

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Jamu beras kencur dikatakan oleh sebagian besar penjual jamu sebagai jamu yang dapat menghilangkan pegal-pegal pada tubuh. Dengan membiasakan minum jamu beras kencur, tubuh akan terhindar dari pegal-pegal dan linu yang biasa timbul bila bekerja terlalu payah. Selain itu, banyak juga yang berpendapat bahwa jamu beras kencur dapat merangsang nafsu makan, sehingga selera makan meningkat dan tubuh menjadi lebih sehat. Penelitian ini menggunakan 5 sampel jamu beras kencur. Kondisi sampel dalam keadaan baru yang di beli pada penjual jamu gendong untuk melihat cemaran mikrobaanya saat proses produksinya atau sebelum dikonsumsi oleh konsumen. Faktor utama yang menyebabkan kontaminasi produk dalam kondisi baru adalah bahan baku, bahan pengemas, peralatan, prosesnya, dan bisa juga dari penjualnya sendiri, selain itu kemungkinan juga karena kondisi penyimpanan dan kemasan yang tidak memadai.

#### **A. Homogenisasi Sampel**

Homogenisasi sampel merupakan cara penyiapan sampel untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin di dalam sampel yang ditetapkan. Dasar dari homogenisasi adalah membebaskan sel-sel bakteri yang terlindungi oleh partikel dalam sampel dan untuk sel-sel bakteri yang mungkin terganggu kelangsungan hidupnya karena kondisi yang kurang menguntungkan di dalam sampel.

#### **B. Pengenceran Sampel**

Fungsi pengenceran adalah untuk mempermudah perhitungan jumlah koloni, dan untuk mendapatkan jumlah koloni antara 30-300 dan jamur 10-150 koloni, karena jika tidak dilakukan pengenceran, koloni bakteri sangat pekat dan tidak dapat dihitung. Pengenceran sampel menggunakan larutan NaCl steril yang

bertujuan untuk menjaga keseimbangan tekanan osmosis sel-sel mikroba yang mungkin terganggu kelangsungan hidupnya karena kondisi yang mengutungkan dalam sampel (Harti 2014). Konsentrasi NaCl yang tinggi dapat mengganggu tekanan osmosis bakteri sehingga sel menjadi hipotonis (mengkerut dan lama kelamaan mati), terjadi denaturasi protein mikroba, ataupun ionisasi ion klor yang beracun terhadap mikroba (Indarti 2009, diacu dalam Amalia 2016). Pada uji AKK dilakukan pengenceran  $10^{-1}$ - $10^{-4}$  dan untuk uji ALT  $10^{-1}$ - $10^{-6}$ . Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 tahun 2014 persyaratan mutu untuk cairan obat dalam yaitu cemaran mikroba seperti AKK  $\leq 10^3$  dan ALT  $\leq 10^4$ .

### C. Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Uji ALT adalah perhitungan jumlah mikroba dengan cara *viable count* atau disebut juga sebagai *standard plate count* didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel mikroba hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah diinkubasi, jumlah mikroba yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah mikroba dalam suspensi tersebut. Perhitungan jumlah mikroba hidup adalah jumlah minimum mikroba. Hal ini disebabkan koloni yang tumbuh pada lempengan agar merupakan gambaran mikroba yang dapat tumbuh dan berbiak dalam media dan suhu inkubasi tertentu. Prinsip dari uji Angka Lempeng Total (ALT) adalah pertumbuhan mikroba aerob mesofilik setelah diinkubasikan dalam media agar pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam mikroba ditumbuhkan pada suatu media agar, maka mikroba tersebut akan tumbuh dan berkembang biak dengan membentuk koloni yang dapat langsung dihitung.

Uji Angka Lempeng Total dapat digunakan dalam pemeriksaan cemaran mikroba pada bahan baku obat dengan anggapan bahwa setiap sel mikroba yang hidup pada bahan tersebut akan tumbuh menjadi 1 koloni setelah diinkubasikan dalam media biakan dan lingkungan yang sesuai. Setelah masa inkubasi jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah mikroba pada bahan tersebut. Untuk perhitungan jumlah mikroba hidup, pada lempeng agar yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 koloni saja yang

diambil untuk perhitungan. Lempeng agar yang mengandung jumlah koloni lebih dari 300 koloni akan sangat sulit untuk dihitung, sehingga kemungkinan kesalahan perhitungan sangat besar yang akhirnya akan mengurangi keabsahan penelitian. Pengenceran sampel akan membantu dalam memperoleh perhitungan yang benar, namun pengenceran yang terlalu tinggi akan menghasilkan jumlah koloni yang rendah (<30 koloni). Pada jumlah koloni yang terlalu rendah tersebut perhitungan statistik menjadi tidak sah karena terjadi perbedaan mencolok dan tidak bisa digunakan untuk perhitungan. Bila pada seluruh seri pengenceran tidak terdapat jumlah koloni yang memenuhi persyaratan 30-300 koloni, maka tata cara perhitungannya menggunakan cara tertulis.

**Tabel 1. Hasil Perhitungan rata-rata Angka Lempeng Total (ALT) kelima sampel**

Sampel	ALT (koloni/g)
A	$7,5 \times 10^5$
B	$1,4 \times 10^5$
C	$8,0 \times 10^5$
D	$5,0 \times 10^5$
E	$5,2 \times 10^2$

Hasil perhitungan menunjukkan pertumbuhan bakteri yang cukup banyak. Nilai Angka Lempeng Total yang didapatkan pada penelitian ini adalah sampel A, B, C, dan D, melebihi batas sehingga lebih dari  $10^4$  koloni/mL dan tidak memenuhi syarat, sedangkan sampel E adalah  $5,2 \times 10^2$  memenuhi syarat sehingga kurang dari  $10^4$  koloni/mL. Banyaknya jumlah pertumbuhan bakteri tersebut kemungkinan didapatkan dari proses pembuatan jamu. Pada proses pembuatan jamu pemanasan tidak dilakukan hingga mendidih, karena dengan alasan apabila dilakukan pemanasan hingga mendidih maka khasiat jamu akan hilang atau berkurang. Proses tersebut dapat menyebabkan adanya bakteri yang masih hidup. Nilai ALT yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan produk secara fisika dan kimia (Radji 2011).

#### **D. Uji Angka Kapang Khamir (AKK)**

Uji kapang khamir bertujuan untuk melihat dan menghitung jumlah koloni kapang khamir dalam jamu beras kencur dari penjual jamu. Kapang khamir dapat

berkembang dengan baik apabila tempat tumbuhnya sesuai untuk pertumbuhan. Kapang khamir dapat tumbuh pada kondisi kelembaban tinggi dan lingkungan yang hangat.

Uji AKK ini menggunakan media PDA karena media tersebut sesuai untuk pertumbuhan kapang khamir. Penggunaan media PDA berdasarkan kandungan nutrisi pada PDA yang meliputi ekstrak kentang, glikosa, dan agar yang merupakan nutrient baik untuk pertumbuhan kapang khamir (Bridson 2006). PDA merupakan media yang direkomendasikan untuk mendeteksi, menumbuhkan dan menghitung kapang khamir pada produk makanan atau minuman. Kapang khamir dapat tumbuh pada rentang pH pertumbuhan bakteri (6,5-7,5), tetapi pertumbuhan optimumnya berada pada pH 5-6 (Radji 2010).

Prinsip pengujian AKK adalah untuk melihat adanya pertumbuhan kapang khamir pada media yang sesuai setelah diinkubasi selama 5 hari pada suhu 25°C karena merupakan suhu yang baik untuk pertumbuhan kapang khamir. Inkubasi dilakukan 5 hari karena koloni jamur tumbuh lebih lambat dibandingkan dengan bakteri, sehingga membutuhkan waktu beberapa hari sampai tumbuh koloni yang dapat dilihat pada permukaan agar (Cappuccino 2008). Penggunaan kontrol media PDA dilakukan dengan tujuan untuk melihat bahwa tidak ada pertumbuhan kapang khamir yang berasal dari media tersebut. Pengamatan AKK dilakukan setelah inkubasi pada hari ke-5. Pengamatan dilakukan hingga hari ke-5 yang merupakan puncak pertumbuhan fungi. Setelah inkubasi hari ke-5, koloni yang tumbuh dihitung. Perhitungan koloni khamir yaitu berbentuk bulat, bewarna putih dan terpisah, sedangkan koloni kapang tanpa membedakan warna koloni serta tunggal. Apabila terdapat koloni yang bertumpuk, maka dianggap sebagai 1 koloni.

**Tabel 2. Angka Kapang Khamir (AKK) Jamu Beras Kencur setelah 5 Hari Inkubasi**

Pengenceran	jumlah koloni sampel A (koloni/mL)		jumlah koloni sampel B (koloni/mL)		Jumlah koloni sampel C (koloni/mL)		Jumlah koloni sampel D (koloni/mL)		Jumlah koloni sampel E (koloni/mL)	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
10 <sup>-1</sup>	6	8	7	9	5	0	0	0	0	0
10 <sup>-2</sup>	4	6	1	3	0	0	0	0	0	0
10 <sup>-3</sup>	2	4	2	4	1	0	0	0	0	0
10 <sup>-4</sup>	3	5	2	1	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel II, maka AKK dari tiap sampel dapat ditentukan (tabel III).

**Tabel 3. Angka Kapang Khamir (AKK) Jamu Beras Kencur dari 5 sampel Jamu Beras Kencur**

Sampel	AKK (koloni/mL)
A	$7 \times 10^1$
B	$8 \times 10^1$
C	$2,5 \times 10^1$
D	<10
E	<10

Berdasarkan data yang diperoleh (tabel III) dari kelima sampel jamu beras kencur yang diuji, sampel jamu A, B, C, D, E tersebut berada pada batas aman atau masuk dalam range aman untuk persyaratan obat tradisional yang ditetapkan oleh BPOM No. 12 Tahun 2014 yaitu AKK yang diperbolehkan tidak melebihi  $10^3$ . Terlebih untuk penjual jamu beras kencur yang keempat (sampel D) dan kelima (sampel E) diperoleh hasil <10 koloni/mL yang artinya bahwa sampel jamu beras kencur tidak tercemar kapang khamir sama sekali setelah inkubasi selama 5 hari. Hasil tersebut dipengaruhi oleh cara pembuatan jamu beras kencur, bahan baku yang digunakan dalam proses pembuatan jamu beras kencur, serta cara penyimpanan jamu beras kencur tersebut. Pencucian yang bersih setidaknya dapat mengeliminasi kapang khamir dari bahan baku jamu beras kencur berupa rimpang-rimpangan. Pemanasan yang tinggi dapat menjadi faktor minimnya AKK yang tumbuh pada sampel jamu beras kencur. Menurut Hageskal, et.al. (2009) bahwa spora khamir dan kebanyakan kapang akan hancur pada suhu 65-70°C dalam waktu beberapa menit saja, namun terdapat spora beberapa kapang yang dapat hidup pada suhu 90°C dengan waktu 4-5 jam. Nilai AKK yang rendah yaitu  $\leq 10^3$  koloni/ml dapat menghindarkan dari beberapa penyakit yang merugikan karena jumlah kapang khamir yang tinggi bersifat patogen. Jamu beras kencur setelah pembuatan langsung dimasukkan dalam wadah tertutup sehingga menimbulkan uap air yang menyebabkan kelembapan pada wadah meningkat. Kelembapan yang tinggi dapat menjadi pertumbuhan yang baik kapang, tetapi pertumbuhan kapang khamir pada kelima sampel jamu beras kencur masih batas aman.

### E. Uji Identifikasi *E. coli*

Uji identifikasi *E. coli* bertujuan untuk mengetahui apakah dalam sampel jamu beras kencur terdapat *E.coli*. Uji identifikasi ini dilakukan didasarkan sifat biokimia dan morfologinya. Pada penelitian dilakukan inokulasi pada media EA dari sampel jamu beras kencur, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Inokulasi merupakan suatu cara pemindahan mikroba-mikroba dari suatu suspensi ke suatu media pertumbuhan lain yang steril. Menurut Soemarmo (2000) inkubasi pada suhu 37°C bertujuan untuk menyeleksi pertumbuhan bakteri *E.coli* karena bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C dan akan menghambat kemungkinan pertumbuhan bakteri *Basillus subtilis* dan *enteroocci*. Identifikasi dan konfirmasi keberadaan *E. coli* pada jamu beras kencur tujuannya yaitu memastikan keberadaan bakteri *E. coli* berdasarkan uji biokimiawinya. Namun, karena telah didapatkan hasil negatif pada tahap pengkayaan dan isolasi bakteri *E. coli* maka tahapan selanjutnya tidak perlu dilakukan.

Berdasarkan BPOM RI tahun 2008 mengenai Pengujian Mikrobiologi Pangan menyebutkan bahwa golongan bakteri selain *E. coli* yang paling sering ditemukan dalam makanan maupun minuman termasuk jamu adalah *Enterobacteriaceae* seperti *Salmonella*, *Shigella* dan *Enterobacter sakazaki*, serta *Enterococci* seperti *Streptococcus faecalis* dan *S.faecium*. Sebagian golongan bakteri tersebut banyak digunakan sebagai indikator kontaminasi feses tetapi lebih dikaitkan dengan sanitasi proses pembuatan yang buruk karena daya tahan yang tinggi terhadap kekeringan, suhu tinggi dan pendinginan, serta pengaruh detergen atau desinfektan. Dengan sifat yang tahan terhadap suhu tinggi, maka bakteri ini sering digunakan sebagai indikator makanan atau minuman yang dipanaskan. Habitat dari bakteri tersebut adalah temoat yang memiliki sanitasi buruk seperti air dan tanah yang tercemar oleh feses manusia atau hewan (BPOM RI 2008). Sumber pencemaran dari bakteri-bakteri tersebut antara lain berasal dari air yang digunakan untuk proses pembuatan jamu dan tanah yang merupakan tempat tumbuh dari bahan baku jamu beras kencur. Hasil dari uji terhadap bakteri *E.coli* dengan EA didapat hasil negatif (-), karena pada media EA tidak berubah menjadi

koloni kilat logam sehingga sesuai dengan syarat BPOM bahwa *E.coli* harus negatif (-).

#### **F. Uji Identifikasi *Staphylococcus aureus***

Bakteri *S. aureus* berasal dari kata staphyle yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat. Bakteri ini sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia. Dapat menjadi penyebab infeksi baik pada manusia maupun hewan. Beberapa jenis bakteri ini dapat menyebabkan keracunan makanan, diare, dan muntah. Uji cemaran bakteri *S. aureus* bertujuan untuk mengetahui cemaran bakteri *S. aureus* yang terdapat dalam sediaan jamu beras kencur yang diambil secara acak di Surakarta dan untuk mengetahui kualitas jamu tersebut. Prinsip pengujian cemaran bakteri *S. aureus* yaitu pertumbuhan bakteri setelah sampel diinokulasi pada media yang mempunyai nutrisi yang sesuai. Koloni bakteri yang tumbuh pada media VJA ditunjukkan dengan koloni cembung berwarna kuning dan media VJA yang awalnya berwarna merah berubah menjadi jernih (Austin 2006).

Hasil penelitian ini terhadap bakteri *S.aureus* pada media VJA didapat hasil negatif (-), karena pada media VJA tidak berubah warna hitam atau kuning sehingga sesuai dengan syarat BPOM bahwa *S.aureus* harus negatif (-) dan tidak terkontaminasi.

#### **G. Uji Identifikasi *Salmonella spp.***

Uji identifikasi *Salmonella spp.* ini merupakan salah satu parameter penjaminan mutu sebuah obat tradisional yang dilakukan dengan menguji keberadaan cemaran bakteri *Salmonella spp.* dalam sampel jamu beras kencur. Bakteri *Salmonella spp.* dapat menyebabkan Salmonellosis yang merupakan infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut.

*Salmonella spp.* menggunakan media SSA yang dipilih karena media ini mengandung *Beef Extract*, enzim digest dari kasein, dan enzim digest dari jaringan hewan yang menyediakan sumber nitrogen, karbon, dan vitamin yang

diperlukan untuk pertumbuhan organisme, laktosa yang merupakan sumber karbohidrat, garam empedu, natrium sitrat dan brilliant green yang bertugas untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, bakteri coliform, dan menghambat pertumbuhan *proteus* spp dan memacu pertumbuhan *Salmonella* spp., natrium tiosulfat dan ferri sitrat berfungsi untuk mendeteksi hydrogen sulfide yang diproduksi oleh koloni dan menyebabkan warna hitam serta natural red merupakan indikator pH. Pertumbuhan bakteri *Salmonella* spp. pada media SSA akan terlihat berwarna merah dengan titik berwarna hitam yang menunjukkan adanya gas H<sub>2</sub>S yang dihasilkan bakteri *Salmonella* spp.

Namun karena hasilnya negatif maka tidak dilakukan uji biokimia. Media *Salmonella* spp. *Shigella* Agar merupakan media yang sangat selektif untuk menumbuhkan bakteri *Salmonella* dan *Shigella* dari spesimen patologi, makanan dan lain sebagainya. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi bakteri selain bakteri *Salmonella* spp. Pada jamu beras kencur yang diproduksi oleh penjual jamu gendong yang diambil secara acak di kota Surakarta Jawa tengah.

Hasil dari uji terhadap media bakteri *Salmonella* spp. dengan media spesifik didapat hasil negatif (-), karena pada media SSA tidak berubah warna coklat atau abu-abu sampai hitam sehingga sudah sesuai dengan syarat BPOM bahwa *Salmonella* spp. harus negatif (-) dan tidak kontaminasi.

#### **H. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa***

Tahap isolasi bertujuan untuk melihat keberadaan *P. aeruginosa* yang terdapat dalam jamu beras kencur yang diperiksa menggunakan media PSA dan pengamatan koloni dapat dilakukan dengan mengamati adanya koloni dengan ciri-ciri koloni berwarna kehijauan.

Namun karena hasil pada tahap isolasi bakteri *P. aeruginosa* adalah negatif maka tahap selanjutnya tidak perlu dilakukan. Hasil yang didapat negatif karena proses pembuatan jamu beras kencur sudah sesuai dengan Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB) yaitu menjaga kebersihan jamu dengan cara mencuci tangan menggunakan sabun, penjual jamu harus selalu menggunakan pelindung tubuh untuk menghindari adanya kontaminasi terhadap jamu dan jamu



yang sudah jadi harus dikemas dengan menggunakan wadah yang sesuai memenuhi syarat higienitas (BPOM RI 2005).

Media PSA merupakan media yang sangat selektif untuk menumbuhkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi bakteri selain bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pada jamu beras kencur yang diproduksi oleh penjual jamu gendong yang diambil secara acak di kota Surakarta Jawa tengah.

Hasil dari uji terhadap media bakteri *P. aeruginosa* dengan media spesifik didapat hasil negatif (-), karena pada media PSA tidak berubah warna menjadi kehijauan sehingga sudah sesuai dengan syarat BPOM bahwa *P. aeruginosa* harus negatif (-) dan tidak kontaminasi.