

Uji Cemarkan Mikroba pada Daun Mimba (*Azadiractha Indica A. Juss*) Sebagai Standarisasi Bahan Obat Herbal

(MICROBIAL CONTAMINATION TEST IN MIMBA LEAF (*Azadiractha indica A. Juss*) AS A
STANDARDIZATION OF HERBAL MEDICINE MATERIALS)

Cikal Farah Irian Jati Saweng¹, Luh Made Sudimartini², I Nyoman Suartha³

¹Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan,

²Laboratorium Fisiologi, Farmakologi, dan Farmasi Veteriner,

³Laboratorium Penyakit Dalam Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

JL. P.B Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361)223791

e-mail: cikalfarah18@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman mimba (*Azadiractha indica A. Juss*) merupakan bahan herbal yang telah lama digunakan sebagai obat tradisional. Daun mimba mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, *azadiracthin*, salanin, *meliantriol*, *nimbin*, dan *nimbidin* yang bermanfaat dalam kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah cemarkan mikroba yang terdapat pada simplisia daun mimba yang dikoleksi disekitar Univeristas Udayana, Jimbaran, Bali memenuhi persyaratan Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) No. 12 tahun 2014 serta peningkatan mutu dan keamanan obat herbal terstandar. Penentuan cemarkan mikroba simplisia daun mimba dilakukan dengan uji angka lempeng total (ALT) menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA) dan angka kapang khamir (AKK) menggunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Pertumbuhan koloni bakteri diinokulasikan pada lempeng agar dengan metode sebar dan diinokulasi pada suhu 35-37⁰C selama 24 -48 jam dan pada suhu 20-25⁰C untuk pertumbuhan angka kapang khamir selama lima hari. Diperoleh hasil dengan pengukuran kuantitaif angka lempeng total dan angka kapang khamir dari simplisia daun mimba yaitu 3750 cfu/g dan 100 cfu/g. Simpulan daun mimba yang dikoleksi dari Kampus Univeristas Udayana, Jimbaran, Bali telah memenuhi persyaratan sesuai dengan standar cemarkan mikroba pada obat tradisional pada BPOM RI No. 12 tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional yaitu jumlah angka lempeng bakteri maksimal 1.000.000 cfu/g dan angka kapang khamir maksimal 10.000 cfu/g dan layak digunakan sebagai bahan baku obat herbal karena telah memenuhi syarat.

Kata-kata kunci: angka kapang/khamir; angka lempeng total; cemarkan mikroba daun mimba

ABSTRACT

The neem plant (*Azadiractha indica A. Juss*) is a herbal that has been used as traditional medicine. Neem leaf contains active compounds such as *flavonoids*, *saponins*, *tannins*, *azadiracthin*, *salanin*, *meliantriol*, *nimbin*, and *nimbidin* which are beneficial in health. This study aims to determine whether the microbial contamination contained in the simplicia of neem leaves located around the Udayana University, Jimbaran Bali have qualified the requirements of the Food and Drug Monitoring Agency (BPOM) No. 12 of 2014 and an important stage in improving the quality and safety of standardized herbal medicines. Determination of neem leaf microbial contamination was carried out by total plate count (ALT) test using media *Plate Count Agar* (PCA) and yeast mold numbers (AKK) using media *Potato Dextrose Agar* (PDA). The growth of bacterial colonies and the number of yeast mold after being inoculated on agar plates by the scatter method and incubated at temperatures of 35-37⁰C for bacterial growth and at temperatures 20-25⁰C for growth of yeast mold

numbers. The results obtained by quantitative measurements of total plate numbers and yeast mold numbers from the simplicia of neem leaves are 3750 cfu/g and 100 cfu/g. The conclusion is the neem leaves located around the Udayana University, Jimbaran, Bali with microbial contamination standards in traditional medicine listed of BPOM RI No. 12 of 2014 concerning Quality Requirements for Traditional Medicines, the maximum of bacterial plates of 1×10^6 cfu/g and the maximum yeast mold number 1×10^4 cfu/g.

Keywords: mold/yeast number, total plate count, microbial contamination, neem leaves

PENDAHULUAN

Tanaman mimba (*Azadiractha indica* A. Juss) merupakan salah satu tanaman obat yang telah lama digunakan sebagai obat tradisional. Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara umum telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diteraakan sesuai dengan kebiasaan yang telah berjalan di masyarakat (Hasana *et al.*, 2019).

Berbagai penelitian mengenai tanaman mimba (*Azadiractha indica* A. Juss) menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas antiinflamasi, antipiretik, analgesik, hipoglikemik, *antiulcer*, antifertilitas, antimalaria, antifungi, antibakteri, antivirus, antikarsinogenik, hepatoprotektif, antioksidan, dan imunostimulan (Biswas *et al.*, 2002; Anyaehie, 2009; Chaturvedi *et al.*, 2011; Elavarasu *et al.*, 2012; El-Hawary *et al.*, 2013). Hal tersebut terjadi karena daun mimba memiliki senyawa aktif metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, *azadiracthin*, *salanin*, *meliantriol*, *nimbin*, dan *nimbidin*.

Hasil penelitian Ahadian *et al.* (2012), menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba memiliki efek skabisida dan efektif digunakan dalam mengendalikan tungau *sarcoptes scabiei* secara *in vitro*. Sama halnya dengan penelitian Wirawan *et al.* (2017), penggunaan daun mimba dengan konsentrasi 50% yang diekstrak dengan n-heksana mampu menghilangkan infestasi caplak (*Rhipicephalus sanguineus*) pada anjing. Penelitian lainnya menunjukkan fraksi kloroform daun mimba dengan menggunakan metode difusi padat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, dan *Streptococcus mutan* (Sri *et al.*, 2005).

Mengingat kandungan daun mimba yang memiliki banyak manfaat, sehingga dapat dijadikan sebagai obat alternatif sediaan farmasi. Salah satu syarat untuk menjadikan tanaman obat sebagai sediaan farmasi diperlukan standarisasi cemaran mikroba. Standar dan pengujian merupakan bagian dari sistem manajemen mutu dan keamanan sehingga dapat meningkatkan keyakinan dan keamanan apabila diaplikasikan dari bahan alam yang di formulasikan dalam suatu sediaan farmasi.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti menilai perlu dilakukan pemeriksaan cemaran mikroba yang terdapat pada daun mimba dari kampus Bukit Jimbaran sehingga dapat diketahui layak atau tidaknya daun mimba dijadikan sebagai sediaan farmasi. Hal tersebut didasari pada Standar cemaran mikroba dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun mimba dikoleksi di area sekitar Universitas Udayana, Jimbaran, Bali. Sampel daun muda yang ambil secara acak di petik daun dari tangkainya lalu dimasukkan ke dalam toples yang sudah di sterilkan dengan alkohol dan ditutup rapat.

Pembuatan Simplisia

Daun mimba diambil sebanyak satu ons, dibersihkan, dan dikeringkan terlebih dahulu tanpa terkena cahaya sinar matahari langsung selanjutnya dikeringkan dalam oven dengan suhu 50° C selama 24 jam (Agustin dan Rosmini, 2016). Daun yang telah kering dihancurkan secara mekanik menggunakan mortar hingga berbentuk serbuk.

Pengenceran Simplisia Daun Mimba

Pengenceran simplisia daun mimba ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dicampurkan ke dalam 45 mL NaCl 0,90 % dan dihomogenkan sehingga mendapatkan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya dilakukan pengenceran serial pada pengenceran disiapkan tiga tabung masing masing di isi 9 mL pengencer NaCl 0,90 %. Pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung kedua lalu dihomogenkan dengan *vortex* sehingga mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Sebanyak 1 mL pengenceran 10^{-2} dipipet dan dimasukkan ke tabung ketiga di homogenkan dengan *vortex* hingga memperoleh 10^{-3} . Hasil pengenceran ini kemudian di tanam pada media pada cawan petri.

Sterilisasi Alat

Peralatan yang digunakan saat pengujian harus disterilkan terlebih dahulu untuk mencegah terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme. Peralatan yang terbuat dari kaca dan tahan terhadap panas di bungkus di dalam plastik dan dimasukkan kedalam keranjang besi. Peralatan yang telah terbungkus dimasukkan ke dalam autoklaf dengan proses sterilisasi menggunakan suhu 121°C selama 20 menit.

Pembuatan Media

Media *plate count agar* (PCA) ditimbang sebanyak 2,45 gram dicampurkan dengan aquadest steril dan dipanaskan hingga larutan kuning jernih. Langkah selanjutnya adalah disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setiap cawan petri, dituang sebanyak 15-20 mL media PCA yang dicairkan pada suhu 45°±1°C.

Media *Potato Dextrosa Agar* (PDA) dibuat dengan cara menimbang sebanyak 4,68 gram *Potato Dextrosa Agar* kemudian dilarutkan dalam aquadest 120 mL dalam tabung Erlenmayer kemudian ditambahkan antibiotik amoksisilin 500 mg sebanyak 1% dan dipanaskan hingga mendidih dan larut sempurna. Selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setiap cawan petri, dituang sebanyak 12-15 mL media PDA yang dicairkan pada suhu 45°±1°C.

Uji Angka Lempeng (ALTB)

Pada pengenceran 10⁻¹ sebanyak 0,1 ml dipipet dan dimasukkan kedalam cawan petri steril berisi Media PCA dan disebar menggunakan batang bengkok secara merata dan dibuat duplo yang selanjutnya dilakukan hingga pada pengenceran 10⁻³. Uji sterilitas media dilakukan dengan cara menuangkan media PCA pada cawan petri dan membiarkannya memadat tanpa di isi pengenceran. Media PCA dikatakan steril apabila tidak ada pertumbuhan koloni bakteri dan kapang/khamir. Seluruh cawan petri diinkubasikan dengan suhu 37°C selama 24 - 48 jam dengan posisi terbalik. Selanjutnya jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari inokulum (sampel) diamati dan dihitung.

Uji Angka Kapang/Khamir

Pada pengenceran 10⁻¹ sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan kedalam cawan petri stereril berisi Media *potato dextrose agar* (PDA) dan disebar menggunakan batang bengkok secara merata dan dibuat duplo yang selanjutnya dilakukan hingga pada pengenceran 10⁻³. Uji sterilitas media dilakukan dengan cara menuangkan media PDA pada cawan petri dan membiarkannya memadat tanpa di isi pengenceran. Seluruh cawan petri diinkubasikan dengan suhu 25°C selama 5 hari dengan posisi terbalik. Jumlah koloni yang tumbuh diamati setiap hari sampai hari ke-5.

Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan data yang bersifat kuantitatif yaitu dengan cara penghitungan jumlah mikroba yang muncul pada media yang telah diujikan. Hasil dianalisis dengan deskriptif kuantitatif dan dibandingkan dengan standar

cemaran mikroba yang termuat dalam persyaratan Mutu Obat Tradisional yang sesuai dengan Peraturan Kepala Bidang Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014. Rumus perhitungan total mikroba dan kapang khamir (Ferdiaz, 1993) yaitu sebagai berikut.

$$ALL \text{ atau } AKK = \text{Jumlah koloni rata rata} \times \frac{\text{cfu/ml}}{\text{faktor pengencer} \times \text{volume}}$$

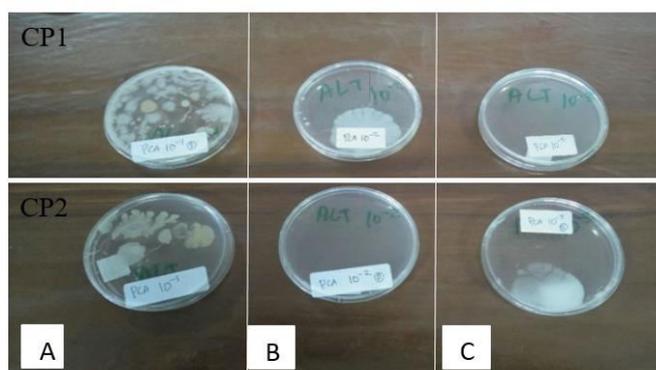
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian diperoleh rerata uji angka lempeng total pada dan uji angka kapang/khamir hasil perhitungan akhir rata-rata pada disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil rata-rata angka lempeng total bakteri (ALTB) simplisia daun mimba yang dikoleksi di area sekitar kampus Universitas Udayana, Jimbaran, Bali

Pengenceran	Jumlah Koloni			Hasil	Batas Syarat BPOM No 12 tahun 2014
	Petri	Petri Duplo	Rata-rata		
10 ⁻¹	44	31	37,5	3750 cfu/g	1.000.000 cfu/g
10 ⁻²	12	0	0		
10 ⁻³	0	0	0		

Hasil penelitian menunjukkan perhitungan rerata angka lempeng total (ALT) (25-250 koloni) adalah 3,7x 10³ cfu/mL. Hasil perhitungan tersebut menunjukkan bahwa daun mimba yang tumbuh di area sekitar kampus Universitas Udayana, Jimbaran, Bali memenuhi syarat untuk dapat digunakan sebagai bahan baku obat herbal karena tidak melebihi batas persyaratan angka lempeng total (ALT) berdasarkan peraturan BPOM RI No. 12 tahun 2014 adalah 1x10⁶ cfu/mL.

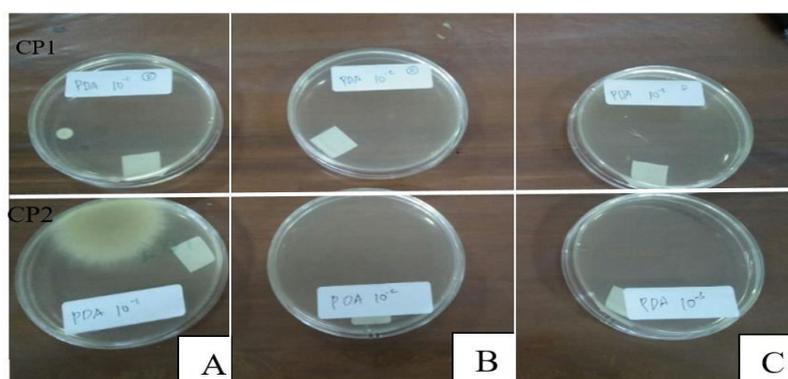


Gambar 1. Koloni Mikroba pada media PCA (A) pengenceran 10⁻¹, (B) pengenceran 10⁻², dan (C) Pengenceran 10⁻³.

Tabel 2. Hasil rata- rata angka kapang/khamir (AKK) simplisia daun mimba dikoleksi di area sekitar kampus Universitas Udayana, Jimbaran, Bali.

Pengenceran	Jumlah Koloni		Rata- Rata	Hasil	Batas Syarat
	Petri	Petri Duplo			
10 ⁻¹	1	1	1	100 cfu/g	10.000 cfu/g
10 ⁻²	0	0	0		
10 ⁻³	0	0	0		

Hasil penelitian menunjukkan perhitungan rerata akhir angka kapang/khamir (AKK) (40-60 koloni) adalah 1x10² cfu/mL. Hasil perhitungan tersebut menunjukkan bahwa daun mimba yang tumbuh di area sekitar kampus Universitas Udayana, Jimbaran, Bali memenuhi syarat untuk dapat digunakan sebagai bahan baku obat herbal karena tidak melebihi batas persyaratan sesuai dengan persyaratan angka kapang/khamir (AKK) berdasarkan peraturan BPOM RI No. 12 tahun 2014 adalah 1x10⁴ cfu/mL. Menurut Wahyuni *et al.* (2013), salah satu persyaratan obat tradisional yang baik adalah harus bebas dari cemaran mikroba yaitu angka kapang dan khamir. Kapang dan khamir akan berkembang biak bila tempat tumbuhnya cocok untuk pertumbuhan, disamping itu kapang tertentu ada yang menghasilkan zat racun (toksin) seperti jamur *Aspergillusflavus* yang dapat menghasilkan aflatoksin.



Gambar 2. Koloni Angka Kapang/Khamir pada media PDA (A) pengenceran 10⁻¹, (B) pengenceran 10⁻², dan (C) pengenceran 10⁻³.

Standarisasi merupakan proses penjaminan produk akhir (simplisia, ekstrak atau produk herbal) agar mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu (Helmi *et al.*, 2006). Parameter standar mutu bahan baku obat tradisional berupa simplisia ataupun ekstrak salah satunya adalah cemaran mikroba termasuk bakteri *non* patogen, bakteri patogen, dan cemaran kapang/khamir.

Sampel segar daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) diperoleh dari area sekitaran Kampus Universitas Udayana, Jimbaran, Bali. Kemudian dibuat simplisia daun mimba kering berbentuk serbuk di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Teknologi Pangan, Universitas Udayana. Cara pembuatan simplisia dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu disortir, dibersihkan dengan air mengalir, pengeringan, dan penyimpanan. Simplisia merupakan bahan baku yang berasal dari tanaman yang belum mengalami pengolahan, kecuali pengeringan yaitu untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam daun dan mencegah terjadinya perubahan enzimatik yang dapat menurunkan mutu simplisia. Tujuan pembentukan simplisia berbentuk serbuk adalah untuk memperbesar luas permukaan sehingga mempercepat proses ekstraksi dan kontak antara serbuk dengan pelarut semakin besar.

Uji cemaran mikroba yang dilakukan adalah angka lempeng total dan angka kapang/khamir yang terdapat pada Tabel 1 dan 2. Tujuan uji cemaran mikroba adalah menentukan cemaran mikrobiologi yang terkandung tidak melebihi batas yang telah ditetapkan sehingga dapat diketahui kualitas dan keamanan dari bahan baku yang akan di jadikan sediaan farmasi. Cemaran mikroba yang tinggi dapat menyebabkan efek yang buruk bagi kesehatan.

Angka lempeng total (ALT) merupakan salah satu cara untuk mempermudah dalam pengujian mikroorganisme dari suatu produk, dan angka ALT menunjukkan adanya mikroorganisme patogen atau non patogen yang dilakukan pengamatan secara visual atau dengan kaca pembesar pada media penanaman yang diteliti, kemudian dihitung berdasarkan lempeng dasar untuk *standart test* terhadap bakteri (BPOM, 2008). Media yang digunakan adalah media PCA karena mengandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan mikroorganisme. Rata-rata kandungan angka lempeng total (25-250 koloni) pada simplisia daun mimba diperoleh dengan menggunakan cara metode sebar yaitu dengan menghitung jumlah mikroba *aerob* mesofil yang ada pada cawan petri yang berisi media PCA dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24-48 jam dengan posisi dibalik adalah 3750 cfu/mL.

Bakteri yang tergolong mesofil adalah bakteri yang mempunyai suhu pertumbuhan 20-40°C dengan suhu minimum pertumbuhan 10-20°C, dan suhu maksimum 40-45°C (Hardianto *et al.*, 2012). Bila dilihat dengan membandingkan dengan ALT berdasarkan peraturan BPOM RI No. 12 tahun 2014 adalah 1×10^6 cfu/mL, nilai total mikroba pada simplisia daun mimba tidak melebihi batas cemaran yang telah ditentukan. Berdasarkan hal tersebut, total mikroba pada simplisia daun mimba aman secara mikrobiologi. Angka

lempeng total yang terlalu tinggi dapat berbahaya bagi kesehatan karena bakteri ini dapat menghasilkan toksin yang menyebabkan penyakit diantaranya muntah, diare, demam dan infeksi.

Angka kapang/khamir merupakan perhitungan kapang/khamir pada media yang diteliti. Media yang digunakan adalah PDA dan ditambahkan antibiotik amoksisilin dengan tujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada media. Rata-rata kandungan angka kapang/khamir pada simplisia daun mimba diperoleh dengan menggunakan metode sebar pada cawan petri yang berisi media PDA dan diinkubasikan pada suhu 25°C selama lima hari dengan posisi dibalik adalah 100 cfu/mL. Hasil ini termasuk aman dan tidak melebihi batas maksimal yang ditetapkan BPOM RI No. 12 tahun 2014 yaitu 1×10^4 cfu/mL. Koloni kapang yang dihitung adalah berbentuk serabut seperti kapas dan untuk khamir berbentuk bulat dan keduanya merupakan koloni yang tunggal atau terpisah. Komponen beracun yang diproduksi oleh kapang maupun jamur disebut mikotoksin. Toksin ini dapat menyebabkan penyakit yang kadang kadang fatal, dan beberapa diantaranya bersifat karsinogenik. Semakin kecil angka kapang/khamir bagi produk simplisia, menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai cara pembuatan obat tradisional yang baik (CPOTB) dalam proses pembuatan simplisia.

Dalam pengujian yang dilakukan, setiap alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan menggunakan autoklaf sterilisasi dengan suhu 121°C selama 20 menit. Penanaman dilakukan pada *microbiological safety cabinet* (MSC) dan menggunakan api bunsen untuk meminimalkan kontaminan dari lingkungan. Selain itu pengujian dilakukan dengan cepat dan teliti agar jumlah kontaminan tidak berpengaruh besar pada hasil. Pemeriksaan dilakukan dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada pengenceran sampel. Pengenceran bertujuan untuk mengurangi jumlah mikroorganisme sehingga koloni yang tumbuh tidak menumpuk dan mempermudah perhitungan jumlah koloni.

Menurut BPOM (2008), perhitungan angka hasil penelitian angka ALT dan AKK dapat menggunakan metode kuantitatif yaitu dengan mengetahui jumlah mikroba yang muncul pada cawan petri sehingga dapat diamati dan dihitung berupa angka dalam koloni (cfu) per mL/kg dengan cara antara lain cara tuang, cara tetes, dan cara sebar. Perhitungan angka lempeng total pengujian sesuai dengan BPOM (2005), yaitu cawan petri yang menunjukkan jumlah koloni antara 25-250 koloni. Hal ini disebabkan dengan jumlah koloni tinggi (> 250 koloni) tidak sah dihitung sehingga kemungkinan besar kesalahan perhitungan sangat besar sedangkan jumlah untuk koloni sedikit (< 25 koloni) tidak sah dihitung secara

statistik (Ahmad, 2018). Sedangkan perhitungan angka kapang/khamir yaitu cawan petri yang menunjukkan jumlah koloni antara (40-60 koloni). Dalam mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh dan sterilitas pada media, dibuatkan kontrol media dengan uji blanko yang berisi media saja dan dibiarkan memadat dan kontrol pengenceran dilakukan secara duplo. Dapat dilihat pada kontrol media pada uji blanko tidak ditumbuhi koloni baik pada media PCA dan media PDA.

Hasil uji cemaran mikroba pada daun mimba yang tumbuh di area sekitar kampus Universitas Udayana, Jimbaran, Bali pada uji angka lempeng total adalah 3750 cfu/mL dan uji angka kapang/khamir adalah 100 cfu/mL. Hal ini berkaitan erat dengan proses pembuatan, tempat pembuatan, alat pembuatan dan juga tempat penyimpanan. Menurut (Wulandari *et al.*, 2012), mikroba dapat tercemar melalui air, debu, udara, tanah, alat-alat pengolah (selama proses produksi atau penyiapan). Daun mimba memiliki aktivitas antibakteri dan anti jamur yang merupakan senyawa metabolit sekunder, flavonoid mengandung gugus hidroksil yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan menyebabkan gangguan permeabilitas pada membran sel jamur dengan mekanisme merubah komponen organik dan transport nutrisi pada jamur yang akhirnya menjadi toksik pada jamur (Putri *et al.*, 2018). Selain itu tanin memiliki aktivitas sebagai antibakteri karena mempunyai gugus fenol yang bersifat lipofilik sehingga tanin memiliki sifat-sifat seperti alkohol yaitu bersifat antiseptik yang dapat digunakan sebagai antimikroba (Mihra *et al.*, 2018).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian terhadap cemaran mikroba pada daun mimba yang tumbuh di area sekitar Kampus Universitas Udayana, Jimbaran, dapat dijadikan bahan baku obat herbal yang terdiri dari angka lempeng total yaitu 3750 cfu/mL dan angka kapang/khamir yaitu 100 cfu/mL.

SARAN

Perlu dilakukan uji lanjutan untuk standarisasi cemaran mikroba pada simplisia daun mimba seperti uji *Staphylococcus aureus*, uji *Pseudomonas aeruginosa* dan lain-lain

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen pembimbing, Staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pangan, Universitas Udayana serta semua pihak yang telah membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin S, Rosmini. 2016. Efektivitas Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica A. Juss*) Terhadap Pertumbuhan Koloni *Alternaria Porri* Penyebab Penyakit Bercak Ungu Pada Bawang Wakegi (*Allium X Wakegi Araki*) Secara In Vitro. *Journal Agrotekbis* 4(4) : 419–424.
- Ahadian F, Ginting F, Wahyuni TH, Anwar. 2012. Efektivitas Skabisida Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indicaa.Juss*) Terhadap Tungau *Sarcoptes Scabiei* Invitro. *Jurnal Peternakan Integratif* 1(1):1-10.
- Ahmad M. 2018. Pemeriksaan Angka Lempeng Total Bakteri pada Minuman Sari Kedelai yang Diperjual belikan di Kecamatan Manggala Kota Makassar. *Jurnal Media Analisis Kesehatan* 1(1):56-62.
- Anyaehe UB. 2009. Medicinal Properties of Fractionated Acetone/Water Nimba (*Azadirachta Indica*) Leaf Extract From Nigeria: A Review. *Nigerian Journal of Physiological Sciences* 24(2):157-159.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). 2005. *Pedoman cara pembuatan obat tradisional yang baik*. Jakarta.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). 2008. *Pengujian Mikrobiologi Pangan. Infopom* 9(2): 1-11.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta.
- Biswas K, Chattopadhyay I, Banerjee RK, Bandyopadhyay U. 2002. Biological activities and medicinal properties of Nimba (*Azadirachta indica*). *Current Science* 82(11):1336-1345.
- Chaturvedi P, Bag A, Rawat V, Jyala NS, Satyavali V, Jha PK. 2011. Antibacterial effects of *Azadirachta indica* leaf and bark extracts in clinical isolates of dewatidiabetic patients. *National Journal of Integrated Research in Medicine* 2:5-9.
- Elavarasu S, Abinaya P, Elanchezhian S, Thangakumaran, Vennila K, Naziya KB. 2012. Evaluation of anti-plaque microbial activity of *Azadirachta indica* (nimba oil) in vitro: A pilot study. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 4(2):394–396.
- El-Hawary SS, El-Tantawy ME, Rabeh MA, Badr WK. 2013. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Azadirachta indica A. Juss*. *International Journal of Applied Research in Natural Product* 6(4):33-42.
- Fardiaz S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Hardianto, Suarjana IGK, Rudyanto MD. 2012. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan terhadap Kualitas Telur Ayam Kampung Ditinjau dari Angka Lempeng Total Bakteri. *Indonesia Medicus Veterinus* 2012 1(1):71-84.
- Hasana AN, Sitasiwi AJ, Isdadiyanto S. 2019. Hepatosomatik Indeks Dan Diameter Hepatosit Mencit (*Mus musculus L.*) Betina Setelah Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica Juss.*). *Jurnal Pro-Life* 6(1):1-12.
- Helmi A, Nelvi A, Dian H, Roslinda R. 2006. Standardisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini Merr.* *Jurnal Sains Teknologi Farmasi* 11(2):88 – 92.

- Mihra, Jura MR, Ningsih P. 2018. Analisis Kadar Tanin dalam Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica*. Juss) dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia* 7(4):179-184.
- Putri ACA, Suartha IN, Merdana IM, Sudimartini LM. 2018. Ekstrak Daun Mimba Efektif terhadap *Microsporum gypseum* Yang Diisolasi dari Dermatitis pada Anjing. *Indonesia Medicus Veterinus* 7(6): 608-615.
- Sri K, Widowati S, Snarintyas S. 2005. The effect of different concentrations of Neem (*Azadirachta indica*) leaves extract on the inhibition of *Streptococcus mutans* (In vitro). *Dental journal* 38(4):176-179.
- Wahyuni R, Lase VP, Rivai H. 2013. Penentuan Cemarkan Mikroba pada Jamu Pelangsing yang Beredar di Pasar Tarandam Padang *Jurnal Farmasi Higea* 5(2):144-149.
- Wirawan IGK, Oka JML, Hadisutanto B. 2017. Efek Ekstrak Daun Mimba Lengkuas dan Sereh terhadap Infestasi Caplak pada Anjing *Partner* 17(1):37-42.
- Wulandari L, Ardana IBK, Suada IK. 2012. Pemberian Tylosin dan Gentamisin Menurunkan Angka Lempeng Total Bakteri Daging Broiler Betina *Indonesia Medicus Veterinus* 1(2):252 – 267.