

STUDI EFEKTIVITAS DISINFECTAN ALAMI DARI EKSTRAK DAUN PULAI (*ALSTONIA SCHOLARIS*) UNTUK MENGHAMBAT JUMLAH BAKTERI DI TOILET UMUM

Poppy Puspa Maya, Fania Ayu Rahmadhani, Anisa Rahma Dewi, Ade Sonya Suryandari
Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno Hatta No. 9, Malang, Indonesia
poppypuspa01@gmail.com, [ade.sonya@polinema.ac.id]

ABSTRAK

Salah satu penerapan protokol kesehatan di era pandemi COVID-19 adalah proses desinfeksi menggunakan disinfektan. Menyemprotkan disinfektan pada permukaan benda berguna untuk mematikan spora bakteri. Disinfektan dari bahan kimia sintesis dapat mereduksi bakteri dengan cepat. Namun menyisakan residu yang sulit terurai. Maka penggunaannya perlu dikurangi. Salah satu bahan alami yang dapat dijadikan disinfektan adalah daun pulai (*Alstonia scholaris*). Selain ketersediaannya melimpah di alam, efektivitas daun pulai sebagai antibakteri berhubungan dengan kandungan alkaloidnya. Metode penelitian ini, diawali dengan *sampling* menggunakan metode *cotton swab* yang kemudian dilakukan uji antibakteri dengan metode difusi agar Kirby Bauer. Media yang digunakan yaitu *lactose broth* dan *nutrient agar*. Dengan bantuan cakram *disc* yang diinokulasikan ekstrak daun pulai variabel konsentrasi ekstrak daun pulai yaitu 0, 25%, 50% 75% dan 100% di atas media berisi biakan bakteri. Kemudian diinkubasi dengan inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Efektivitas disinfektan dapat terlihat dari ukuran diameter zona hambat yang terbentuk yang diukur dengan jangka sorong. Didapatkan efektivitas zona hambat bakteri terbesar pada konsentrasi 100% yaitu sebesar 8,8 mm. Studi ini membuktikan bahwa ekstrak daun pulai (*Alstonia scholaris*) efektif digunakan sebagai bahan alami disinfektan untuk menghambat jumlah bakteri di toilet umum.

Kata kunci : COVID-19, *Alstonia scholaris*, disinfektan, antibakteri

ABSTRACT

*One of the health protocols implementations in the COVID-19 pandemic is disinfection process using disinfectants. Spraying disinfectants on the object's surface is useful for killing bacterial spores. Disinfectants from synthetic chemicals can reduce bacteria quickly, but leave residues that's difficult to decompose. So its use needs to be reduced. Natural ingredient that can be used as a disinfectant is pulai leaf (*Alstonia scholaris*). Its abundant availability in nature, the effectiveness of pulai leaf as antibacterial is related to alkaloid content. This research method begins with sampling using a cotton swab method then carried out an antibacterial test with the Kirby Bauer agar diffusion method. The media used are lactose broth and nutrient agar. The discs were inoculated with pulai leaf extract, the variable concentrations of pulai leaf extract were 0, 25%, 50% 75%, and 100% above the media containing bacterial cultures. Then incubated at 37°C for 24 hours. The effectiveness can be seen from the diameter of inhibition zone formed measured by a caliper. The greatest effectiveness was found at a concentration of 100%, namely 8.8 mm. This study proves that pulai leaf extract is effectively used as a natural disinfectant.*

Keywords: COVID-19, *Alstonia scholaris*, disinfectant, antibacterial

1. PENDAHULUAN

Salah satu penerapan protokol kesehatan di era pandemi COVID-19 adalah proses desinfeksi menggunakan disinfektan. Menyemprotkan disinfektan pada benda-benda yang paling sering disentuh dan digunakan banyak orang seperti gagang pintu, meja, serta keran air terutama di toilet umum berguna untuk membunuh dan mematikan spora bakteri. Disinfektan yang biasa digunakan berasal dari bahan kimia sintesis yang dapat mereduksi bakteri dengan cepat. Namun kekurangannya yaitu dapat menyisakan residu serta sulit untuk terurai. Maka penggunaan bahan kimia sintesis pada disinfektan perlu dikurangi dan digantikan dengan bahan alami yang lebih aman. Salah satu bahan alami yang dapat dijadikan disinfektan adalah daun pulai (*Alstonia scholaris*). Selain tersedia melimpah di alam, daun ini dikenal berkhasiat sejak zaman dahulu sehingga dapat menjadi rekomendasi bahan disinfektan alami. Aktivitas daun pulai (*Alstonia scholaris*) sebagai antimikroba berhubungan dengan kandungan alkaloidnya. Ditemukan lebih dari 70 jenis alkaloid pada akar, kulit batang, daun, buah dan bunga. Alkaloid paling banyak ditemukan di bagian daun [1]. Kandungan senyawa ini dapat diambil manfaatnya dalam bidang farmakologi dengan membuat ekstrak dari tanaman sebagai antibakteri. Ekstrak pulai (*Alstonia scholaris*) memiliki aktivitas untuk menghambat tumbuhnya mikroorganisme [2].

Penelitian terdahulu telah banyak menganalisis aktivitas antioksidan dari *Alstonia scholaris*, menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun pulai memiliki nilai IC50 sebesar 55.49 µg/mL [3]. Evaluasi secara mikrobiologis pada permukaan peralatan seperti gagang pintu dan keran air merupakan hal penting untuk mengetahui efektivitas desinfeksi dan tingkat cemaran. Pengambilan sampel permukaan peralatan menggunakan metode *cotton swab* sesuai SNI ISO 18593:2015, yaitu *cotton swab* steril diswabkan ke area dengan luas 100 cm² dengan cara memutar *cotton swab* [4]. Kelebihan metode ini yaitu sering digunakan dan cocok dengan sampel (permukaan yang rata). Efektivitas disinfektan dapat terlihat dari penurunan jumlah bakteri total dan ukuran zona hambat yang terbentuk pada media difusi agar.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun pulai yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri sampel secara *in vitro* ditinjau dari hasil uji hambat bakteri. Diharapkan penelitian ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dalam mengurangi penggunaan disinfektan berbahan kimia dan mengganti dengan disinfektan alami dari ekstrak daun pulai (*Alstonia scholaris*) yang lebih efektif dalam menghambat jumlah bakteri di toilet umum.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun pulai, etanol 96%, alkohol 70%, kertas saring whattman nomor 1, aluminium foil, parafilm, media *Lactose Broth*, media *Nutrient Agar*, *aquadest*, spirtus, larutan *saline* 0.9%, cakram *disc*, spirtus.

2.1. Pembuatan Media

Padatan LB (*Lactose Broth*) dan NA (*Nutrient Agar*) masing-masing ditimbang sebanyak 40 gram dan 28 gram untuk dilarutkan dengan *aquadest* sebanyak 1 liter. Masing-masing media dihomogenkan menggunakan *hot plate* and *stirrer* hingga semua padatan terlarut. Kemudian untuk media LB dimasukkan dalam botol duran dan ditutup. Sedangkan untuk media NA dilakukan pembagian pada tabung reaksi, masing-masing 15 mL dengan bantuan *top bottle dispenser*. Kemudian semua tabung reaksi ditutup menggunakan sumbat.

2.2. Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh alat, meliputi cawan petri, *beaker glass*, tip mikropipet, dan kawat ose, pinset, dicuci bersih dan dikeringkan. Untuk cawan petri dibungkus dengan kertas bekas, lalu semua alat dan bahan yang berupa media LB dan NA dimasukkan ke autoklaf, dan dipastikan autoklaf tertutup dengan benar. Sterilisasi dilakukan selama 15 menit pada suhu 121°C. Ekstrak daun pulai disterilisasi menggunakan *syringe filter sterile* untuk mendapatkan ekstrak daun pulai steril. Ekstrak daun pulai di tempatkan pada gelas kimia kemudian disedot dengan *syringe filter sterile* yang dihubungkan dengan *syringe* ukuran 20 mL.

2.3. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Pulai

Ekstrak daun pulai steril dipipet dengan mikropipet masing-masing 200 µL; 150 µL; 100 µL; dan 50 µL. Larutan diencerkan menggunakan larutan *saline* ke dalam *tube* steril hingga didapat volume akhir 200 µL, dan dihomogenkan larutan tersebut sehingga diperoleh variasi konsentrasi yaitu 100%, 75%, 50% dan 25%.

2.4. Sampling dengan Metode *Cotton Swab*

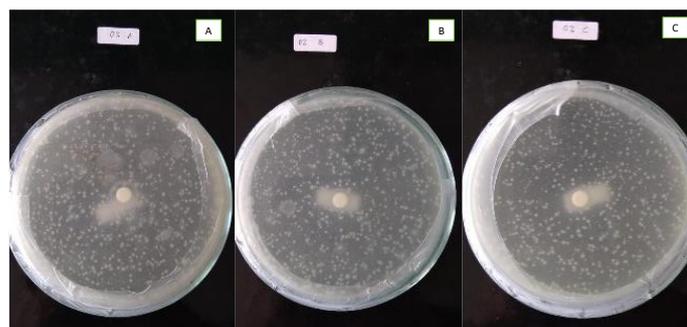
Sampling bakteri diambil dari keran air dan gagang pintu pada toilet umum di SPBU Bugul kidul, Kota Pasuruan. *Sampling* dilakukan dengan metode *cotton swab* sesuai SNI ISO 18593:2015, yaitu *cotton swab* steril diswabkan ke area dengan luas 100 cm² dengan cara memutar *cotton swab*.

2.5. Perhitungan Zona Hambat Bakteri

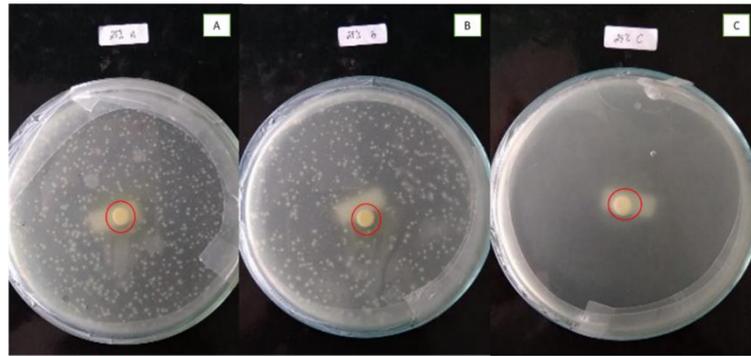
Kultur bakteri di *cotton swab* yang berasal dari gagang pintu dan keran toilet umum diinokulasikan ke dalam LB. Lalu diinkubasi dengan inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur bakteri sebanyak 1 mL dituangkan ke dalam *petridisk* dan ditambahkan NA 15 mL dengan suhu 40°C. Setelah NA membeku, cakram *disc* diletakkan pada bagian tengah dan diisi 25 µL ekstrak daun pulai dengan konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%, 100%, dan antibiotik *cephadroxil* sebagai kontrol positif diletakkan pada olesan biakan. Kontrol negatif berupa cakram *disc* kosong. Diinkubasi dengan inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dihitung diameter zona hambatnya sesuai dengan metode Kirby Bauer pada masing-masing variabel dengan menggunakan jangka sorong.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun pulai dengan berbagai variasi konsentrasi menunjukkan adanya zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri sampel dari toilet umum. Hal ini dapat dilihat dari zona bening di sekeliling kertas cakram yang mengandung ekstrak daun pulai, seperti terlihat pada Gambar 1-7 berikut.

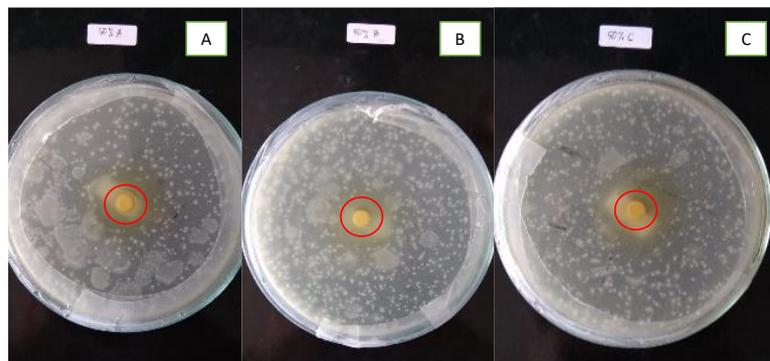


Gambar 1. Zona hambat bakteri dengan konsentrasi ekstrak daun pulai 0% (A: ulangan 1, B: ulangan 2, C: ulangan 3)



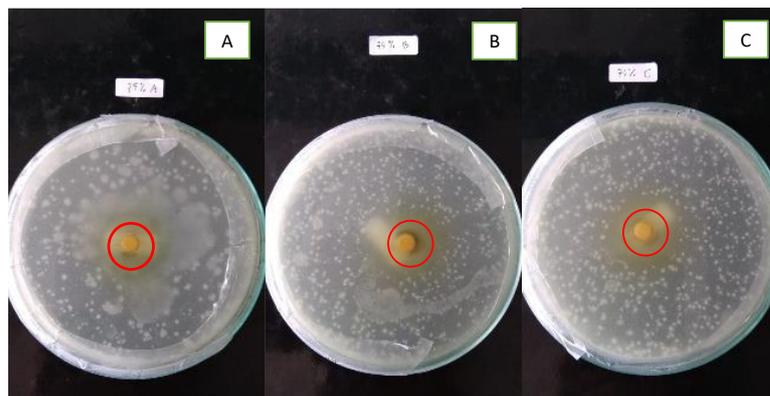
Keterangan :  zona hambat

Gambar 2. Zona hambat bakteri dengan konsentrasi ekstrak daun pulai 25% (A: ulangan 1, B: ulangan 2, C: ulangan 3)



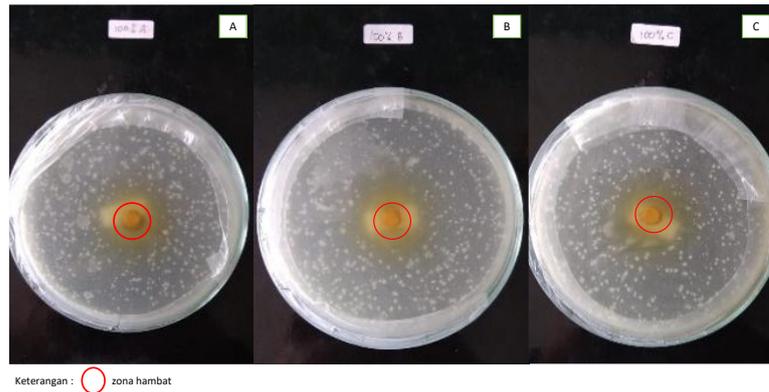
Keterangan :  zona hambat

Gambar 3. Zona hambat bakteri dengan konsentrasi ekstrak daun pulai 50% (A: ulangan 1, B: ulangan 2, C: ulangan 3)



Keterangan :  zona hambat

Gambar 4. Zona hambat bakteri dengan konsentrasi ekstrak daun pulai 75% (A: ulangan 1, B: ulangan 2, C: ulangan 3)



Gambar 5. Zona hambat bakteri dengan konsentrasi ekstrak daun pulai 100% (A: ulangan 1, B: ulangan 2, C: ulangan 3)



Gambar 6. Kontrol Positif



Gambar 7. Kontrol Negatif

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri Sampel di Toilet Umum yang diberi Ekstrak Daun Pulai dalam Berbagai Konsentrasi (dalam mm)

Konsentrasi ekstrak (%)	Ulangan (mm)			Jumlah	Rerata (mm)
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
25	9,6	7,1	7,3	24	8,0
50	9,1	8,3	8,3	25,7	8,6
75	8,1	6,6	8,1	22,8	7,6
100	8,5	9,1	8,7	26,3	8,8
Kontrol +	5,5	-	-	5,5	5,5
Kontrol -	0	-	-	0	0

Pada Tabel 1, menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun pulai yang memiliki rerata diameter zona hambat tertinggi yaitu pada konsentrasi 100%, dengan rerata diameter zona hambat sebesar 8,8 mm. Sifat daya hambat ini cenderung berbanding lurus dengan jumlah konsentrasi, namun pada konsentrasi 75% terjadi penurunan, dan meningkat kembali pada konsentrasi 100%. Berdasarkan penelitian Prayudhani, dkk. [5], menyatakan bahwa penurunan daya antibakteri setelah konsentrasi tertentu disebabkan oleh volume pelarut yang menghantarkan ekstrak semakin berkurang, sehingga kemampuan ekstrak untuk berdifusi menjadi berkurang. Menurut Purwanto [6], perbedaan besaran hambatan untuk masing-masing konsentrasi dapat disebabkan oleh perbedaan besar kecilnya konsentrasi, banyak sedikitnya kandungan zat aktif antimikroba yang terkandung dalam ekstrak, kecepatan difusi bahan antimikroba ke dalam medium dan inkubasi, pH lingkungan, komponen media, ukuran inokulum, waktu inkubasi dan aktivitas metabolik mikroorganisme.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun pulai yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri sampel di toilet umum adalah pada

konsentrasi 100% dengan rerata diameter zona hambat sebesar 8,8 mm. Menurut David, dkk. [7] menyatakan bahwa, bila diameter zona hambatan 20 mm atau lebih maka aktivitas penghambatannya dikategorikan sangat kuat, 10-20 mm dikategorikan kuat, 5-10 mm dikategorikan sedang, dan 5 mm atau kurang dikategorikan lemah. Sehingga dari penelitian ini menunjukkan bahwa efektivitas ekstrak daun pulai dalam aktivitas penghambatannya terhadap bakteri dikategorikan sedang. Menurut Dey et al. [8] menyebutkan bahwa, pemanfaatan *Alstonia Scholaris* sebagai obat berhubungan dengan kandungan metabolit sekundernya terutama dari senyawa kelompok alkaloid. Dengan demikian aktivitas penghambatan ini disebabkan karena adanya golongan senyawa berupa alkaloid yang terkandung dalam daun pulai. Alkaloid memiliki mekanisme menghambat enzim dihidrofolat reduktase dan enzim topoisomerase 1 sehingga menghambat sintesis DNA [9].

Penggunaan antibiotik *Cephadroxil* sebagai kontrol positif memberikan hasil rerata diameter zona hambat sebesar 5,5 mm. Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong, diukur dari tepi cakram *disc* sampai tepi luar zona hambat (bagian yang transparan). *Cephadroxil* termasuk antibiotik golongan sefalosporin. Mekanisme antibiotik golongan sefalosporin dalam menghambat pertumbuhan dan mematikan bakteri yaitu dengan menghambat sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri [10]. Sedangkan untuk kontrol negatif yang berupa larutan *Lactose Broth* tidak ada zona hambat. Kontrol negatif dibuat untuk melihat ada atau tidaknya aktivitas pada larutan. Sedangkan kontrol positif dibuat sebagai kontrol metode yang bertujuan untuk memastikan metode yang dilakukan sudah benar atau belum yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat. Hasil terbaik didapat pada pemberian ekstrak daun pulai dengan konsentrasi 100% yaitu rerata zona hambat sebesar 8,8 mm yang cenderung lebih besar dibandingkan lainnya.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil pengujian dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa konsentrasi ekstrak daun pulai yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri sampel dengan metode Kirby-Bauer menggunakan jangka sorong yaitu pada konsentrasi 100% dengan zona hambat sebesar 8.8 mm. Sehingga dari penelitian ini menunjukkan bahwa keefektivan ekstrak daun pulai dalam aktivitas penghambatannya terhadap bakteri dikategorikan sedang. Selanjutnya perlu penelitian lebih lanjut mengenai analisis secara kualitatif dan kuantitatif tentang kandungan ekstrak daun pulai (*Alstonia scholaris*).

REFERENSI

- [1] M. Khyade, D. M. Kasote, dan N. P. Vaikos, "Alstonia scholaris (L.) R. Br. and Alstonia macrophylla Wall. ex G. Don: A Comparative Review of Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 153, no. 1, hal. 1-18, 2014.
- [2] M. Antony, J. James, C. S. Misra, dan L. D. M. Sagadevan, "Antimycobacterial Activity of Plant Extracts Alstonia scholaris," *Int. J. Pharm. Res.*, vol. 4, no. 1, hal. 40-42, 2012.
- [3] R. L. Purnama, "Aktivitas Antioksidan, Kandungan Total Fenol, dan Flavonoid Lima Tanaman Hutan yang Berpotensi sebagai Obat Alami," Skripsi, Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor, 2015.
- [4] SNI ISO 18593:2015, "Mikrobiologi Bahan Pangan dan Pakan - Metode Horizontal untuk Teknik Pengambilan Contoh dari Permukaan Menggunakan Cawan Kontak dan Swab," November, 2015.

- [5] M. F. Prayudhani, U. S. Hastuti, dan E. Suarsini, "Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kecil (Manilkara Kauki L Dubard) Terhadap Bakteri Escherichia Coli," *Seminar Nasional X Pendidikan Biologi*, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sebelas Maret, hal.1-7, 2012.
- [6] S. Purwanto, "Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (Melastoma malabathricum L.) terhadap Escherichia coli," *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, vol. 2, no. 2, hal. 84-92, 2015.
- [7] W. W. Davis dan T. R. Stout, "Disk Plate Method of Microbiological Antibiotic Essay," *J. Microbiol.*, vol. 22, no. 4, hal. 659-655, 1971.
- [8] A. Dey, "Alstonia scholaris R.Br. (Apocynaceae): Phytochemistry and Pharmacology: A Concise Review," *J. App. Pharm. Sci.*, vol. 1, no. 6, hal. 51-57, 2011.
- [9] T. Cushnie, B. Cushnie, dan A. J. Lamb, "Alkaloid: An overview of Their Antibacterial, Antibiotic-enhancing and Antivirulence Activities," *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 44, no. 5, hal. 377-386, 2014.
- [10] E. Etebu, I. Ariekpar, "Antibiotics: Classification and Mechanisms of Action with Emphasis on Molecular Perspectives," *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res.*, vol. 4, hal. 90-101, 2016.