

DETEKSI JAMUR PATOGEN DAN AFLATOKSIN PADA SERBUK DAN EKSTRAK SAMBILOTO SERTA FORMULA OBAT DBD

Miftakhurohmah, Rita Noveriza dan Bagem Br. Sembiring
Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik

ABSTRAK

Dewasa ini terjadi peningkatan penggunaan produk herbal sebagai obat alternatif maupun sebagai komplementer obat-obatan kimia. Produk herbal rentan terhadap kontaminasi jamur patogen penghasil mikotoksin, karena kondisi iklim maupun akibat proses panen dan penyimpanan. Oleh karena itu, setiap produk herbal yang akan dikonsumsi sebagai obat perlu dilakukan pengujian tingkat kontaminasinya. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya jamur patogen tingkat kontaminasinya, dan kadar aflatoksin pada beberapa produk herbal asal Balitro Bogor. Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit Balitro, Bogor, mulai bulan April sampai Agustus 2007. Produk herbal yang diuji berasal dari Teknologi Hasil Balitro, Bogor, yaitu : serbuk dan ekstrak sambiloto, serta formula obat Demam Berdarah Dengue (DBD) (terdiri dari tanaman Meniran, Kunyit, Temu Ireng, daun Pepaya dan daun Jambu Biji Merah). Pengujian dilakukan dengan cara mengisolasi sampel produk herbal pada media PDA + Chloramphenicol dengan metode pengenceran bertingkat, kemudian dilakukan penghitungan jumlah koloni jamur yang tumbuh setelah diinkubasi selama 3 hari pada suhu kamar. Jamur patogen yang tumbuh dimurnikan dan diidentifikasi. Hasil pengujian menunjukkan pada serbuk sambiloto ditemukan jamur sebanyak $3,67 \times 10^4$ cfu/g bahan, dan setelah disimpan selama 4 bulan ditemukan jamur sebanyak $4,36 \times 10^4$ cfu/g bahan. Penyimpanan ternyata tidak mempengaruhi tingkat kontaminasi jamur kontaminan pada serbuk sambiloto. Pada ekstrak sambiloto setelah disimpan selama 8 bulan, tidak ditemukan adanya jamur kontaminan. Sedangkan pada formula obat untuk DBD setelah disimpan selama 2 bulan, didapatkan $3,26 \times 10^3$ cfu/g bahan. Dari hasil isolasi, ditemukan 5 spesies jamur *Aspergillus* pada serbuk sambiloto, yaitu *A. niger*, *A. tamarii*, *A. japonicus*, *A. flavus* dan *A. parasiticus*. Sedangkan pada formula obat untuk DBD ditemukan 2 spesies *Aspergillus*, yaitu : *A. niger* dan *A. sydowii*. Berdasarkan pengujian secara kualitatif dengan lampu UV, tidak terdeteksi adanya aflatoksin pada serbuk sambiloto, tetapi setelah diuji secara kualitatif dengan menggunakan TLC Scanner, didapatkan kadar aflatoksin B1 sebesar 29,51 ppb per gram bahan. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk menguji kemampuan *A. flavus* dan *A. parasiticus* dalam memproduksi aflatoksin B1.

Kata kunci : Jamur, kontaminan, sambiloto, meniran, kunyit, temu ireng, daun Pepaya, daun Jambu Biji Merah.

PENDAHULUAN

Produk herbal telah lama digunakan baik sebagai obat untuk berbagai macam penyakit maupun untuk meningkatkan kekebalan tubuh. Dewasa ini, perhatian publik pada penggunaan produk herbal meningkat secara dramatis tidak hanya di negara berkembang, tetapi juga di negara industri. Beberapa faktor yang menyebabkan terjadinya peningkatan penggunaan produk herbal antara lain : adanya efek samping akibat penggunaan obat kimia, tingginya harga obat kimia, dan kepercayaan tidak adanya efek samping pada penggunaan obat herbal (Calixto, 2000).

Namun demikian, sejauh ini evaluasi terhadap keamanan produk herbal relatif sedikit. Salah satu faktor yang perlu diwaspadai adalah rentannya produk

herbal terhadap kontaminasi jamur dan mikotoksin akibat proses pemanenan, penyimpanan, dan kondisi iklim.

Pada pengujian terhadap 91 sampel produk herbal didapatkan jamur-jamur yang terdistribusi dalam 10 genus, 89,9 % isolat mendekati genus *Aspergillus* dan *Penicillium*. 21, 97 % dari *Aspergillus* dan *Penicillium* memiliki kemampuan untuk memproduksi aflatoksin (42,9 %), ochratonin A (22,4 %), dan chritinine (34,7 %) (Bugno *et al.*, 2006). Sedangkan pada pengujian 49 serbuk obat herbal didapatkan jamur *Aspergillus* dan *Penicillium* (dominan), *Rhizopus*, *Mucor*, *Cladosporium*, dan *Aureobasidium* yang didapatkan pada beberapa sampel. Mikotoksin tidak terdeteksi pada sampel, dan hanya ditemukan 1 isolat yang berperan menjadi produsen mikotoksin pada pengujian laboratorium (Hitokoto *et al.*, 1978).

Mikotoksin adalah metabolit sekunder yang diproduksi oleh beberapa jamur terutama yang masuk dalam genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, dan, *Alternaria*. Yang termasuk ke dalam mikotoksin adalah : aflatoksin, trichothecenes, fumonisins, ochratoksin A (OTA), patulin, tremorgenik toksin, dan ergot alkaloid (Kabak *et al.*, 2006).

Aflatoksin adalah racun potensial yang bersifat karsinogenik, mutagenik, dan dapat menurunkan kekebalan tubuh. Senyawa ini merupakan metabolit sekunder dari jamur *A. flavus* dan *A. parasiticus* (Suryadi *et al.*, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya jamur kontaminan, tingkat kontaminasinya, serta kadar aflatoksin pada ekstrak dan serbuk sambiloto, serta pada formula obat DBD.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit Balitro, Bogor, mulai bulan April sampai November 2007. Produk herbal yang diuji merupakan hasil teknologi Laboratorium Analisis Balitro, yaitu : ekstrak dan serbuk sambiloto, serta formula obat DBD. Penelitian terdiri dari tiga tahap, yaitu : (1) pengamatan jumlah jamur kontaminan; (2) isolasi dan identifikasi jamur patogen; dan (3) pengukuran kadar aflatoksin.

Pengamatan jumlah jamur kontaminan

Sampel produk herbal ditimbang sebanyak 10 g, dilarutkan dalam larutan NaCl 0,85 % sebanyak 90 ml, kemudian dishaker selama 30 menit. Larutan sampel selanjutnya diencerkan sampai tingkat pengenceran 10^3 dan 10^4 , kemudian ditanam pada media PDA + Chloramphenicol, dan diinkubasikan pada suhu kamar. Setelah tiga hari, dilakukan penghitungan jumlah koloni jamur yang tumbuh.

Isolasi dan identifikasi jamur patogen

Isolasi jamur patogen dilakukan pada media PDA. Identifikasi dilakukan dengan pengamatan morfologi koloni jamur dan secara mikroskopik.

Pengukuran kadar aflatoksin

Pengukuran kadar aflatoksin pada produk herbal serbuk sambiloto secara kualitatif dengan lampu UV panjang gelombang 365 nm dan secara kuantitatif dengan TLC Scanner.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada serbuk sambiloto, didapatkan jumlah jamur kontaminan sebanyak $4,36 \times 10^4$ cfu/g bahan, dan setelah disimpan selama 4 bulan, didapatkan jamur sebanyak $3,67 \times 10^4$ cfu/g bahan. Hasil ini menunjukkan bahwa proses penyimpanan sambiloto dalam bentuk serbuk tidak menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah jamur kontaminan. Pada ekstrak sambiloto yang disimpan selama delapan (8) bulan, tidak ditemukan adanya jamur kontaminan (Tabel 1). Hal ini disebabkan karena ekstrak sambiloto merupakan hasil pengolahan lebih lanjut dari serbuk sambiloto. Serbuk sambiloto berasal dari simplisia yang digiling. Sedangkan ekstrak sambiloto dibuat dengan cara melarutkan serbuk sambiloto dengan etanol 70 %, diaduk selama 4 jam, kemudian didiamkan semalam, keesokan harinya disaring, sehingga diperoleh filtrat. Selanjutnya filtrat diuapkan dan didapatkan ekstrak kental.

Jumlah jamur yang ditemukan pada formula obat DBD yang telah disimpan selama 2 bulan, sebanyak $3,26 \times 10^3$ cfu/g bahan.

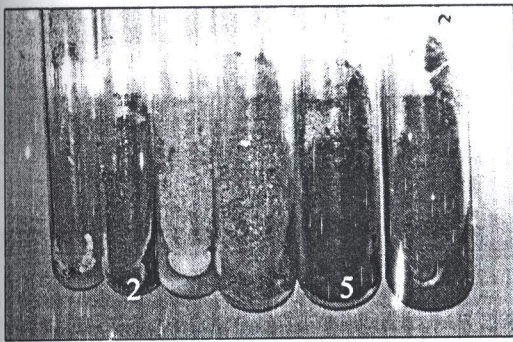
Indonesia belum memiliki aturan mengenai ambang batas jumlah jamur pada rempah - rempah. Di Australia, batas maksimal jumlah jamur yang bisa diterima pada rempah - rempah yaitu di bawah 1000/g bahan (Andrews, 1992). Pada serbuk sambiloto dan formula obat DBD, jumlah jamur yang ditemukan lebih dari 1000/g bahan.

Tabel 1. Jumlah Jamur Kontaminan pada Produk Herbal

Produk herbal/umur simpan	Jumlah koloni jamur (cfu/g)
Serbuk sambiloto	$4,36 \times 10^4$
Serbuk sambiloto/4 bln	$3,67 \times 10^4$
Ekstrak sambiloto/8 bln	0
Formula obat DBD/2 bln	$3,26 \times 10^3$

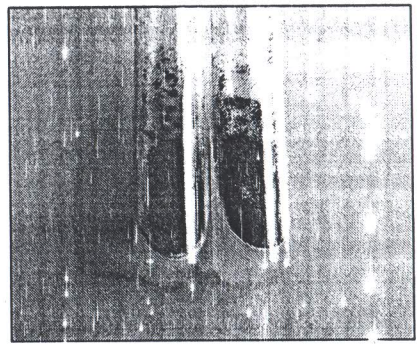
Jamur-jamur yang didapatkan tidak semuanya merupakan jamur patogen yang membahayakan. Oleh karena itu, perlu dilakukan isolasi dan identifikasi jamur patogen yang didapatkan. Dari hasil isolasi, didapatkan 5 spesies jamur *Aspergillus* pada serbuk sambiloto (Gambar 1), dan pada formula obat DBD didapatkan 2 spesies jamur *Aspergillus* (Gambar 2).

Jamur *Aspergillus* yang didapatkan pada serbuk sambiloto adalah : *A. niger*, *A. tamarii*, *A. japonicus*, *A. flavus* dan *A. parasiticus*. Sedangkan pada formula obat DBD : *A. niger* dan *A. sydowii*. Identifikasi didasarkan pada pendapat Samson *et. al.* (1996) dan Domsch *et al.* (1980). Ketujuh isolat *Aspergillus* tersebut disimpan di laboratorium Penyakit Balitro.



Gambar 2. Jamur *Aspergillus* pada serbuk sambiloto

Keterangan : 2 dan 5 sama (1 spesies)



Gambar 2. Jamur *Aspergillus* pada formula obat DBD

A. niger pada media PDA, membentuk koloni berwarna hitam dengan bagian dasar berwarna putih atau kuning. Konidiofor berdinging halus, hyalin sampai berwarna cokelat. Vesikel berbentuk bulat sampai agak bulat, berdiameter 45 – 72,5 (53,25) μm . Vesikel memiliki pialid dan metula. Konidia bulat sampai agak bulat, berduri, berwarna cokelat, berdiameter 2,75 – 5,0 (3,75) μm . Spesies ini sering mengkontaminasi rempah – rempah makanan dan yang dikeringkan di bawah sinar matahari. Isolat *A. niger* disimpan dengan kode DBD 3 (2) dan S 3 (1).

A. tamarii bersporulasi padat pada media PDA. Koloni awalnya berwarna kuning - cokelat, kemudian berubah dengan cepat menjadi hijau tua - cokelat. Batang konidiofor hyalin, kebanyakan berdinging kasar. Vesikel bulat sampai agak bulat, berdiameter 25 – 50 (36,8) μm . Vesikel memiliki pialid dan metula. Konidia bulat sampai agak bulat, berdiameter 3,75 – 7 (5,23) μm , berduri, dinding bagian dalam dan luar terpisah (dapat dilihat). Umumnya terdapat pada komoditas tropik, rempah – rempah, dan jagung. Isolat *A. tamarii* disimpan dengan kode S 3 (5).

A. japonicus membentuk koloni berwarna ungu - hitam pada media PDA. Spesies ini satu grup dengan *A. Niger*. Vesikel bulat sampai memanjang, berdiameter 40 – 82,5 (48,25) μm . Konidia tumbuh langsung di atas pialid, berduri, kebanyakan berbentuk bulat, berdiameter 2,5 – 3,75 (3,1) μm . Isolat ini disimpan dengan kode S 3 (3).

A. sydowii sangat mirip dengan *A. versicolor*, perbedaannya hanya pada warna koloni. Koloni *A. sydowii* berwarna biru – hijau, sedangkan *A. versicolor* bermacam – macam warna, yaitu kuning emas, pink – merah daging, kuning oranye atau kekuningan. Konidiofor berdinging halus, hyalin atau sedikit berwarna. Vesikel agak bulat sampai elips, berdiameter 10 – 17,5 (13,58) μm . Pialid tumbuh di atas metula. Konidia bulat, berduri, berdiameter 2 – 3 (2,52) μm . Isolat *A. sydowii* disimpan dengan kode DBD 3 (5) B.

A. flavus pada media PDA membentuk koloni berwarna kuning-hijau. Konidiofor hyalin, berdinging kasar. Vesikel bulat sampai agak bulat, berdiameter

25 – 45 (33,25) μm , ada yang memiliki metula dan ada yang tidak memiliki metula. Konidia kebanyakan bulat, berdiameter 2,5 – 5 (3,54) μm , berduri, berwarna kuning-hijau. Isolat disimpan dengan kode S 3 (4).

A. parasiticus membentuk koloni berwarna hijau pada media PDA. Konidiofor hialin, berduri. Vesikel bulat sampai agak bulat, berdiameter 20 – 45 (32,25) μm . Konidia tumbuh langsung di atas pialid, berduri, berdiameter 2,5 – 5 (3,72) μm , berwarna hijau. Isolat disimpan dengan kode S 4 (2).

Berdasarkan pengujian secara kualitatif dengan lampu UV, tidak terdeteksi adanya aflatoksin pada serbuk sambiloto, tetapi setelah diuji secara kualitatif dengan menggunakan TLC Scanner, didapatkan kadar aflatoksin B1 sebesar 29,51 ppb per gram bahan. Kadar air serbuk sambiloto yang diuji sebesar 8,95% dan kadar lemaknya 12,51%.

Indonesia belum memiliki aturan mengenai ambang batas kadar aflatoksin yang masih bisa diterima pada makanan maupun bahan makanan, sehingga belum bisa disimpulkan aman tidaknya serbuk sambiloto yang diuji untuk dikonsumsi.

KESIMPULAN

Jumlah jamur yang ditemukan pada serbuk sambiloto dan formula obat DBD lebih dari 1000 koloni jamur/gram bahan. Ditemukan 5 spesies jamur *Aspergillus* pada serbuk sambiloto, yaitu : *A. niger*, *A. tamarii*, *A. japonicus*, *A. flavus* dan *A. parasiticus*, serta 2 spesies jamur *Aspergillus* pada formula obat DBD, yaitu : *A. niger* dan *A. sydowii*. Produk herbal serbuk sambiloto yang diuji mengandung aflatoksin B1 sebesar 29,51 ppb per gram bahan. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk melihat kemampuan *A. flavus* dan *A. parasiticus* dalam memproduksi aflatoksin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Zulhisnain dan Ibu May Sukmasari yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, S. 1992. Specifications for fungi in Australian Foods. *In* Developments in Food Science, Modern Methods in Food Mycology. Proceeding of the Second International Workshop on Standardisation of Methods for the Mycological Examination of Foods, held in Baarn, The Netherlands, 20 – 24 August, 1990.
- Bugno, A., Almadovar, A.A.B., Pereira, T.C., Pinto, T.J.A., and Sabino, M. 2006. Occurrence of Toxigenic Fungi in Herbal Drugs. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37 : 47 – 51.
- Calixto, J.B. 2000. Efficacy, Safety, Quality Control, Marketing and Regulatory Guidelines for Herbal Medicines (Phytotherapeutic Agents). *Brazilian Journal of medical and Biological Research*. 179 – 189.

- Domsch, K.H., W. Gams, and T.H. Anderson. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press. Volume 1.
- Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S., and Kurata H. 1978. Fungal Contamination and Mycotoxin Detection of Powdered Herbal Drugs. *Applied and Environmental Microbiology*. Aug. 1978 : 252 – 256.
- Kabak, B., A.D.W. Dobson, and Var. I. 2006. Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of Food and Animal Feed : A Review. *Critical Review in Food Science and Nutrition* (46) : 8. ProQuest Agriculture Journal.
- Samson, R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad, and O. Filtenborg. 1996. *Introduction to food-born fungi*. Centraalbureau Voor Schimmelcultures.
- Suryadi, H., M. Kurniadi dan A. Yohanes. 2005. Analisis Kuantitatif Aflatoksin dalam Bumbu Pecel secara KLT Densitometri. Seminar Nasional MIPA 2005. Fakultas MIPA Universitas Indonesia. Depok, 24 – 26 November 2005.