

Penilaian mikrobiologi bagi kualiti lepas tuai misai kucing

(Microbiology evaluation of postharvest quality of misai kucing)

Raja Arief Deli Raja Nasharuddin, Noor Ismawaty Nordin, Aida Mohamad dan Dewi Jamaliah Kamsiar

Pengenalan

Pembangunan industri herba telah diberi perhatian khusus dalam Rancangan Transformasi Ekonomi Negara dengan wujudnya Projek Permulaan 1 (*Entry Point Project – EPP 1*) iaitu “Unlocking value from Malaysia’s biodiversity through high-value herbal products” di bawah Bidang Keutamaan Ekonomi Negara (NKEA) subsektor pertanian. Matlamat EPP 1 adalah untuk menghasilkan produk bernilai tinggi sebanyak RM2.2 bilion daripada lima herba utama, antaranya ialah misai kucing. Matlamat utama adalah untuk memastikan kualiti dan aspek keselamatan terjamin semasa proses pengendalian lepas tuai. Dalam kajian ini, fokus diberikan pada kualiti mikrobiologi berdasarkan tahap kematangan yang berbeza tumbuhan misai kucing (*Orthosiphon stamineus*) (*Gambar 1*). Penilaian ini penting ke arah pembangunan Prosedur Operasi Standard (SOP) bagi misai kucing kepada golongan sasar bagi memacu industri herba ke tahap yang lebih tinggi.

Tahap umur kematangan berbeza mempengaruhi kualiti misai kucing

Misai kucing telah ditanam secara meluas di seluruh Asia Tenggara, India dan tropikal Australia. Sejak 1886 lagi, daun kering misai kucing yang dieksport ke Eropah mula mendapat tempat sebagai minuman untuk kesihatan. Namun, ada beberapa faktor yang perlu diberi tumpuan terutama aspek kualiti, antaranya faktor umur kematangan yang akan memberikan kualiti yang berlainan. Ini kerana faktor persekitaran seperti kondisi tanah, iklim, suhu, taburan hujan dan kelembapan sangat signifikan dengan kualiti misai kucing yang diperoleh.

Dalam kajian ini, misai kucing ditanam di tanah gambut di MARDI Pontian. Misai kucing dituai pada umur kematangan berbeza dan diuji melalui analisis mikrobiologi bagi menguji kehadiran pencemaran mikroorganisma (*Gambar 2*). Standard antarabangsa, *European Herbal Infusion Association* (EHIA) dan tempatan, *Malaysian Monograph* (MM) telah digunakan bagi tujuan penilaian pencemaran mikroorganisma.



Gambar 1. Tumbuhan misai kucing



Gambar 2. Analisis mikrobiologi yang telah dijalankan terhadap misai kucing

Dokumentasi input data kualiti ini diharap mampu memberi faedah sosial, teknikal dan ekonomi kepada negara.

Analisis mikrobiologi

Sejumlah 24 sampel (replikat) telah dikumpulkan secara rawak daripada plot misai kucing di MARDI Pontian pada tahun 2017. Sampel ini terdiri daripada bahagian daun dan batang misai kucing yang telah dituai pada umur tuaian secara berperingkat bermula minggu ke-8, 10, 12 dan 14 selepas ditanam di ladang. Kemudian, sampel dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C sehingga kandungan air kurang 10% bagi mengelak pertumbuhan kulat. Seterusnya, sampel kajian diuji secepat mungkin di makmal bagi analisis mikrobiologi. Dalam kajian ini, sampel diuji dengan analisis mikrobiologi seperti kiraan jumlah bakteria, kiraan jumlah yis dan kulat, kiraan koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan ujian

Salmonella mengikut kaedah modifikasi daripada Wallas dan Thomas yang dijalankan di dalam kabinet *biohazard*.

Bagi tujuan penyediaan sampel homogen, sebanyak 10 g sampel misai kucing ditimbang secara aseptik dan dicairkan dengan 90 ml larutan *Ringers* lalu diemparkan selama dua minit. Pencairan bersiri $10^1 - 10^5$ telah dilakukan. Bagi kiraan jumlah bakteria, sebanyak 1 ml daripada setiap pencairan dipindahkan ke dalam piring petri sebelum dicurahkan dengan *Plate Count Agar* (PCA) yang cair (suhu agar ditetapkan pada suhu 50 °C) dan agar dibiarkan keras pada suhu bilik. Kesemua piring petri dieram di dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 48 jam \pm 2 jam. Bagi kiraan jumlah yis dan kulat dan kiraan *Staphylococcus aureus*, sebanyak 0.1 ml daripada setiap pencairan dipindahkan ke dalam piring petri yang telah dituang agar keras (*solidified*).

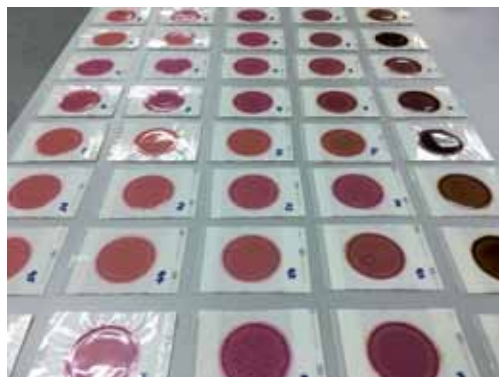
Bagi kiraan jumlah yis dan kulat, agar yang digunakan ialah *Malt Extract Agar* (MEA) yang telah ditambah dengan 10% asid tartarik, manakala bagi kiraan *Staphylococcus aureus*, agar yang digunakan ialah *Baird Parker Agar* (BPA) yang telah ditambah dengan *Egg Yolk Tellurite Emulsion*. Kemudian, sampel diratakan di atas agar keras dengan menggunakan *hockey stick* yang telah disteril. Kesemua piring petri dieram di dalam inkubator masing-masing pada suhu 32 °C dan 37 °C bagi kiraan jumlah yis dan kulat dan kiraan *Staphylococcus aureus* masing-masing selama 72 jam \pm 2 jam dan 48 jam \pm 2 jam. Bagi kiraan koliform dan *Escherichia coli* (Gambar 3), sebanyak 1 ml daripada setiap pencairan dipindahkan ke dalam 3M *Petrifilm*. Larutan ini diratakan melalui plastik yang steril lalu dieram di dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 – 48 jam \pm 2 jam.

Bagi ujian *Salmonella*, sebanyak 25 g sampel telah ditimbang secara aseptik dan diperkayakan dalam 225 ml *Buffered Peptone Water* (BPW) yang disteril, lalu diemparkan selama dua minit. Campuran sampel dieram pada suhu 37 °C selama 24 jam ± 2 jam. Sebanyak 1 ml dan 0.1 ml daripada sampel yang telah diperkaya kemudiannya dipindahkan ke 9 ml kaldu *Selenite Cystine* (SC) dan 9.9 ml kaldu *Rappaport-Vassiliadis* (RV), lalu dieram masing-masing pada suhu 37 °C dan 42 °C, selama 24 jam ± 2 jam.

Selepas pengeraman, satu gelung daripada kaldu SC dan RV dicoret pada medium *Xylose Lysine Desoxycholate* (XLD), *Xylose Lysine Tergitol-4* (XLT-4) dan *Rambach* (RB) lalu dieram pada suhu 37 °C selama 24 – 48 jam ± 2 jam. Isolat koloni yang menunjukkan reaksi tipikal mengikut arahan pengilang dianggap *presumptive Salmonella* dan dituliskan dengan coretan pada medium *Nutrient Agar* (NA). Koloni yang telah dipencilkan akan melalui pewarnaan *Gram* dan diuji melalui ujian biokimia berikut; *catalase*, *cytochrome oxidase*, *triple sugar iron*, *lysine iron*, *urease*, *indole* dan *motility test*.

Dalam kajian ini, penilaian mikrobiologi bagi tahap kematangan berbeza terhadap misai kucing dari plot MARDI Pontian, telah dilaksanakan dan dibandingkan berdasarkan piawaian kualiti. *Jadual 1* menunjukkan data lengkap hasil penilaian mikrobiologi bagi kesemua sampel misai kucing pada umur tuaian dan bahagian tumbuhan yang berbeza. Bagi kiraan jumlah bakteria, EHIA menetapkan bahawa pencemaran bakteria mestilah lebih kecil atau sama dengan 10^8 cfu/g manakala MM menetapkan pencemaran bakteria mestilah lebih kecil daripada 10^5 cfu/g. Dalam kajian ini, kesemua sampel menunjukkan bacaan yang rendah bagi kesemua umur tuaian dan bahagian tumbuhan berdasarkan EHIA dan MM (*Jadual 2*).

Bagi kiraan jumlah yis dan kulat, EHIA menetapkan bahawa pencemaran yis dan kulat mestilah lebih kecil atau sama dengan 10^6 cfu/g manakala MM menetapkan pencemaran yis dan kulat mestilah lebih kecil daripada 10^4 cfu/g. Secara keseluruhannya, kajian mendapati pencemaran yis dan kulat bagi sampel herba berada pada tahap yang baik iaitu lebih kecil daripada 10^4 cfu/g bagi kesemua sampel. Walaupun tiada kriteria ditetapkan EHIA bagi kiraan koliform, kajian mendapati nilai koliform berada pada julat $10^3 - 5$ cfu/g bagi *O. stamineus*. Adalah normal bagi sampel bahan mentah terdedah kepada sedikit pencemaran atas faktor persekitaran.



Gambar 3. Kiraan koliform dan *Escherichia coli*

Jadual 1. Analisis mikrobiologi bagi sampel misai kucing pada umur tuaian berbeza di plot MARDI Pontian (tanah gambut)

Umur tuaian (minggu)	Bahagian	Kiraan jumlah bakteria (cfu/g)	Kiraan jumlah yis dan kulat (cfu/g)	Kiraan koliform (cfu/g)	Kiraan <i>Escherichia coli</i> (cfu/g)	Kiraan <i>Staphylococcus aureus</i> (cfu/g)	Ujian <i>Salmonella</i> (presumptive in 25 g)
8	Daun	4.2×10^4	$1.6Y \times 10^3$	7.1×10^3	$<1 \times 10^2$	$<1 \times 10^2$	Tiada
	Batang	2.1×10^4	$1.4Y \times 10^3$	8.9×10^3	$<1 \times 10^2$	$<1 \times 10^2$	Tiada
10	Daun	6.7×10^3	$<15 \times 10^2$	6.7×10^2	$<1 \times 10^2$	$<1 \times 10^2$	Tiada
	Batang	4.8×10^4	est ($2Y \times 10^2$) $3.8Y \times 10^3$	9.1×10^3	$<1 \times 10^2$	$<1 \times 10^2$	Tiada
12	Daun	7.1×10^4	$3.5Y \times 10^3$	4.2×10^3	$<1 \times 10^2$	$<1 \times 10^2$	Tiada
	Batang	7.0×10^4	$6.7Y \times 10^3$ $<15 \times 10^2$ est ($1.3M \times 10^3$)	6.7×10^4	$<1 \times 10^2$	$<1 \times 10^2$	Tiada
14	Daun	7.6×10^4	$7.1Y \times 10^3$	4.8×10^4	$<1 \times 10^2$	$<1 \times 10^2$	Tiada
	Batang	9.2×10^4	$8.8Y \times 10^3$	2.6×10^5	$<1 \times 10^2$	$<1 \times 10^2$	Tiada

Nota: Y = kiraan yis, M = kiraan kulat

Jadual 2. Spesifikasi mikrobiologi herba (bahan mentah) berdasarkan piawaian *European Herbal Infusion Association (EHIA)* dan *Malaysian Monograph (MM)*

Piawaian	Kiraan jumlah bakteria (cfu/g)	Kiraan jumlah yis dan kulat (cfu/g)	Kiraan koliform (cfu/g)	Kiraan <i>Escherichia coli</i> (cfu/g)	Kiraan <i>Staphylococcus aureus</i> (cfu/g)	Ujian <i>Salmonella</i> (presumptive in 25 g)
EHIA	$\leq 10^8$	$\leq 10^6$	Nil	$\leq 10^4$	Nil	Absent in 25 g
MM	$< 10^5$	$< 10_4$	Nil	Absent in 1 g	Absent in 1 g	Absent in 25 g

Namun, kesemua sampel misai kucing masih dalam keadaan yang baik kerana tiada patogen *E. coli* ditemui sepanjang kajian dijalankan bagi bahagian daun mahupun batang. Berdasarkan piawaian, ia menetapkan bahawa pencemaran bakteria mestilah lebih kecil atau sama dengan 10^4 cfu/g (EHIA) manakala tiada dalam 1 g (MM).

Dari sudut patogen lain, kajian mendapati kesemua sampel berada pada nilai $<1 \times 10^2$ cfu/g bagi kiraan *S. aureus*. Keputusan ini bertepatan dengan piawaian MM yang menetapkan bahawa pencemaran bakteria *S. aureus* ini mestilah tiada dalam 1 g, walaupun tiada kriteria khusus yang ditetapkan oleh EHIA. Analisis *Salmonella* pula menunjukkan tiada pertumbuhan patogen ini pada misai kucing sepanjang minggu ke-8, 10, 12 dan 14 di plot MARDI Pontian. EHIA dan MM sepakat menetapkan bahawa pencemaran *Salmonella* mestilah tiada dalam 25 g. Ini secara asasnya menunjukkan bahawa sampel lepas tuai bagi misai kucing berada dalam keadaan selamat daripada kontaminasi patogen. Selain itu, produk akhir misai kucing lazimnya memerlukan proses pemanasan menjadikan ia makanan yang selamat.

Menariknya, kiraan jumlah bakteria, kiraan jumlah yis dan kulat serta kiraan koliform bagi sampel misai kucing (bahagian daun) telah menunjukkan penurunan nilai cfu/g sebanyak 1 log pada minggu ke-10. Manakala julat cfu/g bagi misai kucing (bahagian batang) menunjukkan peningkatan secara konsisten dari minggu ke-8 hingga ke-14, namun masih di bawah piawaian yang ditetapkan EHIA dan MM. Hal ini mungkin disebabkan oleh asid rosmarinik adalah optimum pada umur tuaian tersebut. Asid rosmarinik merupakan polifenol utama yang lazim ditemui dalam misai kucing (terutamanya di bahagian daun) yang mampu menyumbang kepada ciri-ciri antibakteria dalam herba.

Kesimpulan

Secara keseluruhannya, sampel lepas tuai bagi misai kucing berada dalam keadaan yang terkawal dan memuaskan pada semua umur tuaian dan bahagian tumbuhan di plot MARDI Pontian. Kajian lanjut boleh dilaksanakan pada jenis tanah yang berbeza bagi meningkatkan kualiti lepas tuai serta mengenal pasti potensi antimikrob *O. stamineus*.

Penghargaan

Pengarang merakamkan ucapan terima kasih kepada pasukan penyelidik yang terlibat dalam kajian ini. Projek ini disokong oleh Geran NKEA (K-RFNA1-1001-KSR 999 dan K-RPN01).

Bibliografi

- Akuwoah, A.G., Zhari, I., Norhayati, I., Sadikun, A. dan Khamsah, S.M. (2004). Sinensitin, eupatorin, 3'-hydroxy-5,6,7, 4'- teramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidative effect of *Orthosiphon stamineus* from Malaysia. *Food Chemistry* 87: 559 – 566
- Akuwoah, A.G., Zhari, I., Norhayati, I. dan Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food Chemistry* 93: 311 – 317
- European Herbal Infusions Association (EHIA) (2011). EHIA's Recommended Microbiological Specification For Trade in Herbal Infusion Raw Materials (Dry), Issue 7, 2
- Ho, C.H., Noryati, I., Sulaiman, S.F. dan Rosma, A. (2010). *In vitro* antibacterial and antioxidant activities of *Orthosiphon stamineus* Benth. extracts against food-borne bacteria. *Food Chem.* 122: 1168 – 1172
- Wallace, H.A. dan Thomas, H.A. (1998). *Bacteriological Analytical Manual*, Edition 8, Revision A, Chapter 1
- Wan Zaki, W.A. dan Ahmad Tarmizi, S. (2012). Senario Industri Herba di Malaysia. *Agromedia Bil.* 38: 4 – 5

Ringkasan

Kajian ini dijalankan bagi membuat penilaian mikrobiologi terhadap kualiti lepas tuai misai kucing (*O. stamineus*). Berdasarkan piawaian, kualiti lepas tuai misai kucing didapati dalam keadaan baik pada semua tahap kematangan. Data teknikal ini penting dari sudut keselamatan dan kualiti makanan bagi menembusi pasaran herba antarabangsa.

Summary

This study aimed for the microbiology evaluation of postharvest quality of misai kucing (*O. stamineus*). Based on standard, the postharvest quality of *misai kucing* was in good condition at all maturity stages. Technical data is vital in term of food safety and quality to penetrate international herbs market.

Pengarang

Raja Arief Deli Raja Nasharuddin
Pusat Penyelidikan Sains Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor
E-mel: del@mardi.gov.my

Aida Mohamad
Pusat Penyelidikan Sains Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Noor Ismawaty Nordin dan Dewi Jamaliah Kamsiar
Pusat Penyelidikan Tanaman dan Sains Tanah
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM,
43400 Serdang, Selangor