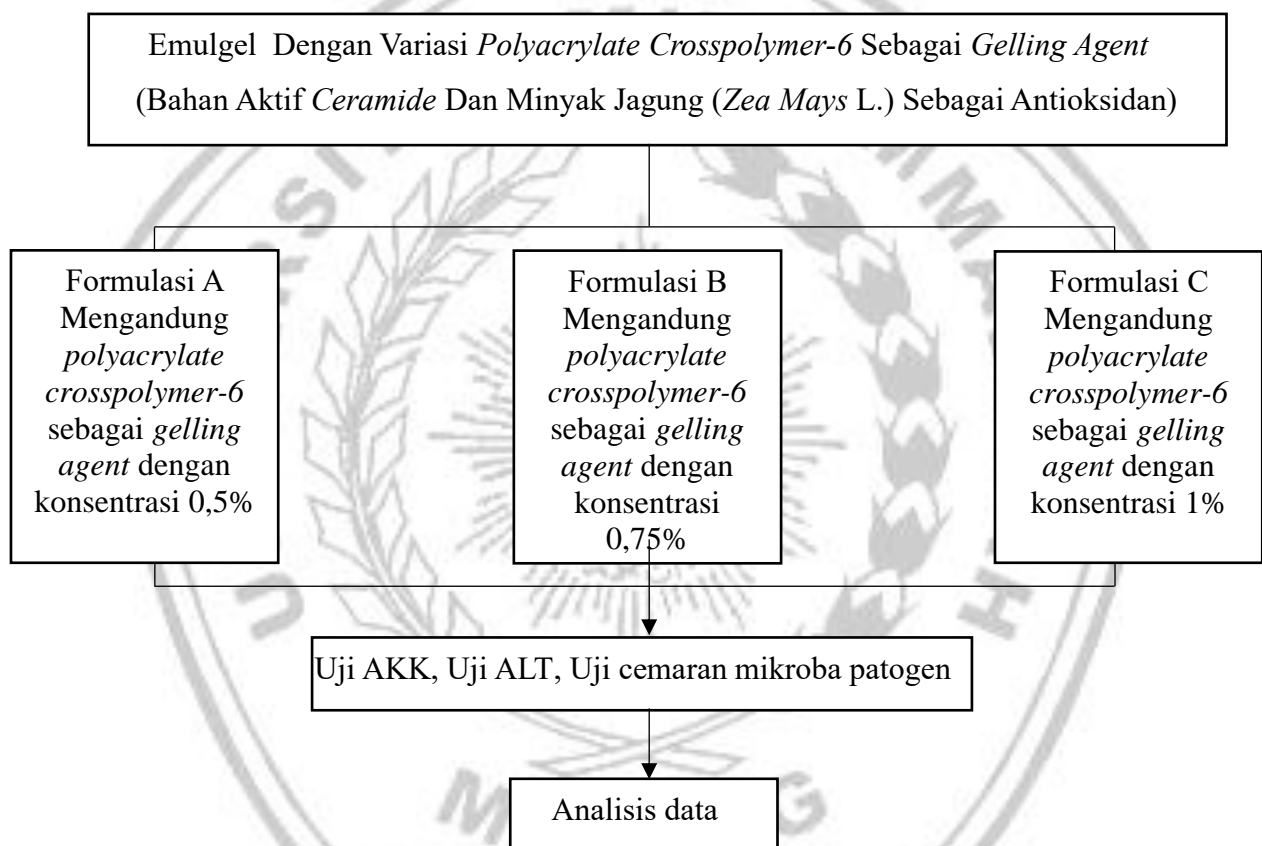
Bahan yang digunakan meliputi sampel emulgel, media *plate count agar* (PCA), media *potato dextrose agar* (PDA), *buffered peptone water* (BPW), Kloramfenikol dan alkohol 70%. (Dwisari Pulung, 2021)

4.5.2 Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam proses ini meliputi timbangan analitik, tisu/lab/*alcohol swap*, perkamen/kertas coklat/kertas buram, *sterile pouch*, bunsen & pemantik, mikropipet, tip mikropipet 1ml (blue), spatula besi, cawan petri, *beakerglass* 500 ml, *beakerglass* 250 ml, erlenmayer 500 ml, erlenmayer 250 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *vortex*, *hot plate magnetic stirrer/hot plate*, batang pengaduk, gelas ukur 10 ml, gelas ukur 25 ml, gelas ukur 500 ml, aluminium foil, plastik *wrapping*, label, tali benang, tisu, *syringe filter* 0,45 mikron, spuit 10 cc. (Setyawati, 2020)

4.6 Metode Kerja

Penelitian ini mengkaji sediaan emulgel dengan beragam konsentrasi *polyacrylate crosspolymer-6* sebagai agen pengental. Tiga formulasi yang berbeda akan diuji, yaitu Formula A yang mengandung *polyacrylate crosspolymer-6* sebagai gelling agent dengan konsentrasi 0,5%, formula B dengan konsentrasi 0,75%, dan formula C dengan konsentrasi 1%. Setiap formulasi akan diuji jumlah pertumbuhan mikroba dan jamur menggunakan metode *pour plate* yang telah dijelaskan sebelumnya. Pengujian ini bertujuan untuk menilai kualitas mikrobiologi emulgel dan memastikan keamanannya dari kontaminasi mikroorganisme.



4.7 Rancangan Formulasi Emulgel

Formulasi emulgel yang dibuat dalam tiga variasi formulasi dengan masing-masing jumlah 100 mL. Setiap formulasi dirancang dengan perbedaan konsentrasi *polyacrylate crosspolymer-6* sebagai *gelling agent*, serta mengandung bahan aktif ceramide dan minyak jagung (*Zea mays L.*) sebagai antioksidan. Rancangan ini bertujuan untuk menentukan formulasi terbaik berdasarkan karakteristik fisik dan stabilitas sediaan.

Tabel 2. Rancangan (%) Formulasi Emulgel Ceramide Dan Minyak Jagung (Zea Mays.L)

Bahan	Fungsi	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
Ceramide	Zat Aktif	1	1	1
Minyak Jagung	Emolient	10	10	10
Propilen Glikol	Humektan	15	15	15
Cremophor	Emulgator	10	10	10
Polyacrylate Crosspolymer-6	Gelling Agent	0,5	0,75	1
Phenoxyethanol	Preservative	0,5	0,5	0,5
Na EDTA	Pengkelat	0,1	0,1	0,1
Aqua destilata	Solvent	Ad 100	Ad 100	Ad 100

4.8 Pembuatan emulgel

4.8.1 Pembuatan emulsi

A. Pembuatan Fase Air

Disiapkan aquadest, campurkan propilen glikol, *polyacrylate crosspolymer-6*, Na EDTA, dan *phenoxyethanol* ke dalam beaker glass, aduk dengan magnetic stirrer, ad larut

Setelah larut, pisahkan campuran menjadi dua bagian

1. Campuran 1 digunakan untuk pembuatan basis gel
2. Campuran 2 digunakan untuk pembuatan emulsi

B. Pembuatan Basis Gel

Diambil bagian fase air yang akan digunakan untuk basis gel

Ditambahkan *polyacrylate crosspolymer-6* secara perlahan sambil diaduk

Didiamkan 15-30 menit ad membentuk massa gel

↓
 Diaduk perlahan hingga gel stabil dan homogen

C. Pembuatan Fase Minyak Dan Emulsi

↓
 Disiapkan fase minyak dalam beaker glass

↓
 Diaduk fase minyak (minyak jagung (*Zea mays* L.), *ceramide*, dan kremofor) menggunakan homogenizer

↓
 Ditambahkan bagian fase air (aquadest, propilen glikol, *polyacrylate crosspolymer-6*, Na-EDTA, dan *phenoxyethanol*) yang digunakan untuk pembuatan emulsi sedikit demi sedikit

↓
 Proses pengadukan dilakukan pada kecepatan 500 rpm selama 60 menit hingga terbentuk emulsi yang stabil.

↓
 Dengan menggunakan magnetic stirrer, basis gel ditambahkan secara bertahap sambil diaduk perlahan.

↓
 Cek pH sediaan (rentang 4,5-6,5)

↓
 Dimasukkan sediaan ke dalam wadah emulgel

Prosedur pembuatan sediaan emulgel dimulai dengan pembuatan fase air, di mana aquadest dicampurkan dengan propilen glikol, *polyacrylate crosspolymer-6*, Na-EDTA, dan *phenoxyethanol* dalam beaker glass, lalu diaduk menggunakan magnetic stirrer hingga larut. Setelah larut, campuran ini dibagi menjadi dua tahap, tahap pertama digunakan untuk pembuatan basis gel dan tahap lainnya untuk pembuatan emulsi. Pada tahap pembuatan basis gel, bagian fase air yang telah dipisahkan ditambahkan *polyacrylate*

crosspolymer-6 secara perlahan sambil diaduk, kemudian didiamkan selama 15-30 menit hingga membentuk massa gel. Setelah itu, gel diaduk perlahan hingga stabil dan homogen. Selanjutnya, fase minyak yang terdiri dari minyak jagung (*Zea mays* L.), ceramide, dan kremofor disiapkan dalam *beaker glass*, lalu diaduk menggunakan *homogenizer*. Bagian fase air yang telah dipisahkan untuk emulsi kemudian di campur perlahan ke fase minyak sambil campur dengan kecepatan 5000 rpm selama 60 menit hingga terbentuk emulsi yang stabil. Setelah emulsi terbentuk, dengan menggunakan magnetic stirrer, basis gel ditambahkan secara bertahap sambil diaduk perlahan. Terakhir, pH emulgel diperiksa agar berada dalam rentang 4,5 - 6,5, kemudian sediaan dimasukkan ke dalam wadah emulgel.

4.9 Prosedur Penelitian Dalam Produk Kosmetik Sesuai Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor Hk.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011

a. Sterilisasi Alat

Sterilisasi bertujuan membersihkan alat-alat laboratorium dari kemungkinan kontaminasi mikroorganisme. Peralatan berbahan gelas disiapkan dengan cara dibungkus kertas. Proses ini dilakukan dengan memanaskan alat di dalam oven selama 1-2 jam pada suhu 160-170°C sebelum digunakan dalam penelitian. (Setyawati, 2020)

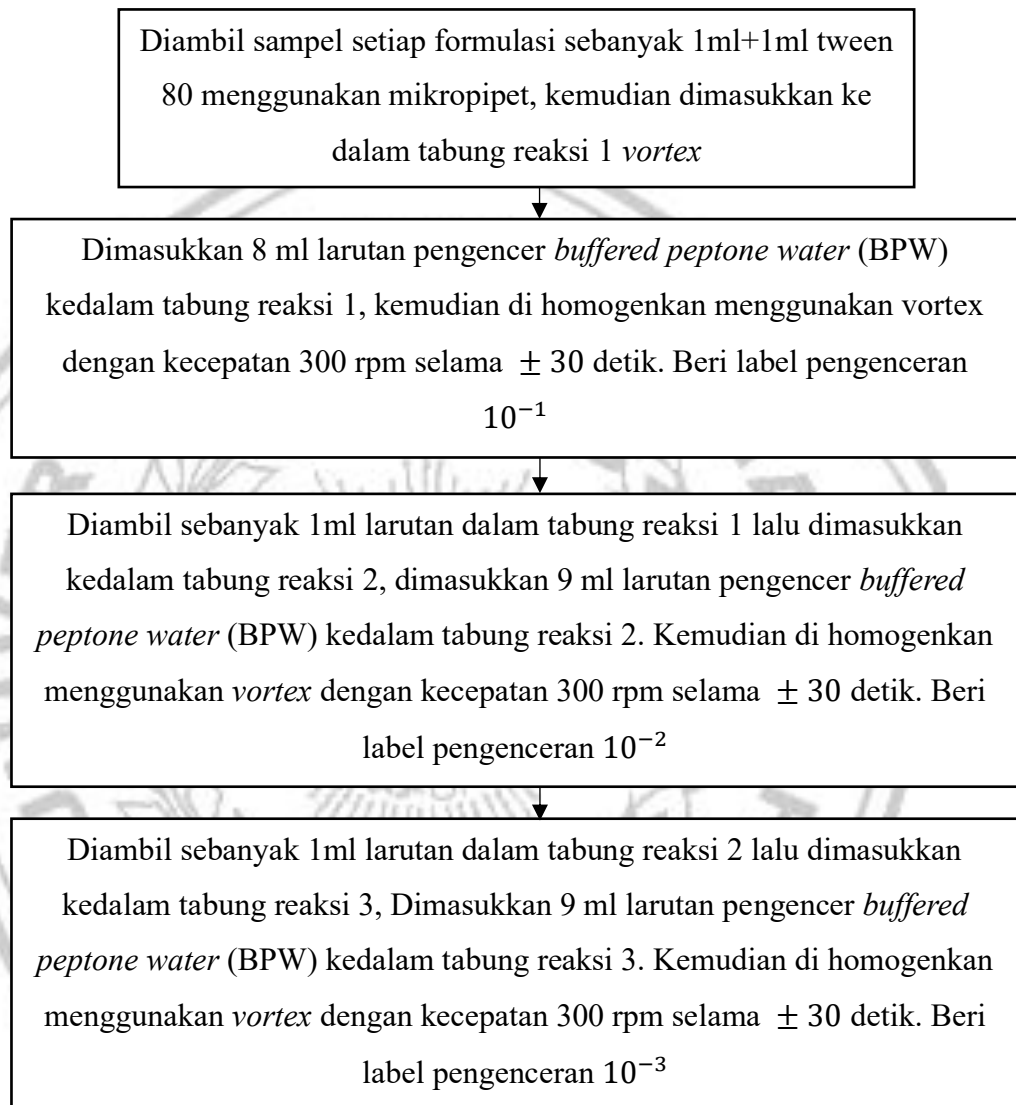
b. Sterilisasi media

Dalam pengujian ini, media yang digunakan *plate count agar* (PCA), *bufferd peptone water* (BPW), dan *potato dextrose agar* (PDA). Media dan pelarut di sterilisasi di dalam autoklaf sekitar 15 menit pada suhu 121°C. Setelah proses tersebut selesai, media disimpan di lemari pendingin agar kualitasnya tetap terjaga hingga digunakan dalam proses analisis mikrobiologi. (Setyawati, 2020)

c. Preparasi sampel

- a. Pembuatan sampel dengan perbedaan kandungan *polyacrylate crosspolymer-6* sebagai gelling agent dengan konsentrasi 0,5%, 0,75%, 1%.

- b. Penanganan produk kosmetika dan contoh produk yang akan diuji disimpan pada suhu ruang, tidak diinkubasi, didinginkan atau dibekukan sebelum dan sesudah analisis.
- c. Preparasi sampel 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}



Preparasi sampel dilakukan dengan pembuatan sampel yang memiliki perbedaan kandungan *polyacrylate crosspolymer-6* sebagai gelling agent dengan konsentrasi 0,5%, 0,75%, dan 1%. Preparasi sampel dilakukan dengan pengenceran bertingkat yaitu 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} . Diambil sampel dari setiap formulasi sebanyak 1 ml ditambah 1 ml tween 80 menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1 dan

dihomogenkan menggunakan *vortex*. Selanjutnya, dimasukkan 8 ml larutan pengencer *buffered peptone water* (BPW) ke dalam tabung reaksi 1, kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex* dengan kecepatan 300 rpm selama ± 30 detik. Tabung ini diberi label pengenceran 10^{-1} . Dari tabung reaksi 1, diambil sebanyak 1 ml larutan lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2 yang telah berisi 9 ml larutan pengencer *buffered peptone water* (BPW), kemudian dihomogenkan dengan *vortex* pada kecepatan 300 rpm selama ± 30 detik. Tabung ini diberi label pengenceran 10^{-2} . Dilanjutkan dengan mengambil 1 ml larutan dari tabung reaksi 2 dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 3 yang telah berisi 9 ml larutan pengencer *buffered peptone water* (BPW), kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex* dengan kecepatan 300 rpm selama ± 30 detik. Tabung ini diberi label pengenceran 10^{-3} .

4.10 Metode Uji Angka Lempeng Total Dalam Produk Kosmetik Sesuai Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor Hk.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011

a. Preparasi *buffered peptone water*

Sebanyak 5g bpw ditimbang, kemudian ditambahkan aquadest hingga mencapai volume 250 mL. aduk menggunakan magnetic stirrer

Larutan kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

b. Preparasi media *plate count agar* (PCA) 500 mL

Sebanyak 8,75 g serbuk PCA ditimbang dan dilarutkan dalam 500 mL *aquadest* steril

kemudian dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan *hot plate* dan magnetic stirrer diaduk hingga larutan jernih.

↓

Masukkan larutan kedalam autoklaf selama 15 menit
pada suhu 121°C

c. Pemeriksaan angka lempeng total

Sebanyak 1 mL dari masing-masing pengenceran dipipet ke dalam cawan petri dan dibuat *duplo*. Selanjutnya sebanyak 15-25 mL media PCA ($45^{\circ} \pm 1^{\circ}$) dituangkan ke dalam cawan petri tersebut.

↓

Aduk cawan petri memutar ke depan-belakang atau buat gerakan angka delapan agar larutan tercampur merata dan diamkan hingga media memadat.

↓

Setelah media memadat, cawan diinkubasi pada suhu 35 - 37°C selama 72 jam dengan posisi terbalik. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.

d. Interpretasi Hasil

Keragaman sifat dari perhitungan lempeng diambil untuk penghitungan. Dua hasil dapat dianggap berbeda jika selisihnya melebihi 50 % atau ketika dinyatakan dalam logaritma, selisihnya melebihi 0,3. Untuk penghitungan yang tepat, hanya cawan petri dengan koloni lebih dari 30 dan kurang dari 300 untuk penghitungan cara tuang dan sebar permukaan.

4.11 Metode Uji Angka Khapang Dan Khamir Sesuai Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor Hk.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011

a. Preparasi media *potatoes dextrose agar* (PDA) 500 ml

Sebanyak 19,5 g serbuk PDA ditimbang dan dilarutkan dalam 500 mL *aquadest* steril, Aduk semua bahan hingga tercampur rata, lalu panaskan hingga larut,

↓

lalu masukkan larutan tersebut ke dalam kedalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C



Pada 500 ml PDA yang sudah disterilisasi ditambahkan 1 mL larutan kloramfenikol 25mg/mL yang telah di saring menggunakan spuit syringe 0,45 mikron

b. Pemeriksaan angka kapang khamir

Sebanyak 1 mL dari masing-masing pengenceran dipipet ke dalam cawan petri dan dibuat duplo. Selanjutnya sebanyak 15-25 mL media PDA ($45^{\circ} \pm 1^{\circ}$) dituangkan ke dalam cawan petri.



Putar cawan petri maju mundur agar sampel dan media tercampur merata. Biarkan media mengeras.



Setelah media memadat, cawan diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 hari dengan posisi terbalik. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.

c. Interpretasi hasil

Dalam analisis mikrobiologis, khususnya pada penghitungan Angka khapang khamir (AKK), terdapat beberapa ketentuan yang harus diperhatikan agar hasil yang diperoleh valid dan dapat diterima. Perbedaan dua hasil penghitungan hanya dianggap signifikan apabila selisihnya melebihi 50%, atau jika dinyatakan dalam bentuk logaritmik, memiliki selisih lebih dari 0,3 log. Selain itu, hanya cawan Petri yang memiliki jumlah koloni antara 15 hingga 150 yang dapat digunakan untuk penghitungan, karena jumlah koloni di bawah 15 dianggap terlalu sedikit dan kurang representatif, sedangkan jumlah di atas 150 berisiko menyebabkan koloni tumpang tindih sehingga menyulitkan pengamatan. Jika penghitungan dilakukan berdasarkan metode pengenceran, maka hasil yang diperoleh harus berasal dari pengenceran

yang tervalidasi dan sesuai dengan metode resmi yang digunakan, sehingga keakuratan data tetap terjamin.

4.12 Metode Uji Deteksi *Candida Albicans* Dalam Produk Kosmetik Sesuai Iso 18416:2015

4.12.1 Preparasi suspensi awal dalam broth pengayaan

Masukkan setidaknya 1 g atau mL porsi uji ke dalam wadah yang sesuai

Tambahkan *Eugon LT 100 liquid broth/Fluid soybean-casein digest medium/Modified Letheen broth/GPLP 80 broth/Dey/Engley neutralizing broth/SCDLP 80 broth* dengan perbandingan 1:10.

Untuk menyesuaikan dengan regulasi batasan cemaran mikroba dalam kosmetik yang berlaku dari BPOM RI No 16 Tahun 2024 untuk *candida albicans* (negatif/ 0.1 g atau 0.1 mL), maka setelah sampel ditambahkan *broth* pengayaan, ambil suspensi awal sebanyak 1 mL kemudian pipet ke dalam tabung berisi 9 mL *broth* pengayaan.

1.12.2 Inkubasi *broth* pengayaan yang sudah diinokulasi

Inkubasi pada suhu 32.5 ± 2.5 °C selama setidaknya 20 jam (maksimal 72 jam)

1.12.3 Deteksi dan identifikasi *candida albicans*

a. Isolasi

Gores *broth* pengayaan yang sudah diinkubasi ke atas permukaan media *SDA/SDCA*

Balik cawan kemudian inkubasi pada suhu 32.5 ± 2.5 °C, selama 24-48 jam

Periksa koloni karakteristik *candida albicans*: koloni berwarna putih hingga krem, halus dan cembung

Gunakan koloni untuk uji identifikasi

1.12.4 Identifikasi *Candida albicans*

Candida albicans dapat muncul sebagai dimorfik dan mampu memproduksi pseudohifa, beberapa hifa yang nyata, dan kelompok blastoconidia bulat sebesar klamidospora berdinding tebal. Pada suhu yang rendah, biakan dapat menunjukkan bentuk pseudo-miselium; tetapi dapat berubah menjadi bentuk uniselular pada suhu yang lebih tinggi.

1. Pewarnaan Gram

Buat sediaan di atas gelas objek. Keringkan di udara dan fiksasikan dengan panas

Warnai sediaan dengan larutan *crystal violet* dan biarkan bereaksi selama 1 menit

Cuci dengan air selama beberapa detik dan tiriskan. Tambahkan larutan Lugol (*Gram's iodine*) dan biarkan bereaksi selama 1 menit

Cuci dengan aquadest dan tiriskan. Hilangkan warna dengan etanol (95 %) tidak lebih dari 30 detik

Cuci dengan aquadest, tiriskan dan bubukkan larutan safranin selama 10 detik. Setelah itu cuci kembali dengan aquadest dan tiriskan

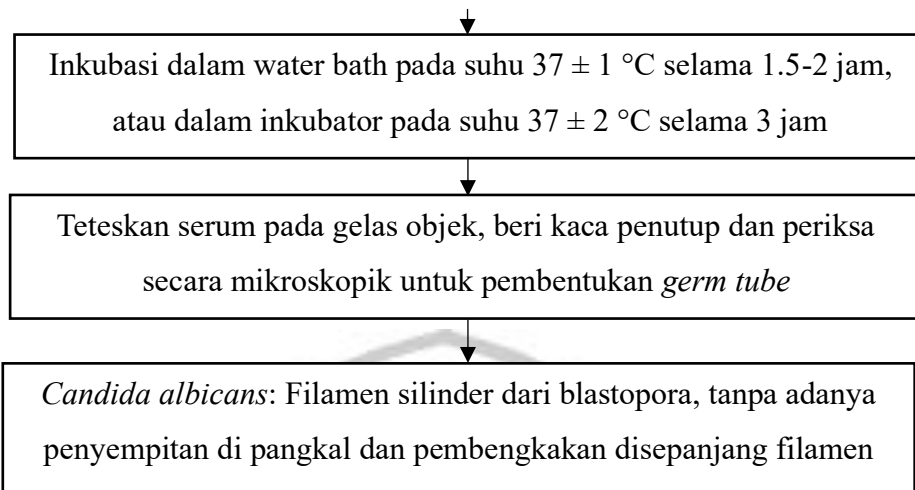
Keringkan gelas objek kemudian periksa di bawah mikroskop

Candida albicans: Gram positif (berwarna ungu), bentuk sel oval pendek atau memanjang, terkadang dengan sel tunas

2. Produksi *Germ tube*

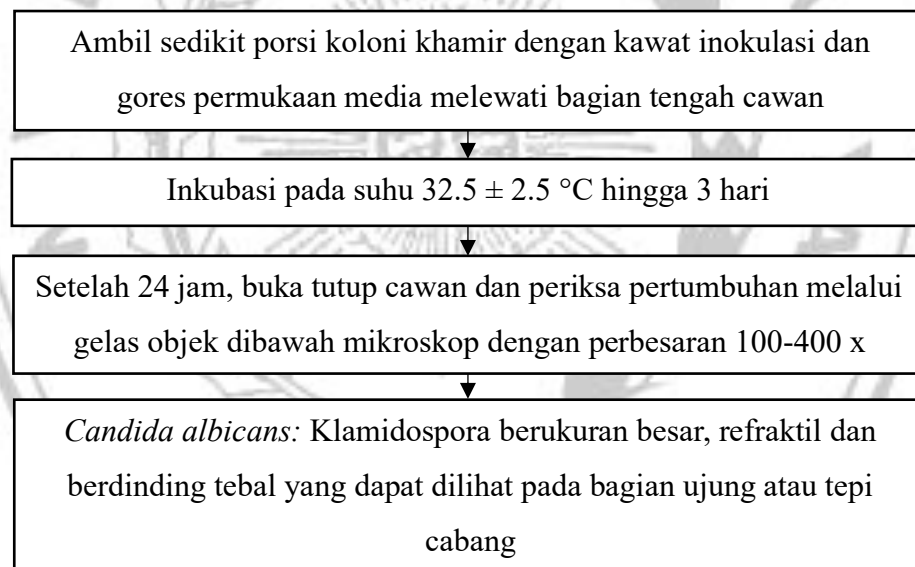
Masukan 0.5-1 mL serum (serum janin anak sapi atau kuda) ke dalam tabung kecil

Emulsikan sedikit koloni khamir untuk diuji dengan serum



Pembentukan *germ tube* menunjukkan kehadiran *candida albicans*. Jika *germ tube* tidak terbentuk, koloni harus diperiksa untuk produksi hifa, pseudohifa dan klamidospora.

3. Biakan dalam Corn meal agar dengan 1% Polysorbate 80



1.12.5 Interpretasi Hasil

1. Interpretasi Hasil Uji Identifikasi

Candida albicans berupa Gram positif, (berwarna ungu), bentuk sel oval pendek atau memanjang, terkadang dengan sel tunas. Pada uji pembentukan *germ tube candida albicans* menghasilkan filamen silinder dari blastopora, tanpa adanya penyempitan di pangkal dan pembengkakan di sepanjang filamen. Saat ditumbuhkan dalam *corn meal agar* dengan 1 % polysorbate 80 membentuk klamidospora

berukuran besar, refraktil dan berdinding tebal yang dapat dilihat pada bagian ujung atau tepi cabang

2. Interpretasi Hasil Pengujian

Laporkan hasil ada atau tidaknya *candida albicans* dalam sampel sebagai positif atau negatif per gram atau per mL sampel atau sesuai dengan jumlah sampel yang digunakan, atau, sesuai dengan peraturan badan pengawas obat dan makanan nomor 16 tahun 2024 tentang cemaran dalam kosmetika, laporkan hasil sebagai positif atau negatif per 0.1 gram atau 0.1 mL sampel.

4.13 Metode Uji Deteksi *Pseudomonas Aeruginosa* Dalam Produk Kosmetik Sesuai Iso 22717:2015

4.13.1 Preparasi suspensi awal dalam broth pengayaan

Masukkan setidaknya 1 g atau mL porsi uji ke dalam wadah yang sesuai

Tambahkan *Eugon LT 100 liquid broth/Fluid soybean-casein digest medium/Modified Letheen broth/GPLP 80 broth/Dey/Engley neutralizing broth/SCDLP 80 broth* dengan perbandingan 1:10.

Untuk menyesuaikan dengan regulasi batasan cemaran mikroba dalam kosmetik yang berlaku dari BPOM RI No 16 Tahun 2024 untuk *Pseudomonas aeruginosa* (negatif/ 0.1 g atau 0.1 mL), maka setelah sampel ditambahkan broth pengayaan, ambil suspensi awal sebanyak 1 mL kemudian pipet ke dalam tabung berisi 9 mL broth pengayaan.

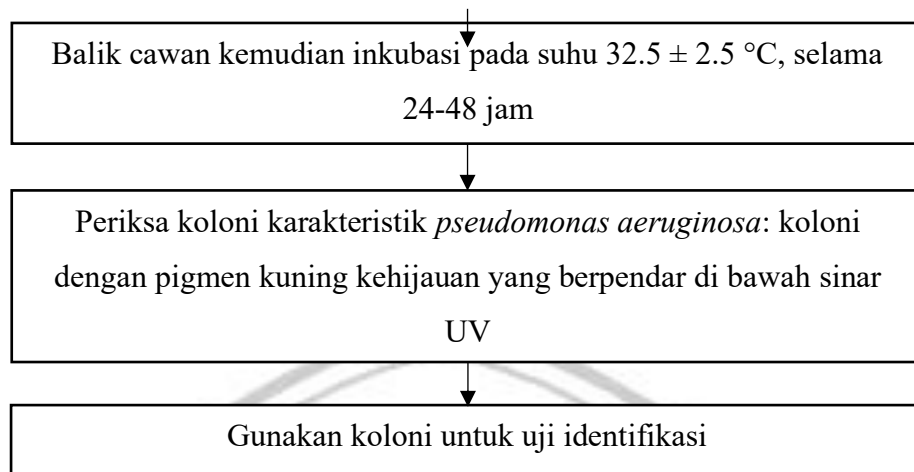
4.13.2 Inkubasi broth pengayaan yang sudah diinokulasi

Inkubasi pada suhu 32.5 ± 2.5 °C selama setidaknya 20 jam
(maksimal 72 jam)

4.13.3 Deteksi dan identifikasi *pseudomonas aeruginosa*

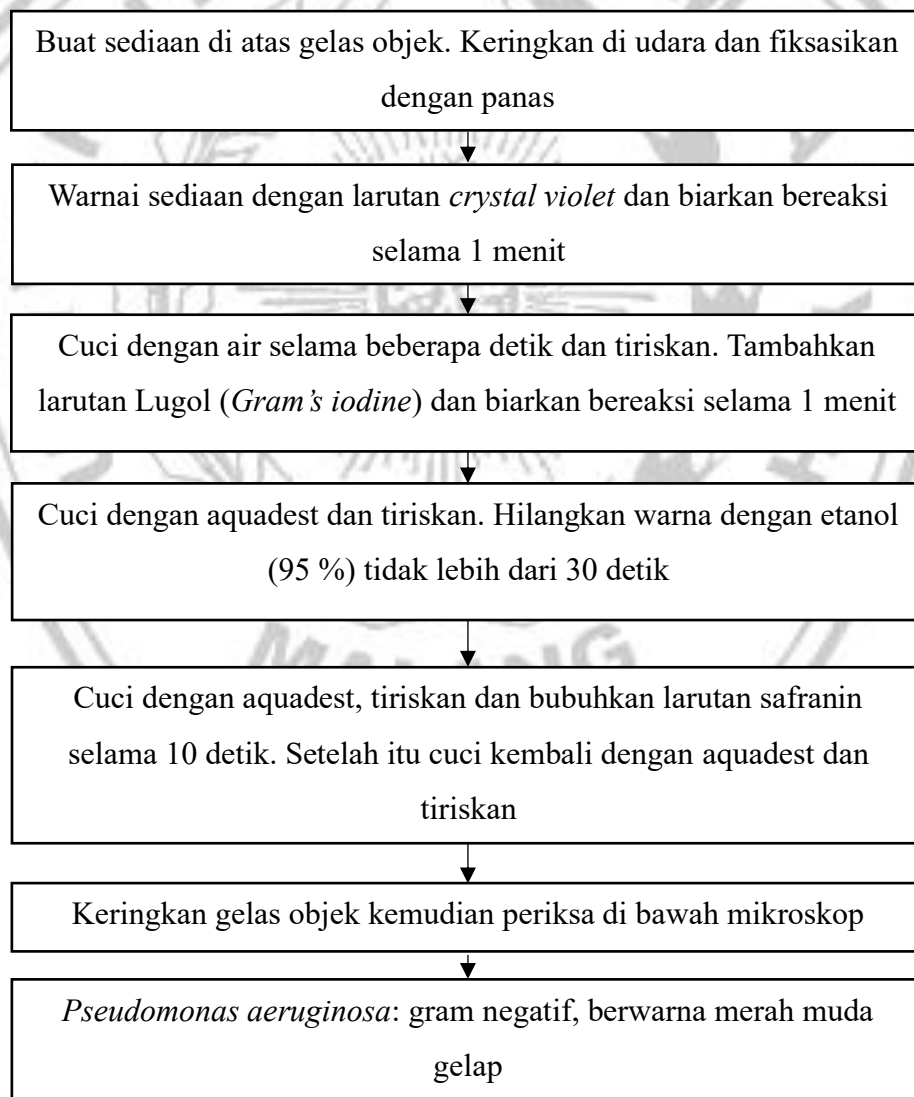
a. Isolasi

Gores broth pengayaan yang sudah diinkubasi ke atas permukaan media *cetrimide agar*

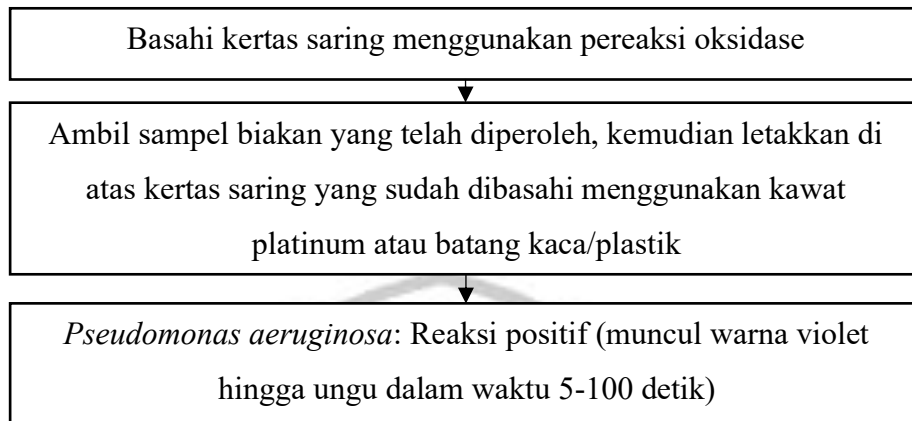


4.13.4 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

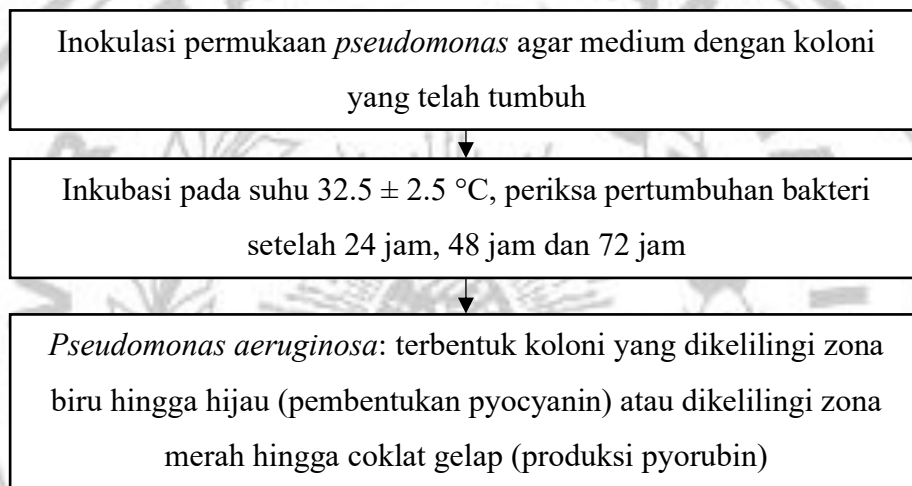
1. Pewarnaan Gram



2. Uji Oksidase



3. Uji Pyocyanin dan Pyorubin

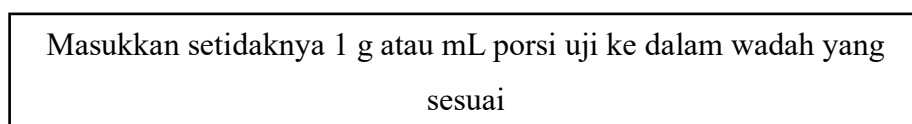


4.13.5 Interpretasi Hasil

Laporkan hasil ada atau tidaknya *pseudomonas aeruginosa* dalam sampel sebagai positif atau negatif per gram atau per ml sampel atau sesuai dengan jumlah sampel yang digunakan, atau, sesuai dengan peraturan badan pengawas obat dan makanan Nomor 16 Tahun 2024 tentang cemaran dalam kosmetika, laporkan hasil sebagai positif atau negatif per 0.1 gram atau 0.1 mL sampel.

4.14 Metode Uji Deteksi Staphylococcus Aureus Dalam Produk Kosmetik Sesuai Iso 22718:2015

4.14.1 Preparasi suspensi awal dalam broth pengayaan



Tambahkan *Eugon LT 100 liquid broth/Fluid soybean-casein digest medium/Modified Letheen broth/GPLP 80 broth/Dey/Engley neutralizing broth/SCDLP 80 broth* dengan perbandingan 1:10.

Untuk menyesuaikan dengan regulasi batasan cemaran mikroba dalam kosmetik yang berlaku dari BPOM RI No 16 Tahun 2024 untuk *staphylococcus aureus* (negatif/ 0.1 g atau 0.1 ml), maka setelah sampel ditambahkan broth pengayaan, ambil suspensi awal sebanyak 1 mL kemudian pipet ke dalam tabung berisi 9 mL broth pengayaan.

4.14.2 Inkubasi broth pengayaan yang sudah diinokulasi

Inkubasi pada suhu 32.5 ± 2.5 °C selama setidaknya 20 jam
(maksimal 72 jam)

4.14.3 Deteksi dan identifikasi *staphylococcus aureus*

a. Isolasi

Gores broth pengayaan yang sudah diinkubasi ke atas permukaan
media *baird parker agar* (BPA)



Balik cawan kemudian inkubasi pada suhu 32.5 ± 2.5 °C, selama
24-48 jam



Periksa koloni karakteristik *staphylococcus aureus*: koloni
berwarna hitam, mengkilap, dikelilingi oleh zona bening (2-5 mm)

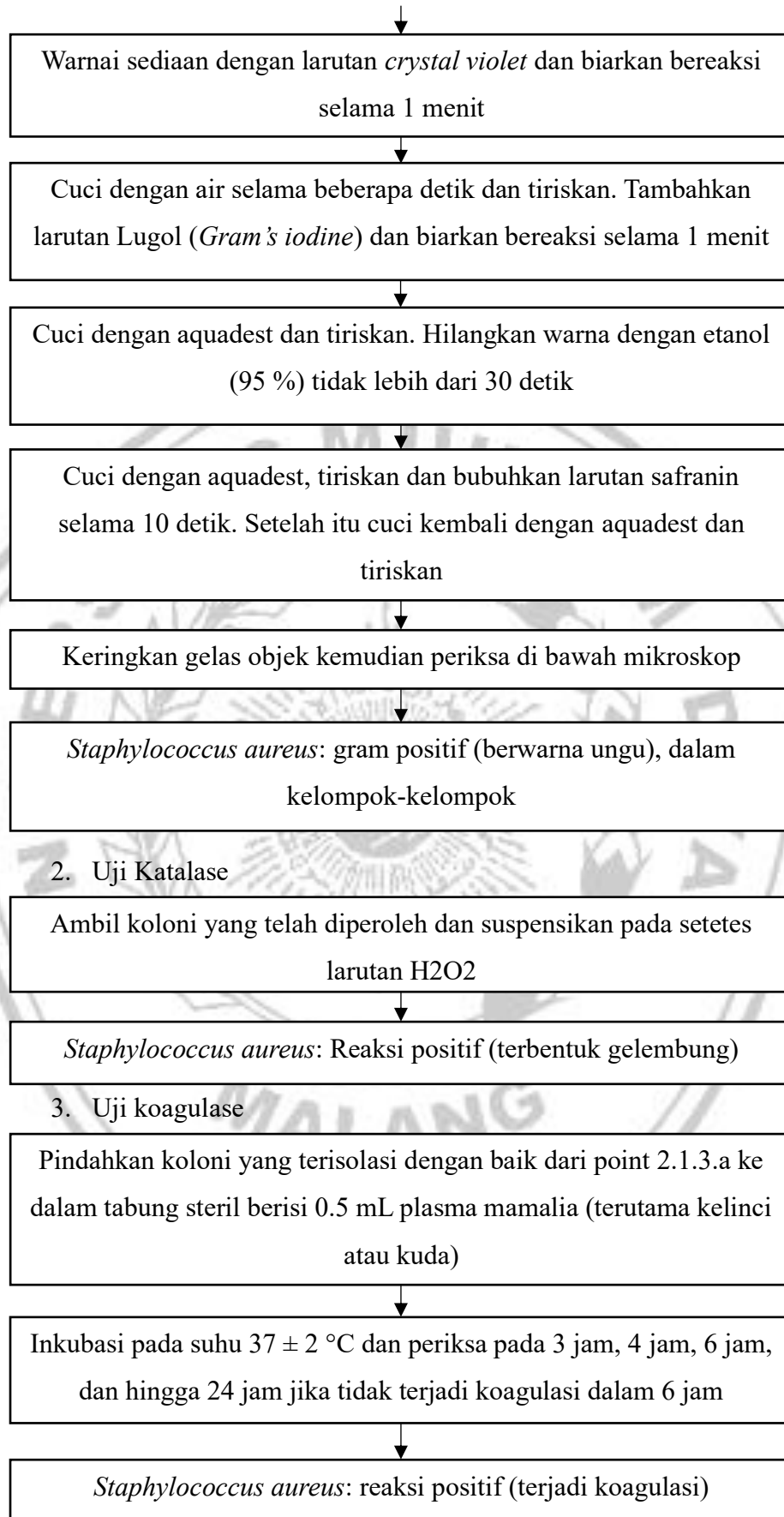


Gunakan koloni untuk uji identifikasi

4.14.4 Identifikasi *staphylococcus aureus*

1. Pewarnaan Gram

Buat sediaan di atas gelas objek. Keringkan di udara dan fiksasikan
dengan panas



4.14.5 Interpretasi Hasil

Laporkan hasil ada atau tidaknya *staphylococcus aureus* dalam sampel sebagai positif atau negatif per gram atau per mL sampel atau sesuai dengan jumlah sampel yang digunakan, atau, sesuai dengan peraturan badan pengawas obat dan makanan Nomor 16 Tahun 2024 tentang cemaran dalam kosmetika, laporkan hasil sebagai positif atau negatif per 0.1 gram atau 0.1 mL sampel.

