

# Identifikasi Mikroba Simplisia Herba Ekinase (*Echinacea Purpurea*) dan Daun Kepel (*Stelechocarpus Burahol*) Pada Empat Variasi Kemasan dengan Rapid™ One System

## **MICROBIAL IDENTIFICATION OF SIMPLISIA EKINASE (ECHINACEA PURPUREA) AND KEPEL LEAVES (STELECHOCARPUS BURAHOL) IN FOUR PACKAGING MATERIALS VARIATIONS BY RAPID™ ONE SYSTEM**

Aniska Novita Sari<sup>1</sup>, Inge Octaviani<sup>2</sup>, Fitriana<sup>1</sup>, dan Dyah Subositi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional  
Jl. Raya Lawu, No.11, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia 57792

<sup>2</sup>Indah Kiat Plup dan Paper. Jl. Raya Serang 76, Kragilan, Serang, Banten

\*Email : aniska1111@gmail.com

Submitted : 10-02-2020, Revised : 11-03-2020, Revised : 18-03-2020, Accepted : 29-03-2020

### **Abstract**

The lifestyle back to nature encourages the development of herbal research in the world. The quality of herbal products is influenced by several factors including the packaging process and the types of packaging material. The objective of this study was to identify of microbes in *Echinacea purpurea* and *Stelechocarpus burahol* which were packaged in 4 packaging material types (Paper, Vacuum plastic, plastic-coated paper, plastic coated paper). Sample were collected after being stored for 2 months in WKJ (Wisata Kunjungan Jamu) Kalibakung. Microbes were grown in PCA (Plate Count Agar) media, observation of colony morphology, microbial purification in NA (Nutrient Agar) media, gram staining, Catalase Test, Oxidase Test, and Identification Test using the RapID™ ONE System. The results showed that packaging material variations had an effect in microbial species grown in *E. purpurea* and *S. burahol* herbs simplisia. Bacteria on simplisia of *E. purpurea* packed using paper material were *Corynebacterium jeikeium* and *Leminorella richardii*; Vacuum Plastic: *Enterobacter cloacae*; plastic-coated paper: *E. aerogenes* and *Acinetobacter calcoaceticus*; and paper plastic: *A. calcoaceticus*. Bacteria in simplisia of *S. burahol* leaves packed using paper material: *Shigella* sp., *E. aerogenes*, and *Burkholderia cepacia*; Vacuum plastic: *A. calcoaceticus*, *Leminorella richardii* and arabic; plastic-coated paper: *A. calcoaceticus*; and paper coated plastic: *L. richardii*. There were no microbes species required by BPOM found in simplisia that packaged using various types of packaging materials. Recommendation for simplisia packaging material is using vacuum plastic.

Keywords : *Echinacea purpurea*, *Stelechocarpus burahol*, microbes, packaging material types

### **Abstrak**

Gaya hidup kembali ke alam mendorong pengembangan penelitian herbal di dunia. Kualitas produk herbal dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk proses pengemasan dan jenis bahan kemasan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi mikroba dalam simplisia kering *Echinacea purpurea* dan *Stelechocarpus burahol* yang dikemas dalam 4 jenis bahan kemasan (Kertas, plastik vakum, kertas berlapis plastik, kertas dilapisi plastik). Sampel dikumpulkan setelah disimpan selama 2 bulan di WKJ (Wisata Kunjungan Jamu) Kalibakung. Mikroba ditanam dalam media PCA (Plate Count Agar), dilakukan pengamatan morfologi koloni, pemurnian mikroba dalam media NA (Nutrient Agar), pewarnaan gram, Uji Katalase, Tes Oksidase, dan Uji Identifikasi menggunakan RapID™ ONE System. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi bahan kemasan memiliki efek pada spesies mikroba yang tumbuh pada simplisia *E. purpurea* dan *S. burahol*. Bakteri pada simplisia *E. purpurea* yang dikemas menggunakan bahan kertas adalah *Corynebacterium jeikeium* dan *Leminorella richardii*; Plastik Vakum: *Enterobacter cloacae*; kertas berlapis plastik: *E. aerogenes* dan *Acinetobacter calcoaceticus*; dan kertas plastik: *A. calcoaceticus*.

Bakteri dalam simplisia daun *S. burahol* dikemas menggunakan bahan kertas: *Shigella sp.*, *E. aerogenes*, dan *Burkholderia cepacia*; Plastik vakum: *A. calcoaceticus*, *Leminorella richardii* dan *A. calcoaceticus*; kertas berlapis plastik: *A. calcoaceticus*; dan plastik berlapis kertas: *L. richardii*. Tidak ada spesies mikroba yang disyaratkan oleh BPOM ditemukan pada simplisia yang dikemas menggunakan berbagai jenis bahan kemasan. Rekomendasi untuk bahan kemasan simplisia adalah menggunakan plastik vakum.

Kata kunci: *Echinacea purpurea*, *Stelechocarpus burahol*, mikroba, jenis bahan kemasan

## PENDAHULUAN

Gerakan gaya hidup dengan slogan “*back to nature*” saat ini kembali marak di masyarakat. Gerakan ini didorong oleh keyakinan bahwa obat dari bahan alami relatif lebih aman dibanding bahan sintetik. Hal ini memiliki arti penting baik dalam aspek medis maupun ekonomi, sehingga mendorong berbagai penelitian dan industrialisasi obat-obatan berbasis herbal di berbagai negara termasuk Indonesia.<sup>1</sup> Indonesia sebagai negara tropis yang memiliki berbagai jenis tanaman obat turut mengembangkan penelitian dan perbaikan mutu bahan herbal. Upaya kesehatan diselenggarakan dalam bentuk kegiatan dengan pendekatan promotif, preventif, kuratif, dan rehabilitatif yang dilaksanakan secara terpadu, menyeluruh, dan berkesinambungan.<sup>2</sup>

Pengelolaan pasca panen secara tepat diharapkan dapat menjaga mutu simplisia, termasuk di dalamnya mencegah pertumbuhan bakteri patogen.<sup>3</sup> Salah satu proses penting yang ikut menentukan kualitas, khasiat, dan keamanan penggunaan simplisia tanaman obat adalah proses pengemasan dan penyimpanan. Pengemasan dilakukan untuk mencegah terjadinya kerusakan dan menambah umur simpan. Proses penyimpanan berpengaruh terhadap sifat organoleptik bahan seperti rasa, aroma, warna dan tekstur.<sup>4</sup>

Penyimpanan dengan jenis kemasan yang tepat berguna untuk mempertahankan komposisi senyawa aktif dan menekan pertumbuhan bakteri sebagai sumber cemaran biologis simplisia. Oleh karena itu, diperlukan penelitian mikrobiologis selama masa simpan simplisia tertentu untuk menentukan jenis kemasan yang tepat.

Pengujian mikrobiologis yang paling umum dilakukan sebagai kontrol kualitas simplisia serbuk tanaman obat selama masa simpan tertentu adalah pengujian angka lempeng total dan angka jamur serbuk. Penelitian tentang

identifikasi mikroba pencemar serbuk simplisia belum banyak dilakukan. Identifikasi bakteri penting untuk memastikan simplisia tanaman obat yang digunakan sebagai bahan baku obat tradisional tidak mengandung bakteri patogen sehingga aman digunakan sebagai bahan baku ramuan tradisional sesuai dengan peraturan Kepala Badan POM No. 12 tahun 2014.<sup>5</sup>

Herba Ekinase (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) dan daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook.f. & Thomson) merupakan penyusun ramuan jamu saintifik hiperurisemia. Ramuan jamu tersebut dikirimkan ke jejaring Saintifikasi jamu yang melakukan penelitian berbasis pelayanan, salah satunya yaitu Wisata Kunjungan Jamu (WKJ) yang terletak di desa Kalibakung, Kabupaten Tegal, Provinsi Jawa Tengah. Suhu rata-rata di WKJ adalah 25,61°C dan kelembaban rata-ratanya 90,17%. Oleh karena itu, penelitian mikrobiologis yang lebih mendalam terkait dengan identifikasi mikroba pencemar pada ramuan jamu perlu dilakukan sebagai salah satu upaya menjaga stabilitas simplisia agar tetap aman dan berkhasiat.

## BAHAN DAN METODE

### *Penyiapan Sampel Penelitian*

Bahan segar herba ekinase dan daun kepel diperoleh dari kebun budidaya B2P2TOOT, selanjutnya dilakukan proses pasca panen menjadi simplisia kering di Laboratorium Pasca Panen B2P2TOOT. Rangkaian proses pasca panen meliputi sortasi basah, pencucian, penirisan, perajangan, pelayuan, pengeringan, pengukuran kadar air (maksimal <10%), sortasi kering, pengemasan dan pelabelan.<sup>6</sup>

Sampel penelitian dikemas menggunakan 4 variasi bahan kemasan yaitu kertas (K), plastik vakum (PV), kertas lapis plastik (KLP) dan plastik lapis kertas (PLK), masing-masing variasi kemasan berisi 500 gram dan dibuat sebanyak 5 bungkus sebagai ulangan. Bahan kemasan yang

berupa kertas (*paperbag*) dan plastik merupakan bahan yang serupa untuk membungkus simplisia di Klinik Hortus Medicus B2P2TOOT. *Paperbag* terbuat dari kertas HVS 70gram berwarna putih, sedangkan plastik menggunakan plastik bening PE ukuran 0,5x16x28cm.

Sampel penelitian disimpan di WKJ Kalibakung selama 2 bulan (1 Mei - 30 Juni 2015). Koleksi sampel dilakukan setelah 2 bulan penyimpanan dan dilanjutkan uji identifikasi bakteri di Laboratorium Mikrobiologi B2P2TOOT.

### **Penanaman Bakteri**

Masing-masing jenis simplisia dihaluskan menggunakan grinder dan disaring dengan ayakan mesh 40. Sebanyak 1 gram serbuk simplisia dilarutkan dalam 9 mL NaCl 0,9% (pengenceran  $10^{-1}$ ). Pengenceran bertingkat dilakukan hingga  $10^{-6}$ . Sebanyak 1  $\mu$ L larutan dituangkan ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan 15 mL PCA (*Plate Count Agar*) yang telah didinginkan hingga mencapai suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ . Petri dibungkus dengan kertas cokelat dan diinkubasi selama 2x24 jam.<sup>7</sup>

### **Pengamatan Morfologi Bakteri**

Pengamatan morfologi koloni bakteri dilakukan pada setiap jenis koloni bakteri dengan 7 parameter yaitu ukuran, pigmentasi (warna), karakteristik optik, bentuk, elevasi, permukaan, dan *margin*<sup>8</sup>. Koloni bakteri diamati dengan mikroskop cahaya (Nikon Eclipse E200).

### **Pembuatan medium NA**

*Nutrient Agar* merupakan medium umum non-selektif yang dapat digunakan untuk menumbuhkan berbagai jenis bakteri. Prosedur uji biokimia dengan kit RapID™ mensyaratkan penggunaan medium tertentu salah satunya adalah medium NA.

Serbuk *Nutrient Agar* dan akuades yang dibutuhkan dihitung dengan formula 20 gram/liter medium. Medium yang telah dibuat kemudian dilakukan proses sterilisasi menggunakan autoklaf. Medium steril dituang ke dalam cawan petri steril dan didiamkan hingga memadat.<sup>7</sup>

### **Isolasi dan Purifikasi Bakteri**

Purifikasi bakteri dilakukan dengan teknik isolasi menggunakan metode *streak plate*. Masing-masing koloni bakteri yang

telah dikarakterisasi sebelumnya diambil menggunakan ose secara hati-hati, sehingga koloni bakteri lain tidak ikut terambil. Bakteri pada ose digoreskan pada medium agar di cawan petri, kemudian diberi label dan dibungkus dalam keadaan terbalik dengan menggunakan kertas pembungkus. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu  $35-37^{\circ}\text{C}$  dan dilakukan pengamatan untuk memastikan kemurnian bakteri setelah inkubasi selesai.<sup>7</sup>

### **Kultur bakteri murni**

Isolat bakteri hasil purifikasi diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan pada medium agar petri dengan metode *streak plate*. Kultur bakteri dilakukan secara *duplo* untuk masing-masing isolat bakteri. Cawan petri diberi label, dibungkus terbalik, diinkubasi pada suhu  $35-37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, lalu dilakukan pengamatan terhadap kemurnian biakan.<sup>7</sup>

### **Pewarnaan Gram**

Gelas benda dibersihkan dengan alkohol 70% dan difiksasi di atas bunsen, lalu isolat bakteri diambil sebanyak satu ose dan dioleskan pada gelas benda. Larutan Gram A (*Hucker's violet*) diteteskan pada gelas benda, dibiarkan selama 1 menit, dibilas dengan akuades, dan dikeringkan. Larutan Gram B (*lugol iodine*) diteteskan pada gelas benda, dibiarkan selama 1 menit, dibilas dengan akuades, dan dikeringkan. Larutan Gram C (etanol 96%) diteteskan pada gelas benda, dibiarkan selama 30 detik, dibilas dengan akuades, dan dikeringkan. Larutan Gram D (Safranin) diteteskan pada gelas benda, dibiarkan selama 2 menit, dibilas dengan akuades, lalu dikeringkan.

Setiap gelas benda diberi kode sesuai dengan isolat bakteri, lalu diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran  $10\times 40$ . Karakter yang diamati antara lain bentuk dan warna sel bakteri.<sup>7</sup>

### **Uji Katalase**

Uji Katalase ini digunakan untuk membedakan antara bakteri aerob dan anaerob obligat. Bakteri aerob ditandai dengan hasil positif dari uji katalase. Isolat bakteri diambil sebanyak satu ose dan dioleskan pada gelas benda yang telah dibersihkan. Larutan hidrogen peroksida sebanyak 1-2 tetes diteteskan

pada bekas olesan bakteri pada gelas benda. Reaksi positif uji katalase ditunjukkan dengan pembentukan gelembung.<sup>9</sup>

### Uji Oksidase

Uji oksidase digunakan untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri. Isolat bakteri masing-masing diambil sebanyak satu ose dan dioleskan pada kertas *Whatman* (no 1) yang telah dilipat dan diberi kode. Tabung kaca Bactidrop™ oksidase dihancurkan, lalu reagen diteteskan sebanyak 1-2 tetes pada setiap isolat bakteri. Pengamatan terhadap perubahan warna segera diamati pasca reagen diteteskan dan dilakukan antara 10 sampai 30 detik pasca penambahan reagen. Mikroorganisme bersifat oksidase positif ketika warna berubah menjadi biru dalam waktu 15 hingga 30 detik. Mikroorganisme tertunda positif oksidase ketika warna berubah menjadi ungu dalam 2 hingga 3 menit. Mikroorganisme bersifat oksidase negatif jika warnanya tidak berubah.<sup>10</sup>

### Uji Identifikasi Bakteri

Uji identifikasi bakteri dilakukan dengan *RapID™ ONE System*. Hasil uji selanjutnya dijadikan dasar untuk melakukan *scoring* secara online menggunakan database *ERIC system*.



Gambar 1. Ekinase (*E. purpurea*)<sup>11</sup>,



Gambar 2. Kepel (*S. burahol*)<sup>12</sup>

Tabel 1 . Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri

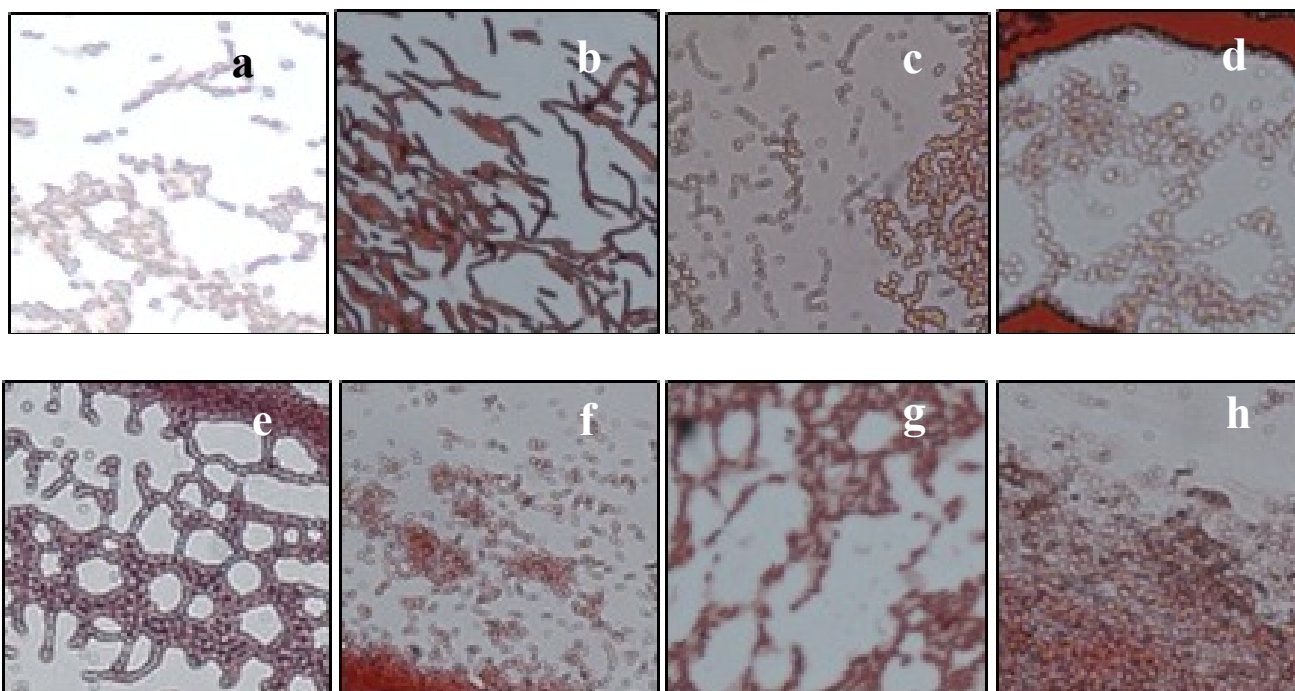
No	Bakteri	Ukuran	Warna	Optis	Bentuk	Elevasi	Permukaan	Margin
1.	EP K1	M	Kuning Orange	Transparant	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Entire
2.	EP K2	S	Kuning Orange	Transparant	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Entire
3.	EP K3	S	Putih	Translucent	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Irregular
4.	EP V1	M	Kuning	Transparant	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Entire
5.	EP V2	M	Putih	Transparant	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Irregular
6.	EP KLP1	M	Putih Kekuningan	Transparant	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Irregular
7.	EP KLP2	M	Putih	Opaque	Circular	Convex	Halus Mengkilap	Entire
8.	EP PLK1	M	Putih	Opaque	Circular	Convex	Halus Mengkilap	Entire
9.	SB K1	M	Kekuningan	Transparant	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Entire
10.	SB K2	M	Putih Kekuningan	Transparant	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Irregular
11.	SB K3	S	Kuning	Translucent	Circular	Convex	Halus Mengkilap	Entire
12.	SB V1	M	Putih	Opaque	Circular	Convex	Halus Mengkilap	Entire
13.	SB V2	M	Putih kekuningan	Translucent	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Entire
14.	SB V4	S	Putih	Translucent	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Irregular
15.	SB V5	M	Putih	Opaque	Circular	Convex	Halus Mengkilap	Entire
16.	SB KLP1	M	Putih Kekuningan	Opaque	Circular	Convex	Halus Mengkilap	Entire
17.	SB PLK1	S	Putih	Translucent	Circular	Raised	Halus Mengkilap	Irregular

Ket: EP (*E. purpurea*), SB (*S. burahol*), K (Kertas), V (Plastik vakum), KLP (Kertas Lapis Plastik), PLK (Plastik Lapis Kertas), S (Small), M (Medium)

**Tabel 2. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni dan Sifat Enzimatis Bakteri**

No	Bakteri	Warna	Gram	Bentuk	Oksidase	Katalase
1.	EP K1	Ungu	+	Rod/cocci	+	+
2.	EP K2	Ungu	+	Rod/cocci	+	+
3.	EP K3	Merah	-	Long Bacilli	-	+
4.	EP V1	Merah	-	Rod/cocci	-	+
5.	EP V2	Merah	-	Rod/cocci	-	+
6.	EP KLP1	Merah	-	Rod/cocci	-	+
7.	EP KLP2	Merah	-	Rod/cocci	-	+
8.	EP PLK1	Merah	-	Rod/cocci	-	+
9.	SB K1	Merah	-	Rod/cocci	-	+
10.	SB K2	Merah	-	Rod/cocci	-	+
11.	SB K3	Merah	-	Rod/cocci	-	+
12.	SB V1	Merah	-	Rod/cocci	-	+
13.	SB V2	Merah	-	Rod/cocci	-	+
14.	SB V4	Merah	-	Long Bacilli	-	+
15.	SB V5	Merah	-	Rod/cocci	-	+
16.	SB KLP1	Merah	-	Rod/cocci	-	+
17.	SB PLK1	Merah	-	Long Bacilli	-	+

Ket: EP (*E. purpurea*), SB (*S. burahol*), K (*Kertas*), V (*Plastik vakum*), KLP (*Kertas Lapis Plastik*), PLK (*Plastik Lapis Kertas*)



**Gambar 3. Hasil pengamatan koloni bakteri dengan mikroskop cahaya. Perbesaran 10x40.**

Keterangan : a. Sel *C. jejekium*, b. Sel *L. richardii*, c. Sel *E. cloacae*, d. Sel *E. aerogenes*, e. Sel *Shigella sp.*, f. Sel *B. cepacia*, g. Sel *A. calcoaceticus* yang lebih memanjang, h. Sel *A. calcoaceticus* bentuk sel spherical pada masa stationar.

**HASIL**

Uji identifikasi bakteri pencemar simplisia herba Ekinase dan daun Kepel dalam penelitian ini hanya dilakukan pada bakteri yang tumbuh di

permukaan media PCA karena keterbatasan bahan untuk melakukan identifikasi bakteri anaerob obligat. Koloni bakteri yang tumbuh dan berhasil diisolasi sebanyak 17 koloni (Tabel 1).

Pengamatan morfologi koloni bakteri dilakukan pada setiap jenis koloni yang telah

diisolasi (Gambar 3). Jenis bakteri yang berbeda menunjukkan karakter bentuk koloni dan sel yang bervariasi.

Pasca isolasi, isolat bakteri diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 24 jam. Prosedur identifikasi dilanjutkan dengan melakukan pengecatan Gram, uji katalase, dan uji oksidase (Tabel 2).

Isolat kemudian diidentifikasi lanjut menggunakan *RapID™ ONE system*. Terdapat 2 sampel yang tidak dilakukan uji karena sampel rusak/terkontaminasi. Hasil identifikasi masing-masing isolat bakteri tercantum dalam Tabel 3.

## PEMBAHASAN

Pengamatan karakteristik morfologi dapat digunakan dalam tahap awal identifikasi bakteri. Namun, karakteristik morfologi belum dapat digunakan untuk identifikasi bakteri hingga tingkat spesies karena penampakan morfologi koloni yang sama belum tentu memiliki nama spesies yang sama, begitu pula sebaliknya<sup>13</sup>. Jenis bakteri yang berbeda dapat terlihat serupa pada pengamatan morfologi koloni maupun sel, serta memperlihatkan hasil yang sama pada pengecatan gram maupun reaksi uji katalase dan oksidase. Hal tersebut dapat terjadi terutama pada jenis bakteri yang tergolong dalam genus yang sama, atau antar bakteri yang memiliki hubungan kekerabatan yang masih cukup dekat.

Bakteri yang teridentifikasi mencemari simplisia herba Ekinase dan daun Kepel sebanyak 7 spesies yaitu *C. jeikeium*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *A. calcoaceticus*, *L. richardii*, *Shigella* sp., dan *B. cepacia* (Gambar 3). Beberapa mikroba memiliki kemiripan dengan mikroba lain seperti *Leminorella* yang bentuknya sangat mirip dengan *Salmonella*, begitu pula *Enterobacter aerogenes* yang sempat dikenal dengan nama lain *Klebsiella mobilis* atau *Klebsiella aerogenes* karena memiliki kemiripan molekuler. Oleh karena itu, karakteristik morfologi dan sifat bakteri dalam penelitian ini dicocokkan dengan karakteristik yang dikemukakan oleh Garrity (2005)<sup>14</sup>.

Terdapat 3 jenis bakteri yang dapat tumbuh pada simplisia herba ekinase dan daun kepel, antara lain yaitu *L. richardii*, *A. calcoaceticus*, dan *E. aerogenes*. Jenis bakteri yang hanya ditemukan di simplisia herba ekinase adalah *C. jeikeium* dan *E. cloacae*, sedangkan *B. cepacia* dan *Shigella* sp. hanya ditemukan pada simplisia daun kepel. Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan spesies tanaman,

bagian yang digunakan, serta proses budidaya, panen maupun pasca panen masing-masing simplisia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis bakteri yang tumbuh pada simplisia dengan kemasan kertas lebih banyak dibandingkan dengan pengemas lain. Bakteri yang ditemukan tumbuh pada simplisia dengan kemasan kertas adalah *C. jeikeium*, *L. richardii*, *E. aerogenes*, *Shigella* sp. dan *B. cepacia*. Hal tersebut dapat dimungkinkan akibat adanya kontak mikroorganisme selama pengemasan, penyimpanan, dan distribusi dapat dengan masuk melalui pori-pori kertas yang cukup besar. Selain itu, kemasan kertas umumnya tidak cukup efektif digunakan untuk menjaga kadar air bahan tetap rendah, sehingga risiko pertumbuhan bakteri kontaminan pada simplisia yang dikemas menggunakan pengemas kertas kurang terjamin.

Bakteri yang ditemukan pada simplisia dengan pengemas plastik vakum yaitu *E. cloacae*, *A. calcoaceticus*, dan *L. richardii*. Kemasan plastik vakum, kertas lapis plastik, dan plastik lapis kertas memiliki kemampuan yang sama dalam hal melindungi simplisia tanaman obat dari kontaminasi bakteri. Hal tersebut dibuktikan dari hasil identifikasi jenis cemaran bakteri serbuk yang tidak terlalu berbeda satu sama lain.

*Burkholderia cepacia* dan *A. calcoaceticus* merupakan bakteri aerob. *Corynebacterium jeikeium*, *L. richardii*, *E. cloacae*, *E. aerogenes* dan *Shigella* sp. merupakan bakteri anaerob fakultatif.<sup>14</sup> Oleh karena itu ketujuh bakteri tersebut dapat tumbuh di permukaan medium.

Keberadaan bakteri pencemar simplisia herba Ekinase dan daun Kepel dapat berasal dari berbagai sumber. Mikroba dapat berasal dari air, baik air irigasi yang digunakan selama masa budidaya tanaman obat, maupun air pencucian yang digunakan pada tahap pascapanen.<sup>15</sup> Mikroba dalam air umumnya berasal dari kotoran atau luka pada manusia dan hewan<sup>16</sup>. *Leminorella*, *E. cloacae*, *E. aerogenes* dan *A. calcoaceticus* merupakan bakteri yang umum terisolasi dari sampel air.<sup>17-19</sup>

Adanya mikroba dalam simplisia dimungkinkan berasal dari kontak sampel dengan kulit pekerja, baik pada saat panen, pascapanen, produksi, maupun pengujian di laboratorium. *Corynebacterium jeikeium* dan *E. cloacae* dapat ditemukan di kulit manusia.<sup>20,21</sup>

Selain itu, mikroba berasal dari tanah, dimana bakteri tetap dapat bertahan hidup saat proses pasca panen dilakukan. Beberapa strain *Enterobacter* diidentifikasi sebagai bakteri penyubur tanah pada akar tanaman karena berperan sebagai pengikat nitrogen, simbiosis endofit dan melawan

*Phytium ultimum* (penyebab penyakit akar dan buah).<sup>14</sup>

Sumber lainnya yaitu mikroba secara alami terdapat pada tanaman, seperti *A. calcoaceticus* dan *B. cepacia*. *Acinetobacter calcoaceticus* merupakan bakteri yang tergolong sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dengan memproduksi hormon giberelin. Aplikasi kultur *A. calcoaceticus* juga telah digunakan sebagai bahan tambahan pada pupuk sintetis yang digunakan untuk memicu pertumbuhan tanaman budidaya.<sup>22</sup> *Burkholderia cepacia* bermanfaat sebagai pupuk hayati, pencegah hama tanaman, promotor pertumbuhan tanaman, dan agen degradatif bahan beracun, namun penggunaan yang luas juga dapat berbahaya bagi manusia.<sup>23</sup>

Bakteri *L. richardii*, *Acinetobacter spp* dan *C. jeikeium* dikategorikan sebagai bakteri *nosocomial pathogen*. Namun, laporan kasus infeksi pada manusia yang disebabkan oleh *L. richardii* dan *Acinetobacter spp* masih jarang ditemukan.<sup>14</sup> Infeksi *Acinetobacter spp* pada manusia dapat mengakibatkan terjadinya infeksi saluran kemih, meningitis, pneumonia, infeksi kulit, dan luka. Meskipun demikian, *Acinetobacter spp* dikategorikan sebagai *low grade pathogen* dan persentase terjadinya penyakit yang ditimbulkan kecil.<sup>24</sup> Sedangkan *C. jeikeium* dalam jumlah besar dapat menyebabkan sepsis dan meningitis.<sup>25</sup>

*Enterobacter* banyak terdapat di alam, namun dapat menjadi bakteri patogen. *Enterobacter cloacae* dan *E. aerogenes* merupakan spesies yang paling sering ditemukan pada specimen klinis manusia. Kedua bakteri ini menyebabkan berbagai infeksi oportunistik serta telah multiresisten terhadap antibiotik dalam tiga dekade terakhir.<sup>17,26,27</sup> Infeksi bakteri *Shigella sp.* dalam kolon manusia dapat menyebabkan disentri.<sup>28</sup> *Burkholderia cepacia* merupakan patogen oportunistik yang tidak terlalu berbahaya, meski dalam jumlah yang berlebih dapat menyebabkan pneumonia, *cystic fibrosis*, infeksi luka, infeksi saluran kemih<sup>29</sup> terutama orang dengan sistem imun yang lemah.<sup>30</sup>

Hasil identifikasi dapat menunjukkan bahwa simplisia yang dikemas dengan berbagai variasi kemasan bebas dari mikroba yang disyaratkan oleh BPOM<sup>5</sup>, yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, dan *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri anaerob fakultatif serta *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri aerob atau anaerob fakultatif. Namun, bakteri pencemar yang teridentifikasi sebagian merupakan bakteri patogen.

## KESIMPULAN

Mikroba pencemar simplisia *E. purpurea* dengan kemasan kertas yaitu *C. jeikeium* dan *L. richardii*; Plastik Vakum : *E. cloacae*; kertas lapis plastik : *E. aerogenes* dan *A. calcoaceticus*; dan plastik lapis kertas : *A. calcoaceticus*.

Mikroba yang tumbuh pada simplisia *S. burahol* dengan kemasan kertas : *Shigella sp.*, *E. aerogenes* dan *B. cepacia*; Plastik vakum : *A. calcoaceticus*, *L. richardii* dan *A. calcoaceticus*; kertas lapis plastik : *A. calcoaceticus*; dan Plastik lapis kertas : *L. richardii*.

Kemasan plastik vakum dapat dianggap sebagai kemasan yang terbaik karena hanya mengandung satu jenis mikroba dan harganya paling ekonomis dibanding jenis pengemas lainnya. Sampel herba ekinase dan daun kepel yang disimpan di WKJ tidak mengandung mikroba yang disyaratkan oleh BPOM, namun beberapa mikroba termasuk dalam bakteri patogen. Hasil identifikasi dapat digunakan sebagai acuan dalam pengolahan simplisia dan pengkondisian lingkungan penyimpanan simplisia agar bakteri patogen tidak tumbuh.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada laboran Laboratorium Mikrobiologi B2P2TOOT yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR RUJUKAN

1. Mirza, Amanah S, Sadono D. Tingkat Kedinamisan Kelompok Wanita Tani dalam Mendukung Keberlanjutan Usaha Tanaman Obat Keluarga di Kabupaten Bogor, Jawa Barat. J Penyul. 2017;13(2):181–93.
2. Presiden Republik Indonesia. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 36 Tahun 2009 Tentang Kesehatan. Indonesia; 2009 p. 12.
3. Noor R, Huda N, Rahman F, Bashar T, Munshi SK. Microbial Contamination in Herbal Medicines Available in Bangladesh. Bangladesh Med Res Counc Bull. 2013;39:124–9.
4. Kumalasari D, Nurhidajah. Variasi Jenis Kemasan dan Lama Penyimpanan pada Suhu Dingin terhadap Kadar Vitamin C dan Daya Terima Jam Rosella (*Hibiscus sabdariffa*). J Pangan dan Gizi. 2011;2(3):55–66.
5. Kepala BPOM. Peraturan Kepala Badan POM. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat

- dan makanan Nomor 12 tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Jakarta : Badan POM; 2014.
6. B2P2TOOT. Pedoman Budidaya, Panen dan Pascapanen Tanaman Obat. Karanganyar: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Balitbangkes Kemenkes RI; 2015.
  7. Waluyo L. Teknik dan Metode Dasar Mikrobiologi. 2nd ed. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press; 2010.
  8. Putri MH, Sukini, Yodong. Mikrobiologi. Jakarta: Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Badan PPSDM, Kementerian Kesehatan RI; 2017.
  9. Reiner K. Catalase Test Protocol. In: ASM Conference for Undergraduate Educators. American Society for Microbiology; 2010. p. 1–9.
  10. Shields P, Cathcart L. Oxidase Test Protocol - Library. In: ASM Conference for Undergraduate Educators. American Society for Microbiology; 2010. p. 1–5.
  11. B2P2TOOT. Galeri Foto Tanaman Obat [Internet]. 2017. Available from: [http://www.b2p2toot.litbang.kemkes.go.id/index.php?page=galeri&album=Tanaman Obat](http://www.b2p2toot.litbang.kemkes.go.id/index.php?page=galeri&album=Tanaman%20Obat) [diakses : 9 April 2020].
  12. Sam. Ciri Ciri Pohon Kepel (*Stelechocarpus burahol*) di Alam Liar [Internet]. 2020. Available from: <https://www.ciriciripohon.com/2020/02/ciri-ciri-pohon-kepel-di-alam-liar.html> [diakses : 9 April 2020].
  13. Christopher K, Bruno E. Identification of Bacterial Species. In: O'Donnell MA, editor. Bacterial Identification. University of Alberta; 2003. p. 103–30.
  14. Garrity GM. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Part B: The Gammaproteobacteria. Second. Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, editors. United States of America: Springeronline.com; 2005.
  15. Agyeman-duah E, Quaidoo EY, Mills-robertson FC. Microbial quality of herbal powders in Ghana. *Edorium J Microbiol.* 2017;3:10–7.
  16. Grimont F, Grimont PAD. The Genus *Enterobacter*. In: *Prokaryotes*. 2006. p. 197–214.
  17. Davin-Regli A, Pagès JM. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; Versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Front Microbiol.* 2015;6:1–10.
  18. Thakur M, Negi S, Kumar A, Patil S, Kumar A, Sharma N. Prevalence and Characterization of Water Contamination Indicator Bacteria with Special Reference to Coliforms from Drinking Water Supply in Solan City of Himachal Pradesh. *Biol Forum.* 2012;4(1):85–9.
  19. De Vos D, Pirnay JP, Bilocq F, Jennes S, Verbeke G, Rose T, et al. Molecular epidemiology and clinical impact of *acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex in a belgian burn wound center. *PLoS One.* 2016;11(5):1–26.
  20. Buckle J. Infection. In: *Clinical Use of Aromatherapy Section II*. 2012. p. 130–67.
  21. Bernard K. The genus *Corynebacterium* and other medically relevant coryneform-like bacteria. *J Clin Microbiol.* 2012;50(10):3152–8.
  22. Kang S, Khan AL, Hamayun M, Shinwari ZK, Kim Y, Joo G, et al. *Acinetobacter calcoaceticus* Ameliorated Plant Growth and Influenced Gibberellins and Functional Biochemicals. *Pak J Bot.* 2012;44(1):365–72.
  23. Chiarini L, Bevivino A, Dalmastri C, Tabacchioni S, Visca P. *Burkholderia cepacia* complex species : health hazards and biotechnological potential. *TRENDS Microbiol.* 2006;14(6):277–86.
  24. Almasaudi SB. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi J Biol Sci.* 2016;25:586–96.
  25. Tauch A, Kaiser O, Hain T, Goesmann A, Weisshaar B, Albersmeier A, et al. Complete Genome Sequence and Analysis of the Multiresistant Nosocomial Pathogen *Corynebacterium jeikeium* K411, a Lipid-Requiring Bacterium of the Human Skin Flora. *J Bacteriol.* 2005;187(13):4671–82.
  26. Ozcan N, Yakut S, Genisel N, Atmaca S. Identification and antimicrobial susceptibilities of *Enterobacter* species isolated from clinical specimen in southeastern Turkey from 2015 to 2017. *J Bacteriol Mycol.* 2020;8(1):175–8.
  27. Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. *Enterobacter cloacae* complex : clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiol.* 2012;7(7):887–902.
  28. Thompson CN, Duy PT, Baker S. The Rising Dominance of *Shigella sonnei*: An Intercontinental Shift in the Etiology of Bacillary Dysentery. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;1–13.
  29. Torbeck L, Raccasi D, Guilfoyle DE, Friedman RL, Hussong D. *Burkholderia cepacia* : This Decision Is Overdue. *PDA J Pharm Sci Technol.* 2011;65(5):535–43.
  30. Tubuh IWDA, Budayanti NNS, Fatmawati NND. Karakteristik pasien dengan infeksi *Burkholderia cepacia* di RSUP Sanglah pada tahun 2014-2016. *Intisari Sains Medis.* 2019;10(1):48–52.