

GAMBARAN CEMARAN JAMUR, JAMUR *Aspergillus flavus* DAN AFLATOKSIN PADA SIMPLISIA DARI PABRIK JAMU DI PULAU JAWA

Ani Isnawati* Daroham Mutiatikum, Nikmah. B *

Abstrak

Bahan baku obat tradisional (simplisia) umumnya berasal dari alam terutama bahan tumbuh-tumbuhan atau bagian tumbuhan. Bahan-bahan tersebut dapat terkontaminasi mikroba selama penanaman, pengeringan, penyimpanan, sehingga dapat mencemari simplisia. Keadaan lingkungan dan iklim Indonesia sangat menunjang perkembangan jamur dan pembentukan aflatoksin. Sehingga untuk mengetahui berapa besar cemaran jamur, jamur Aspergillus flavus dan aflatoksin pada simplisia, maka dilakukan penelitian mengenai "Gambaran Cemaran Jamur, Jamur A. flavus dan aflatoksin Pada Simplisia"

Penelitian dilakukan terhadap 5 jenis simplisia yang diambil secara purposive dari 5 pabrik di Jakarta dan sekitarnya, 5 pabrik di Jawa Tengah dan 5 pabrik di Jawa Timur. Pemeriksaan angka kapang, jamur A.flavus di tetapkan secara mikrobiologi sedangkan penetapan aflatoksin ditetapkan secara KLT (kromatografi Lapis Tipis).

Hasil penelitian angka kapang menunjukkan bahwa jumlah Kencur, Adas dan Jung rahab masing-masing 33,33 % tidak memenuhi batas persyaratan Kepmenkes No. 661/MENKES/SK/VII/1994, sedangkan Laos 22,22 % serta Sembung 11,11%. A. flavus ditemukan pada Adas 77,77 % dengan positif aflatoksin B2 55,55%, pada Kencur ditemukan A. flavus 33,33 % dijumpai positif aflatoksin B1 11,11 %, dan pada Laos, Jung Rahab serta Sembung ditemukan A. flavus masing-masing 11,11%. Jung rahab positif aflatoksin B1 11,11 %, Sembung tidak positif aflatoksin.

Kata kunci : Kencur, Laos, Adas, Jung rahab, Sembung, Jamur, Aspergillus flavus, aflatoksin

Pendahuluan

Obat tradisional masih mempunyai peranan penting dalam pengobatan/pelayanan kesehatan di masyarakat. Bahan baku obat tradisional umumnya berasal dari alam, seperti: hewan dan tumbuh-tumbuhan. Namun, dalam hal ini yang utama adalah berasal dari bahan tumbuh-tumbuhan atau bagian tumbuhan yang berupa daun, ranting, biji-bijian, bunga, kulit kayu, akar atau umbi.

Simplisia-simplisia tersebut dapat tercemar mikroba selama proses penanaman, pengeringan dan penyimpanan. Di daerah iklim tropik terutama di Indonesia dengan kondisi yang tidak mengun-

tungkan seperti suhu dan kelembaban tinggi dapat memicu/mendukung pertumbuhan mikroorganisme termasuk jamur. Adapun suhu optimum untuk pertumbuhan jamur yakni berkisar antara 25° C-30° C serta kelembaban 65%-93%. Tumbuhnya mikroorganisme pada sediaan simplisia dapat menurunkan mutu khasiat dan keamanannya, terutama hasil metabolitnya misal: aflatoksin. Salah satu jamur penghasil aflatoksin yaitu jamur *A.flavus* dan jenis-jenis aflatoksin yang dihasilkan adalah aflatoksin B1,B2,G1 dan G2. Aflatoksin merupakan sekelompok metabolit sekunder poliketida yang dapat mengganggu kesehatan.

* Peneliti Puslitbang Farmasi dan Obat Tradisional
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan

Gangguan kesehatan yang ditimbulkan oleh aflatoxin dapat diketahui dari hasil penelitian Purchase et al (1973) pada hewan tikus, menyatakan bahwa tikus jantan lebih peka terhadap aflatoxin ($LD_{50} = 1,53$) dan untuk tikus betina ($LD_{50} = 5,96$). Penelitian lebih lanjut, menunjukkan peristiwa kematian karena aflatoxin yang meningkat pada saat pubertas. Hasil penelitian Heatcote dan Hibbert, 1978 menyatakan bahwa hubungan antara banyaknya aflatoxin yang dimakan dengan terjadinya kanker hati pada manusia (karsinoma hati primer). Semakin besar makanan mengandung aflatoxin maka semakin besar pula terjadinya kanker hati. Aflatoxin B1 dengan dosis rendah bila masuk kedalam tubuh dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan kanker hepar (Soekeni Soedigdo, 1984). Oleh karena itu, Departemen Kesehatan melalui Kepmenkes mengeluarkan peraturan No. 661/ MENKES/ PER/VII/1994 tentang persyaratan obat tradisional yang harus memenuhi persyaratan keamanan, kemanfaatan dan mutu (kadar air, angka kapang, mikroba patogen dan aflatoxin, dll). Hartati dan Margiono (1981), melaporkan bahwa simplisia dan sediaan jamu positif tercemar aflatoxin. Walaupun konsumsi jamu tidak sebesar jika mengkonsumsi makanan namun efek cemaran tidak dapat diabaikan begitu saja karena resiko yang ditimbulkannya untuk penggunaan secara terus menerus.

Berhubung dengan hal tersebut diatas, maka untuk mengetahui sejauh mana pencemaran jamur dan aflatoxin pada jamu/simplisia, maka dilakukan penelitian mengenai "Gambaran Cemaran Jamur dan Aflatoxin pada Simplisia yang diperoleh dari Pabrik Jamu di Pulau Jawa".

Bahan dan Cara

Bahan

Sampel

Sampel yang ditetapkan adalah simplisia yang diduga tercemar jamur dan aflatoxin berdasarkan hasil penelitian Hartati dan Margiono (1981). Sampel tersebut adalah rimpang Kencur (*Kaempferia galanga*), buah Adas (*Foeniculum vulgare*), rimpang Laos (*Alpinia galanga*), daun Jung rahab (*Baekaea frutescens*) dan daun Sembung (*Blumea balsamifera*). Simplisia diambil secara purposive dari 5 pabrik di Jakarta. Dan, sekitar 5 pabrik di Jawa Tengah serta 5 pabrik di Jawa Timur. Masing-masing pabrik di-

ambil 5 simplisia, sehingga jumlah simplisia 5×15 pabrik = 75 simplisia.

Bahan-bahan yang digunakan pada penetapan jumlah jamur dan jenis jamur *A. flavus* adalah *potato dextrosa* agar (PDA) larutan kloramphenicol 100 mg/L media, larutan laktofenol, aquabidestilata (IKA PHARMINDO)

Bahan yang digunakan dalam penetapan aflatoxin secara Kromatografi lapis tipis (KLT) meliputi persiapan ekstrak yaitu aseton (E. Merck), timbal asetat (E. Merck), kloroform (E. Merck) dan air suling, sedangkan baku standar digunakan Aflatoxin B1, B2, G1 dan G2 (MAKOR CHEMICAL). Larutan pengembang digunakan campuran kloroform : aseton (9:1)

Alat

Alat yang digunakan adalah cawan petri, inkubator, autoclave, mikroskop dan jarum ose, neraca elektrik, Chamber, plat silika gel GF 254, lampu UV 254 nm.

Cara Kerja

Cara Penetapan Jamur ditentukan dengan metode sebaran (*Standard Pour Plate Method*). Disiapkan 4 buah tabung masing-masing diisi dengan 9 ml aquadest, 1 gram sampel dimasukkan kedalam salah satu tabung di atas dan dikocok sampai homogen, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} tabung ini disebut tabung I. Cairan pada tabung I dipipet sejumlah 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung lain yang telah berisi 9 ml aquadest dan dikocok sampai homogen hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} , tabung ini disebut sebagai tabung II. Dilakukan hal yang sama seperti cara tersebut di atas terhadap kedua tabung sisa hingga diperoleh pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} . Media PDA yang mengandung 100 mg kloramphenicol/liter media diletakkan kedalam cawan petri (4 set secara duplo). Dari masing-masing pengenceran dipipet 0,5 ml, kemudian dituang ke dalam permukaan media PDA, segera cawan petri digoyang-goyangkan sambil diputar agar suspensi merata di permukaan media. Seluruh cawan petri diinkubasikan pada suhu kamar (20°C - 25°C) selama 5-7 hari. Jumlah koloni jamur yang tumbuh dicatat dan perhitungan angka kapang dapat dilakukan, sebagai berikut : misalkan dalam cawan petri 10^{-4} tercatat 40 koloni jamur, maka angka jamur = 40×10^{-4} koloni/gram sampel.

Cara Penetapan Isolasi Jamur *A. flavus*. Isolasi dilakukan dengan mengambil 1 gram sampel dimasukkan kedalam 9 ml aquadest dalam botol, dikocok sampai homogen. Sampel diatas dipipet 0,5 ml kemudian ditanamkan pada media PDA yang mengandung 100 mg kloramphenicol/ Liter media dalam cawan petri, lalu cawan petri di-goyang dan diputar hingga suspensi merata pada permukaan media. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 20°C-25 °C selama 5-7 hari, setelah selesai masa inkubasi, jamur yang tumbuh diamati pada permukaan media, dan dilakukan pengamatan di bawah mikroskop, dengan cara mengambil sedikit contoh jamur tersangka. Koloni tersangka *A. flavus* berwarna hijau kekuningan cerah, kemudian diletakkan pada kaca obyek yang telah diberi larutan laktofenol, setelah ditutup dengan gelas penutup diamati menggunakan mikroskop.

Identifikasi mikrokultur dibuat irisan media PDA ukuran 0,5 x 0,5 cm, kemudian diletakkan irisan media tersebut diatas kaca obyek. Isolat ditanam *A. flavus* pada irisan media dengan jarum ose, setelah itu ditutup dengan kaca penutup. Kaca obyek diletakkan pada cawan petri dan pada cawan petri diletakkan kertas isap guna mendapatkan kelembaban yang memadai supaya pertumbuhan jamur optimal. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 20°C-25°C selama 4 hari. Setelah jamur bersporulasi konidia dan konidiospora menempel pada permukaan kaca penutup. Hasil dibandingkan dengan jamur tersangka *A. flavus* dari isolasi diatas berdasarkan bentuk koloni dan intensitas warnanya.

Cara penetapan aflatoksin (AOAC,1975) yaitu :

a. Pemurniaan Ekstrak Sampel

Sampel ditimbang $\pm$ 25 gram dimasukkan kedalam blender, kemudian ditambah 125 ml aseton 70% lalu diblender selama 3-5 menit, disaring menggunakan kertas saring. Filtrat sebanyak 75 ml ditampung dalam gelas piala, ditambahkan 30 ml air suling dan 20 ml timbal asetat 20% kemudian dimasukkan batu didih dan diuapkan dalam tangas air sampai volume $\pm$ 75 ml. Endapan dan cairan dipisahkan dengan sentrifuga selama 10 menit, sebelum disentrifuga zat-zat yang masih menempel pada beker dibilas dengan 30 ml aseton 20%. Filtrat yang diperoleh dimasukkan dalam corong pisah kemudian ditambahkan 25 ml kloroform, lalu dikocok kuat-kuat.

Fase kloroform dikeluarkan dengan melewati penyaring yang disumbat "glass-wool" dan diletakkan Na_2SO_4 anhidrat. Diulangi lagi dengan menambahkan 25 ml kloroform dikocok dan disaring kemudian cairan ditampung dalam labu penguap. Larutan kloroform diuapkan dengan rotavapor sehingga diperoleh aflatoksin yang terekstrak di dalam labu penguap. Larutan kloroform diuapkan hingga diperoleh ekstrak aflatoksin yang sudah kering. Sebelum diperlakukan lebih lanjut sejumlah ekstrak kering dilarutkan dengan kloroform sampai jumlah tertentu.

b. Pembuatan Baku Pembanding

Cairan Aflatoksin baku 1 ul diencerkan dengan kloroform, bila konsentrasi rendah cukup dengan 100 ul atau 200 ul dan jika konsentrasi aflatoksin masih tinggi dapat diencerkan dengan 500 ul atau 1000 ul kloroform. Larutan baku aflatoksin yang telah encer ditotolkan pada lempeng kromatografi sebanyak 3 spot, sebanyak 5 ul, 10 ul dan 15 ul.

c. Pemisahan komponen (KLT)

Pelat yang telah ditotolkan dengan sederetan spot standar dan contoh uji dimasukkan ke dalam bejana yang telah berisi larutan pengembang campuran kloroform : aseton (9:1) sebanyak 200 ml kemudian didiamkan hingga larutan pengembang naik sampai tanda batas, lalu pelat diangkat dan dikeringkan.

d. Pengamatan deteksi spot dengan lampu UV 254 nm.

Fluoresensi dari spot-spot contoh dibandingkan tinggi spot dengan warna fluoresensi standar dibawah lampu UV 254 nm (fluoresensi aflatoksin B1 dan B2 adalah biru sedangkan G1 dan G2 adalah hijau). Hasil dari perbandingan tinggi noda (hRF) dengan warna fluoresensi dapat diidentifikasi spot tersebut. Pada saat pengambilan sampel dilakukan observasi dan wawancara mengenai pengadaan simplisia dan penyimpanan simplisia.

Hasil Penelitian

Sampel terkumpul 45 (60%) dari yang telah direncanakan. Adapun perincian perolehan sampel adalah sebagai berikut : 10 (40%) sampel berasal dari DKI Jakarta dan sekitarnya, 25 (100%) sam-

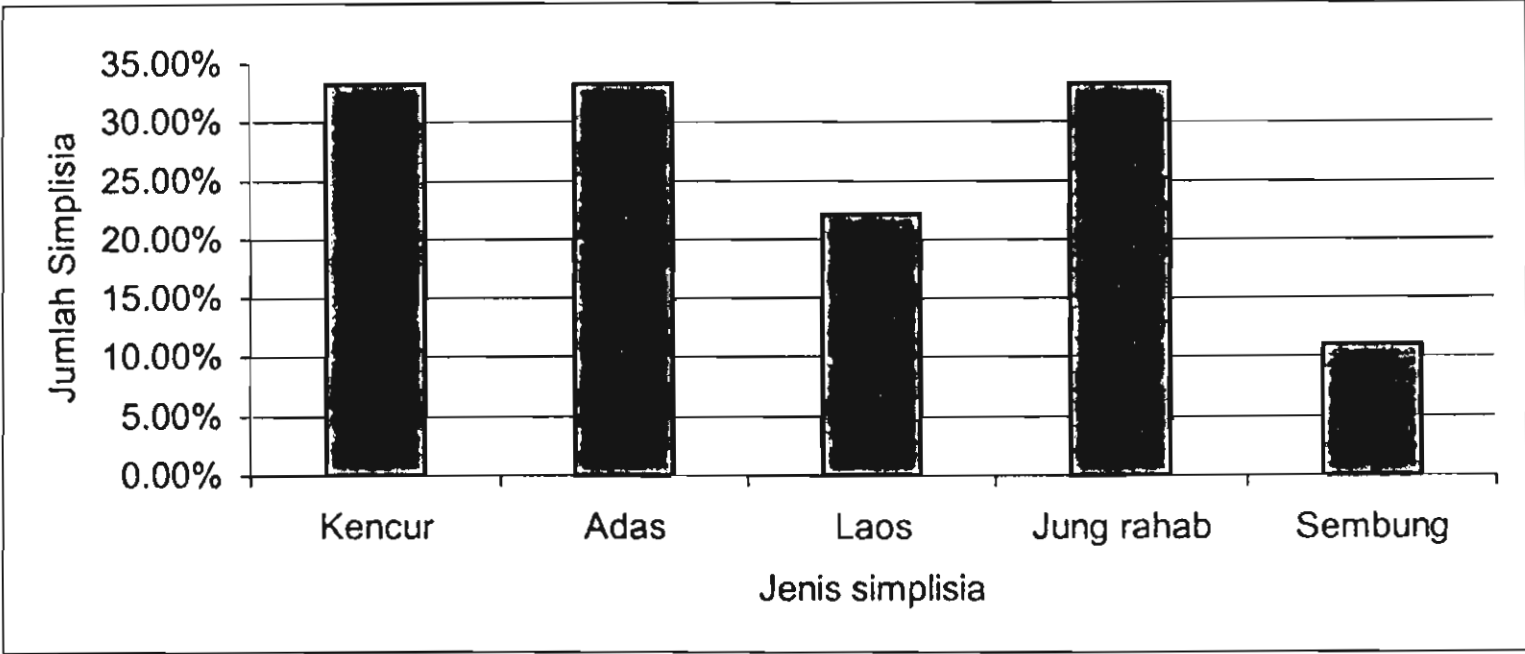
pel berasal dari Jawa Tengah serta 10 (40%) sampel berasal dari Jawa Timur. Hasil pemeriksaan angka jamur (angka kapang) yang merujuk pada Keputusan Menteri Kesehatan R.I No. 661/ MENKES/SK/VII/1994 yang menyatakan bahwa obat tradisional tidak memenuhi batas persyaratan angka kapang yaitu tidak lebih dari 10⁴ dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari hasil pengamatan diatas dapat diketahui bahwa pemeriksaan angka kapang pada simplisia kencur, Adas dan Jung Rahab masing-masing 33,33% dan Laos 22,22% serta Sembung 11,11 % yang tidak memenuhi batas persyaratan angka kapang. Adapun hasil pemeriksaan jamur *A. flavus* dan identifikasi aflatoksin pada simplisia dapat dilihat pada Tabel 1.

Jamur *A.flavus* yang ditemukan terbanyak pada simplisia Adas yaitu 77,77%. Kemudian, diikuti oleh Kencur 33,33% sedangkan Laos, Jung Rahab dan Sembung masing-masing 11,11%. Jenis aflatoksin B2 terbanyak ditemukan pada Adas 55,55%, aflatoksin B1 ditemukan pada Kencur dan Jung Rahab masing-masing 11,11 %, sedangkan aflatoksin G1 terdapat pada Sembung 11,11%

Hasil observasi untuk mengetahui asal simplisia sebagai bahan baku sediaan jamu dari pabrik yang dikunjungi dan diambil produknya sebagai sampel dapat diketahui pada Gambar 2.

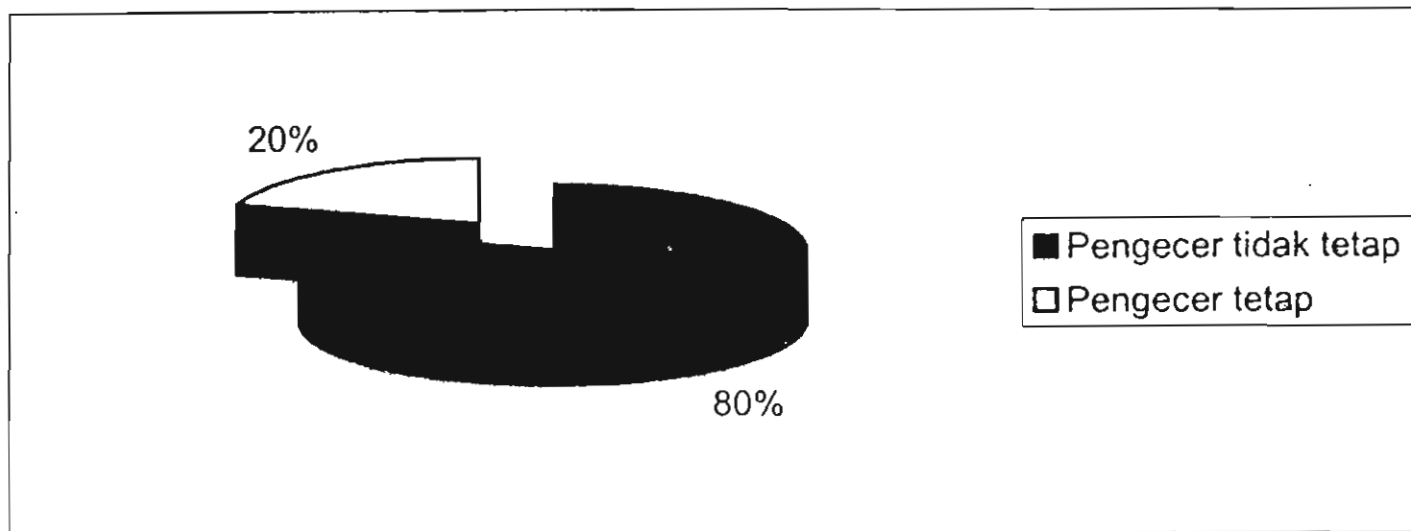
Gambar 1
Jumlah Simplisia yang Tidak Memenuhi Batas Persyaratan Angka Kapang



Tabel 1
Jumlah Simplisia yang Tercemar Jamur *Aspergillus flavus* dan Aflatoksin

Jenis Simplisia	Jumlah Simplisia/Sampel				
	Jamur <i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoksin			
		B1	B2	G1	G2
Kencur	3 (33,33 %)	1(11,11)	-	-	-
Adas	7 (77,77 %)	-	5(55,55%)	-	-
Laos	1 (11,11 %)	-	-	-	-
Jung Rahab	1(11,11%)	1(11,11%)	-	-	-
Sembung	1(11,11%)	-	-	1(11,11%)	-

Gambar 2
Asal Simplisia Pabrik Jamu



Tabel.3.
Jumlah Pabrik yang Menggunakan Perlengkapan Gudang Penyimpanan Simplisia

No.	Perlengkapan penyimpanan	Jumlah Pabrik (N=15)
1.	AC (air conditioner)	2 (13,33%)
2.	Exhaust Fan	3 (20 %)
3.	Humidifier	0%
4.	AC dan Humidifier	0%
5.	Exhaust fan dan Humidifier	0%

Pabrik jamu banyak mengambil simplisia sebagai bahan baku jamu sebagian besar dari pengecer tidak tetap sebanyak 80%, dan pengecer tetap hanya sebanyak 20% sedangkan yang menanam sendiri tidak ada.

Adapun perlengkapan tempat penyimpanan simplisia digudang penyimpanan bahan baku di pabrik jamu yang dikunjungi dapat diketahui pada Tabel 3.

Gudang penyimpanan simplisia ternyata sebagian besar (86,78%) tidak menggunakan perlengkapan apa-apa dan tidak satupun menggunakan dehumidifier, hanya sebesar 13,33% yang menggunakan AC dan 20% menggunakan *Exhaust Fan*.

Pembahasan

Pada pemeriksaan jenis jamur *A. flavus* dan aflatoxin ditemukan bahwa pemeriksaan tidak selalu sejalan yang berarti jika ditemukan afla-

toksin belum tentu ditemukan jamur *A. flavus* atau sebaliknya bila ditemukan *A. flavus* belum tentu terdapat aflatoxin. Ini dapat terjadi karena pada waktu ditemukan adanya aflatoxin diduga jamur *A. flavus* telah mati, sehingga tidak terdeteksi atau sebaliknya jika ditemukan adanya *A. flavus* yang baru tumbuh dan belum menghasilkan aflatoxin, seperti diketahui *A. flavus* ditetapkan dengan pembiakan karena berupa jasad hidup yang bila sudah mati tidak dapat dideteksi, sedangkan aflatoxin adalah hasil metabolisme dari jasad renik atau jamur dan dapat dideteksi secara fisika/kimia. Menurut Lillehoj (1986) menyebutkan bahwa substrat tertentu dengan a_w 0,91-0,99 sangat baik untuk pertumbuhan *A. flavus* dan pada a_w 0,87 walaupun *A. flavus* masih dapat tumbuh tetapi tidak dapat memproduksi aflatoxin (a_w merupakan kemampuan air untuk berperan dalam proses-proses kerusakan) dan Martin, 1976 menyebutkan pula

pembentukan aflatoksin pada umumnya terjadi pada kelembaban nisbi tinggi yaitu 87%-98% ,suhu 21,1° C sedangkan pada suhu 15° C dan 45° C aflatoksin tidak tumbuh. Kondisi ini mungkin yang terjadi baik pada proses penanaman, pengeringan dan penyimpanan.

Daftar Pustaka

1. Purchase, I.F.H, M, Stein and T.C. Gilfillan, 1973, Chemical Biology Interaction. Dalam Heatcoke, J. G., and J.R. Hibbert, 1978, Aflatoksin : *Chemical and Biological Aspects*, Elsevier scientific Publishing Company, Amsterdam-Oxford-Newyork
2. Heatcoke,J.G and J.R. Hibbert, 1978, Aflatoksin : *Chemical and Biological Aspects*, Elsevier scientific Publishing Company, Amsterdam-Oxford-Newyork
3. Soekeni ,S, 1984, Aflatoksin Dalam Makanan serta Pengaruhnya terhadap Kesehatan, disajikan dalam *Ceramah Ilmiah*, di F.P. MIPA-IKIP, Semarang.
4., 1994, *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor : 661/MENKES/SK/VII/1994* Tentang Persyaratan Obat Tradisional.
5. Hartati, S, Margio, 1981, Jamur Penghasil Mycotoksin Pada Bahan Jamu dan Jamu Tradisional, *Makalah pada Kongres Nasional Mikrobiologi ke III*, Jakarta
6., 1975, *Official Methods of Analysis of Association to Official Analytical Chemist*, 12th ed AOAC, WashingtonDC, USA.
7. Lillehoj, EB, J.H. Wall, E.J. Bowers, 1987, *Effect of Moisture and Substrate Variation in Developing Cotton Seed and Corn Karnels dalam Applied and Environmental Microbiology*, Mar, p 584-586
8. Martin, P.M.D, 1976, *A Consideration of The Mycotoxin Hypothesis with Special Reference to the Mycoflora of Maize, Sorgum, Wheat and Ground nuts*, Tropical Product Institut, London.
9. WHO, 1993, *Research Guidelines For Evaluating The Safety And Efficacy of Herbal Medicines*, WHO Regional Officer for Western Pasific , Manila
10. Depkes RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan I, Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.

*Orang yang arif itu senantiasa tersenyum simpul dan bermuka jernih, bagaimana hatinya tidak bergembira, karena dia memperoleh kebenaran yang dicarinya
(Ibnu Sina)*

