

Pengaruh Sodium Hipoklorit dan Kalsium Hipoklorit terhadap Daya Hidup *Leptospira* Patogenik

EFFECT OF SODIUM HYPOCHLORITE AND CALCIUM HYPOCHLORITE ON THE VIABILITY OF PATHOGENIC LEPTOSPIRA

Arief Nugroho*, Esti Rahardianingtyas, Rendro Wianto, Nurhidayati, dan Farida Dwi Handayani
Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit
Jl. Hasanudin No.123 Salatiga 50721, Jawa Tengah, Indonesia
*Email: ariefnugroho12@gmail.com

Submitted : 12-04-2021, Revised : 13-07-2021, Revised : 14-08-2021, Accepted : 28-08-2021

Abstract

Leptospirosis is still a health problem in the world. Leptospirosis can be transmitted to humans through contact with environment infected with pathogenic Leptospira. Efforts to control pathogenic Leptospira in the environment can be done one of them by disinfecting. Effective disinfectants for the control of pathogenic Leptospira include the active ingredients Calcium hypochlorite 60% and Sodium hypochlorite 5,25%. This study aims to determine the effectiveness of Calcium hypochlorite 60% and Sodium hypochlorite 5,25% against the life power of pathogenic Leptospira. This research is a laboratory study with pure experimental design. Serovar of pathogenic Leptospira used is Leptospira icterohaemorrhagiae. Leptospira icterohaemorrhagiae density used as much as 5.7×10^6 Leptospira/ml. The concentrations of disinfectants and bacteria are: 5 ppm, 50 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm, 10.000 ppm, and 25.000 ppm. Observations are made every ten minutes and twenty minutes with three repeats. The results showed that Leptospira icterohaemorrhagiae could not survive when tested on 60% calcium hypochlorite and 5.25% sodium hypochlorite, respectively, at a concentration of 2000 ppm and a concentration of 1000 ppm. Statistical results showed there was a significant difference in the concentration of each disinfectant active ingredient. Thus, a disinfectants of chlorine with the active ingredient Calcium hypochlorite 60% and Sodium hypochlorite 5,25% effectively affects the viability of the Leptospira icterohaemorrhagiae.

Keywords : Sodium Hypochlorite, Calcium Hypochlorite, Leptospira, Disinfectant

Abstrak

Leptospirosis masih menjadi masalah kesehatan di dunia. Leptospirosis dapat menular ke manusia lewat kontak dengan lingkungan yang mengandung *Leptospira* patogenik. Upaya pengendalian *Leptospira* patogenik di lingkungan dapat dilakukan salah satunya dengan pemberian disinfektan. Disinfektan yang efektif untuk pengendalian *Leptospira* patogenik diantaranya adalah bahan aktif kalsium hipoklorit 60% dan sodium hipoklorit 5,25%. Penelitian ini bertujuan mengetahui efektivitas bahan aktif kalsium hipoklorit 60% dan sodium hipoklorit 5,25% terhadap daya hidup *Leptospira* patogenik. Penelitian ini merupakan penelitian skala laboratorium dengan rancangan eksperimental murni. Serovar *Leptospira* patogenik yang digunakan adalah *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Kepadatan *Leptospira icterohaemorrhagiae* yang digunakan sebanyak $5,7 \times 10^6$ *Leptospira*/ml. Konsentrasi campuran disinfektan dan bakteri yaitu: 5 ppm, 50 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 5000 ppm, 10.000 ppm, dan 25.000 ppm. Pengamatan dilakukan tiap 10 menit dan 20 menit dengan tiga kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan *Leptospira icterohaemorrhagiae* tidak dapat hidup saat diujikan ke kalsium hipoklorit 60% dan sodium hipoklorit 5,25% berturut-turut pada konsentrasi 2000 ppm dan konsentrasi 1000 ppm. Hasil statistik menunjukkan ada perbedaan signifikan dari besaran konsentrasi masing-masing bahan aktif disinfektan. Dengan demikian, disinfektan klorin dengan bahan aktif *calcium hypochlorite* 60% dan *sodium hypochlorite* 5,25% efektif memengaruhi daya hidup *Leptospira icterohaemorrhagiae*.

Kata kunci: Sodium hipoklorit, Kalsium hipoklorit, *Leptospira*, Disinfektan

PENDAHULUAN

Leptospirosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogenik dari genus *Leptospira*. Genus *Leptospira* terdiri dari dua jenis yaitu sedikitnya 12 spesies yang patogenik dan 4 spesies saprofit/non-infeksius dengan lebih dari 250 serovar patogenik.¹ *Leptospira* serovar *icterohaemorrhagiae* merupakan salah satu serovar *Leptospira* yang banyak ditemukan saat *outbreak leptospirosis* yang terjadi pada tahun 1970-2012.² *Leptospira* serovar *icterohaemorrhagiae* juga merupakan serovar *Leptospira* yang banyak menginfeksi tikus yang merupakan reservoir utama leptospirosis.³

Manusia dapat terkena leptospirosis karena kontak dengan air atau tanah yang terkontaminasi oleh urin atau cairan tubuh lain dari hewan atau lingkungan yang telah terinfeksi *Leptospira* patogenik.^{4,5}

Bakteri ini masuk ke tubuh manusia lewat kulit yang luka, atau melalui membran mukosa.⁶ Bakteri ini mampu hidup selama beberapa hari hingga berbulan-bulan di air maupun tanah dengan kondisi yang mendukung.⁷ Bakteri ini mampu beradaptasi pada lingkungan yang tropis dengan curah hujan yang tinggi sehingga menyebabkan banjir atau banyak genangan air. Banjir, genangan air, maupun tanah yang lembab berpotensi mengandung *Leptospira* patogenik jika terkontaminasi oleh urin tikus atau cairan tubuh hewan reservoir leptospirosis. Saat ini diprediksi kasus leptospirosis meningkat akibat dampak *global warming* (pemanasan global) dan buruknya kondisi lingkungan fisik, kimiawi dan biologi di pemukiman penduduk, baik karena hasil kegiatan manusia, seperti penimbunan sampah, penyumbatan selokan, dan pembentukan genangan air maupun kejadian alami, seperti bencana alam : banjir, gempa bumi dan lain-lain.⁸

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa faktor risiko seperti kontak dengan air dan adanya keberadaan *Leptospira* di air maupun tanah dapat menjadi penyebab terjadinya leptospirosis.^{7,9,10} Upaya pengendalian bakteri *Leptospira* patogenik dapat dilakukan salah satunya dengan pemberian disinfektan untuk mencegah penyebaran infeksi *Leptospira* patogenik terutama melalui kontak baik secara langsung maupun tidak langsung dengan lingkungan yang terkontaminasi.¹¹ Disinfektan merupakan bahan selektif yang umumnya digunakan untuk

menghambat pertumbuhan, menghilangkan, atau membunuh mikroorganisme patogen.^{12,13} Disinfektan dikatakan ideal antara lain jika mampu bekerja dengan cepat menginaktivasi/membunuh mikroorganisme patogen, memiliki spektrum yang luas, mudah digunakan, dan tidak berdampak buruk terhadap lingkungan. Beberapa disinfektan memiliki kelebihan dan kekurangan serta memiliki kisaran target yang berbeda, sehingga tidak semua disinfektan dapat membunuh semua jenis mikroorganisme.¹⁴

Dari penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak daun sambiloto terhadap *Leptospira* sp. diperoleh hasil bahwa ekstrak daun sambiloto mampu membunuh *Leptospira* sp. pada dosis minimal 1,56%.¹⁵ Beberapa penelitian tentang disinfektan terhadap mikroorganisme yang berkembang di lingkungan telah banyak dilakukan. Penelitian tersebut dalam pengujiannya lebih banyak menggunakan bakteri yang umum seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, maupun *Salmonella* sp.¹⁶⁻¹⁸ Selain itu, dalam pengujiannya banyak digunakan bahan aktif dari tanaman. Pengujian bahan aktif dari disinfektan menggunakan bakteri *Leptospira* masih belum banyak dilakukan.

Senyawa dengan bahan aktif klorin berupa kaporit telah banyak digunakan sebagai disinfektan. Senyawa klorin dalam kaporit terutama asam hipoklorit merupakan senyawa yang sangat efektif untuk menginaktivasi mikroorganisme patogen yang terdapat dalam air.¹² Beberapa disinfektan dengan bahan aktif klorin terutama hipoklorit adalah sodium hipoklorit (NaOCl) dan kalsium hipoklorit (Ca[OCl]₂). NaOCl mempunyai aktivitas antimikroba yang dapat digunakan sebagai disinfektan maupun pemutih dalam industri makanan maupun untuk perawatan kesehatan, sedangkan Ca[OCl]₂ adalah bahan kimia yang biasa digunakan untuk proses sterilisasi industri maupun dalam proses pengolahan air bersih.^{19,20} Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa NaOCl 0,6% mempunyai efikasi yang tinggi dalam membunuh bakteri hingga bentuk biofilm dibandingkan etanol 70%.²¹ Penelitian terhadap penggunaan Ca[OCl]₂ menyebutkan bahwa Ca[OCl]₂ mempunyai efek merusak biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi optimum sebesar 30 ppm.²² Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas disinfektan dengan bahan aktif sodium hipoklorit dan kalsium hipoklorit

terhadap daya hidup *Leptospira* patogenik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai konsentrasi sodium hipoklorit dan kalsium hipoklorit yang efektif dalam mengendalikan *Leptospira* patogenik di lingkungan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian dasar laboratorium dengan rancangan eksperimen murni. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Januari – April 2020. Sampel penelitian adalah kaporit bubuk dengan bahan aktif *Calcium hypochlorite* 60% dan kaporit cair dengan bahan aktif *Sodium hypochlorite* 5,25% yang terdapat di pasaran.

Kultur Bakteri *Leptospira*

Penelitian ini menggunakan *Leptospira* serovar *icterohaemorrhagiae* yang dikultur di Laboratorium Bakteriologi, Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga. *Leptospira* patogenik murni ditumbuhkan dalam media EMJH (*Ellinghausen-Mc Cullough-Johnson-Harris*) cair dan diinkubasi pada suhu 30°C. Kultur *Leptospira* patogenik diamati pertumbuhan dan kepadatannya setelah 5-7 hari inkubasi dengan cara diteteskan di kaca objek dan diamati di bawah mikroskop medan gelap dengan pembesaran 100x atau 200x. Kepadatan kultur awal *Leptospira* serovar *icterohaemorrhagiae* yang dibuat adalah 2×10^8 *Leptospira*/ml.⁸ Kultur tersebut kemudian diencerkan sesuai dengan konsentrasi *Leptospira* yang dikeluarkan dari urin tikus sebanyak $5,7 \times 10^6$ *Leptospira*/ml.²³ Pengenceran dilakukan menggunakan aquabides steril dengan pH 7.

Uji antibakteri

Penelitian dilakukan dengan membuat seri konsentrasi bahan aktif NaOCl dan Ca[OCl]₂ dengan masing-masing konsentrasi yaitu 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm, 10.000 ppm, 20.000 ppm, dan 50.000 ppm. Masing-masing bahan aktif diambil 500 µL menggunakan mikropipet kemudian dimasukkan dalam tabung vial. Setelah itu, masing-masing tabung vial ditambahkan kultur *Leptospira icterohaemorrhagiae* yang telah diencerkan

sebanyak 500 µL sehingga perbandingan campuran menjadi 1:1. Setelah itu, didiamkan selama 10 menit pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan pada 10 menit pertama dan 10 menit kedua. Setelah waktu yang ditentukan tercapai, masing-masing tabung vial diambil beberapa tetes untuk diamati motilitas maupun keberadaan *Leptospira icterohaemorrhagiae* di bawah mikroskop medan gelap. Kontrol positif berupa kultur *Leptospira icterohaemorrhagiae* yang telah diencerkan tanpa pemberian bahan aktif dan kontrol negatif berupa air tanpa kultur *Leptospira icterohaemorrhagiae* dan tanpa pemberian bahan aktif.

Percobaan dilakukan dengan melakukan 3 kali ulangan. Tiap ulangan dilakukan dengan membuat kultur *Leptospira icterohaemorrhagiae* baru dan melakukan kontak baru terhadap masing-masing bahan aktif. Hasil dinyatakan positif (+) jika di bawah pengamatan mikroskop medan gelap masih tampak pergerakan dari *Leptospira* walaupun pergerakannya lemah. Hasil dinyatakan negatif (-) jika di bawah pengamatan mikroskop medan gelap tidak tampak motilitas/mati, ataupun *Leptospira* tidak terlihat. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengamatan konsentrasi *Leptospira* setelah diberi perlakuan karena bakteri masih tampak akan tetapi tidak menunjukkan adanya motilitas.

Analisis data

Data kematian *Leptospira icterohaemorrhagiae* dianalisis normalitasnya dengan uji *Shapiro Wilk* (jumlah sampel < 50) dan kemudian dianalisis uji beda dengan uji *Kruskal Wallis* dengan *p-value* pada tingkat kepercayaan < 0,05 untuk melihat ada tidaknya perbedaan kematian *Leptospira icterohaemorrhagiae* berdasarkan konsentrasi dari masing-masing bahan aktif. Data dianalisis menggunakan *software* SPSS versi 22.0.

HASIL

Hasil pengamatan menunjukkan bahan aktif *calcium hypochlorite* 60% mampu mematikan 100% *Leptospira icterohaemorrhagiae* mulai konsentrasi 2000 ppm (Tabel 1). Pada pengujian menggunakan *sodium hypochlorite* 5,25% didapat konsentrasi mematikan 100% *Leptospira icterohaemorrhagiae* mulai konsentrasi 1000 ppm (Tabel 2).

Tabel 1. Hasil Uji Bahan Aktif Kalsium Hipoklorit 60% terhadap *Leptospira icterohaemorrhagiae* tahun 2020

No	Dosis pokok Bahan aktif	Dosis akhir disinfektan : bakteri (1:1)	Hasil					
			Ulangan 1		Ulangan 2		ulangan 3	
			10 menit	20 menit	10 menit	20 menit	10 menit	20 menit
1	50.000 ppm	25.000 ppm	-	-	-	-	-	-
2	20.000 ppm	10.000 ppm	-	-	-	-	-	-
3	10.000 ppm	5.000 ppm	-	-	-	-	-	-
4	4000 ppm	2000 ppm	-	-	-	-	-	-
5	2000 ppm	1000 ppm	+	+	+	-	+	-
6	1000 ppm	500 ppm	+	+	+	+	+	+
7	100 ppm	50 ppm	+	+	+	+	+	+
8	10 ppm	5 ppm	+	+	+	+	+	+
	Kontrol +	++	++	++	++	++	++	++

Keterangan : (-) = tidak tampak *Leptospira*/mati dan/atau tidak bergerak; (+) = tampak *Leptospira* dan bergerak/motil; (++) = tampak *Leptospira*, kepadatan banyak dan motil/bergerak aktif

Tabel 2. Hasil Uji Bahan Aktif Sodium Hipoklorit 5,25% terhadap *Leptospira icterohaemorrhagiae* tahun 2020

No	Dosis pokok Bahan aktif	Dosis akhir disinfektan : bakteri (1:1)	Hasil					
			Ulangan 1		Ulangan 2		ulangan 3	
			10 menit	20 menit	10 menit	20 menit	10 menit	20 menit
1	50.000 ppm	25.000 ppm	-	-	-	-	-	-
2	20.000 ppm	10.000 ppm	-	-	-	-	-	-
3	10.000 ppm	5.000 ppm	-	-	-	-	-	-
4	4000 ppm	2000 ppm	-	-	-	-	-	-
5	2000 ppm	1000 ppm	-	-	-	-	-	-
6	1000 ppm	500 ppm	+	+	+	+	+	+
7	100 ppm	50 ppm	+	+	+	+	+	+
8	10 ppm	5 ppm	+	+	+	+	+	+
	Kontrol +	++	++	++	++	++	++	++

Keterangan : (-) = tidak tampak *Leptospira*/mati dan/atau tidak bergerak; (+) = tampak *Leptospira* dan bergerak/motil; (++) = tampak *Leptospira*, kepadatan banyak dan motil/bergerak aktif

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Data Kalsium Hipoklorit 60%

Hasil Konsentrasi -Kalsium	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	sig	Statistic	df	sig
Negatif	,259	26	,000	,757	26	,000
Fositif	,316	22	,000	,764	22	,000

a. Lilliefors Signifincace Correction

Tabel 4. Hasil Uji Normalitas Data Sodium Hipoklorit 5,25%

Hasil Konsentrasi -Kalsium	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	sig	Statistic	df	sig
Negatif	,257	30	,000	,747	30	,000
Fositif	,388	18	,000	,655	18	,000

a. Lilliefors Signifincace Correction

Tabel 5. Hasil Uji Kruskal Wallis Kalsium Hipoklorit 60%

Test Statistics^{a,b}

	konsentrasi_kalsium		
Chi-Square	df	asymp.sig	34,5731,000

- a. Kruskal. Wallis Test
- b. Grouping Variable: Hasil

Tabel 6. Hasil Uji Kruskal Wallis Sodium Hipoklorit 5,25%

Test Statistics^{a,b}

	konsentrasi_kalsium		
Chi-Square	df	asymp.sig	34,5711,000

- a. Kruskal. Wallis Test
- b. Grouping Variable: Hasil

Hasil analisis uji *Shapiro Wilk* pada Tabel 3 dan Tabel 4 menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal ($p < 0,005$) sehingga uji beda dilakukan dengan uji Kruskal Wallis.

Berdasarkan uji Kruskal Wallis (Tabel 5 dan 6) dapat diketahui bahwa nilai p value $< 0,005$ yang berarti terdapat perbedaan signifikan masing-masing konsentrasi bahan aktif disinfektan. Dengan demikian, besaran konsentrasi masing-masing bahan aktif disinfektan berpengaruh terhadap kematian *Leptospira icterohaemorrhagiae*.

PEMBAHASAN

Serovar *Leptospira* yang digunakan pada penelitian ini adalah *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Serovar *Leptospira icterohaemorrhagiae* di tikus merupakan serovar yang paling banyak ditemukan di berbagai belahan dunia seperti wilayah Asia, Oseania, Afrika, Eropa hingga ke benua Amerika yang saat ini ditemukan hingga di 36 negara.³ *Leptospira* termasuk dalam bakteri vegetatif yang mana bakteri vegetatif memiliki tingkat resistensi terendah terhadap disinfektan meskipun terdapat pula variasi strain bakteri vegetatif yang resisten terhadap disinfektan. Resistensi terhadap disinfektan paling tinggi adalah dari kelompok kista protozoa, diikuti oleh kelompok bakteri pembentuk spora, kemudian kelompok enteric virus, dan yang memiliki resistensi terendah

adalah bakteri vegetatif.¹²

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bahan aktif *calcium hypochlorite* 60% mampu mematikan *Leptospira icterohaemorrhagiae* pada konsentrasi 2000 ppm sedangkan menggunakan bahan aktif *sodium hypochlorite* 5,25% mampu mematikan *Leptospira icterohaemorrhagiae* pada konsentrasi 1000 ppm. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan terdapat perbedaan signifikan masing-masing konsentrasi dari bahan aktif disinfektan yang digunakan. Hal ini berarti semakin tinggi konsentrasi masing-masing bahan aktif, semakin tinggi kemampuan dalam mematikan *Leptospira*. Hasil konsentrasi disinfektan dalam penelitian ini sedikit lebih rendah dibandingkan dengan penelitian di Chennai yang menyebutkan penggunaan klorin 2% sangat efektif untuk mematikan *Leptospira*, hanya saja serovar yang digunakan adalah Automnalis. Studi di Chennai tersebut menyebutkan bahwa efikasi klorin dapat berbeda beda terhadap setiap strain *Leptospira* yang digunakan.²⁴

Sodium hipoklorit (NaOCl) maupun kalsium hipoklorit (Ca[OCl]₂) merupakan disinfektan berbasis klorin yang sering digunakan secara luas seperti untuk pemutih, sterilisasi, maupun untuk penjernih air. Keduanya, saat bercampur dengan air, akan terjadi reaksi, yaitu : pada sodium hipoklorit : $NaOCl + H_2O \rightleftharpoons HOCl + Na^+ + OH^-$ ²⁵ dan pada kalsium hipoklorit : $Ca[OCl]_2 + 2 H_2O \rightarrow 2 HOCl + Ca(OH)_2$ ²²

Hasil reaksi adalah terbentuknya asam hipoklorus (HOCl) yang merupakan komponen disinfektan aktif yang mempunyai sifat antibakteri.²⁶ Asam hipoklorus (HOCl) membunuh bakteri melalui suatu mekanisme dimana. HOCl akan masuk ke dalam sel bakteri melalui dinding dan membran sel bakteri kemudian merusak DNA bakteri. HOCl mampu menembus lapisan ganda lipid dan membran plasma dengan proses difusi pasif. HOCl mampu masuk ke dalam sel bakteri disebabkan oleh netralitas listrik yang dihasilkan oleh HOCl dan ukuran molekulnya yang sederhana. Hal ini mengakibatkan HOCl dapat menyerang sel tidak hanya sel luar tetapi juga sel dalam bakteri

sehingga mempercepat laju inaktivasi bakteri.²⁶

Hasil pengujian klorin dengan senyawa NaOCl maupun Ca[OCl]₂ menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri terhadap *Leptospira icterohaemorrhagiae* hasilnya melebihi nilai ambang batas aman kandungan klorin pada air minum. Menurut Permenkes No. 492/MENKES/PER/IV/ 2010 tentang persyaratan kualitas air minum, konsentrasi klorin yang aman digunakan pada air minum maksimal 5 mg/L. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan klorin dalam air minum tidak dapat membasmi bakteri *Leptospira icterohaemorrhagiae* karena kemampuan senyawa NaOCl mematikan bakteri tersebut adalah pada dosis minimal 1000 ppm sedangkan Ca[OCl]₂ pada dosis minimal 2000 ppm. Oleh karena itu, penggunaan klorin dengan senyawa NaOCl maupun Ca[OCl]₂ tidak cocok digunakan pada fasilitas pengolahan air untuk konsumsi. Penggunaan klorin dengan senyawa NaOCl maupun Ca[OCl]₂ lebih cocok digunakan untuk pengendalian *Leptospira* di lingkungan yang mendukung *Leptospira* bertahan hidup, seperti pada tanah becek, parit atau genangan air pasca terjadi banjir. *Leptospira* mampu hidup dalam waktu yang lama di lingkungan dengan kondisi yang mendukung dan menjadi sumber penularan ke manusia.⁷

Efektivitas klorin sebagai antibakteri dipengaruhi oleh substansi organik dan derajat keasaman/pH. Adanya substansi organik dapat menghambat efisiensi desinfeksi sehingga dapat menurunkan daya antibakteri klorin. Keketertarikan yang disebabkan senyawa anorganik, juga dapat menyebabkan penurunan efisiensi klorin.¹² Daya antibakteri klorin lebih tinggi dalam kondisi pH asam hingga netral. Saat kondisi pH basa, proporsi OCl⁻ akan meningkat yang menyebabkan tolakan antara bakteri dan klorin meningkat sehingga efek antibakteri menjadi lemah.²⁷

Keterbatasan penelitian adalah pengamatan daya hidup *Leptospira* hanya melihat motilitas atau tidaknya di bawah mikroskop dan tidak dilakukan perhitungan jumlah *Leptospira* yang mati. Uji lanjut tentang daya hidup *Leptospira* perlu dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri yang sudah diberi perlakuan *sodium hipoklorit* maupun kalsium hipoklorit pada

media pertumbuhan EMJH.

KESIMPULAN DAN SARAN

Disinfektan klorin dengan bahan aktif kalsium hipoklorit 60% mampu mematikan *Leptospira icterohaemorrhagiae* pada konsentrasi 2000 ppm, sedangkan *sodium hipoklorit* 5,25% mampu mematikan *Leptospira icterohaemorrhagiae* pada konsentrasi 1000 ppm. Konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan *Leptospira icterohaemorrhagiae* hanya dapat diaplikasikan pada lingkungan seperti tanah becek, parit dan genangan air pasca banjir

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit atas dukungannya serta rekan peneliti dan teknisi laboratorium yang membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Adler B, Moctezuma A la P. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*. 2010;(140): 287–96.
2. Munoz-Zanzi C, Groene E, Morawski BM, Bonner K, Costa F, Bertherat E, et al. A systematic literature review of leptospirosis outbreaks worldwide, 1970-2012. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Heal*. 2020;44:1–9.
3. Boey K, Shiokawa K, Rajeev S. *Leptospira* infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(8):1–24.
4. Thibeaux R, Geroult S, Benezech C, Chabaud S, Soupé-Gilbert ME, Girault D, et al. Seeking the environmental source of Leptospirosis reveals durable bacterial viability in river soils. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(2):1–14.
5. Schneider AG, Casanovas-Massana A, Hacker KP, Wunder EA, Begon M, Reis MG, et al. Quantification of pathogenic *Leptospira* in the soils of a Brazilian urban slum. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(4):1–15.
6. Brito T De, Silva AMG da, Abreu PAE. Pathology and pathogenesis of human

- leptospirosis: a commented review. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2018;60(e23):1–10.
7. Bierque E, Thibeaux R, Girault D, Soupé-Gilbert ME, Goarant C. A systematic review of *Leptospira* in water and soil environments. *PLoS One*. 2020;15(1):1–22.
 8. WHO India. *Leptospirosis Laboratory Manual* [Internet]. Regional Medical Research Centre Indian Council of Medical Research Port Blair. 2007. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/205429/B2147.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 9. Maisyaroh S, Pertiwi B, Setiani O. Faktor Lingkungan Yang Berkaitan Dengan Kejadian Leptospirosis di Kabupaten Pati Jawa Tengah. *J Kesehat Lingkung Indones*. 2016;13(2):51–7.
 10. Miller E, Barragan V, Chiriboga J, Weddell C, Luna L, Jiménez DJ, et al. *Leptospira* in river and soil in a highly endemic area of Ecuador. *BMC Microbiol*. 2021;21(1):1–11.
 11. Dubey S, Singh R, Gupta B, Patel R, Soni D, Dhakad B, et al. *Leptospira*: An emerging zoonotic pathogen of climate change, global warming and unplanned urbanization: A review. *J Entomol Zool Stud*. 2021;9(1):564–71.
 12. Said NI. Disinfeksi untuk proses pengolahan air minum. *J Air Indones*. 2007;3(1):15–28.
 13. Ku TSN, Walraven CJ, Lee SA. *Candida auris*: Disinfectants and implications for infection control. *Front Microbiol*. 2018;9(April):1–12.
 14. Rutala WA, Weber DJ. Monitoring and improving the effectiveness of surface cleaning and disinfection. *Am J Infect Control* [Internet]. 2016;44(5):e69–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2015.10.039>
 15. Nugroho A, Rahardiningtyas E, Putro DBW, Wianto R. Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) terhadap Daya Bunuh Bakteri *Leptospira* sp. *Media Penelit dan Pengemb Kesehat*. 2016;26(2):77–84.
 16. Chhetri VS, Janes ME, King JM, Doerrler W, Adhikari A. Effect of residual chlorine and organic acids on survival and attachment of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* on spinach leaves during storage. *Lwt - Food Sci Technol* [Internet]. 2019;105:298–305. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.019>
 17. Widiastuti D, Karima IF, Setiyani E. Efek Antibakteri Sodium Hypochlorite terhadap *Staphylococcus aureus*. *J Ilm Kesehat Masy*. 2019;11(4):302–7.
 18. Istikomah MN, Budiyono, Darundiati YH. Efektivitas variasi dosis Kalsium hipoklorit ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) dalam menurunkan koloni *Salmonella* dan bakteri Coliform pada limbah cair rumah potong hewan Penggaron Semarang. *J Kesehat Masy* [Internet]. 2018;6(2):133–42. Available from: <http://www.elsevier.com/locate/scp>
 19. Slaughter RJ, Watts M, Vale JA, Grieve JR, Schep LJ. The clinical toxicology of sodium hypochlorite. *Clin Toxicol*. 2019;57(5):303–11.
 20. DeAlmeida AP, Souza MA, Miyagaki DC, Dal Bello Y, Cecchin D, Farina AP. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *J Endod* [Internet]. 2014;40(12):1953–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.08.025>
 21. Tiwari S, Rajak S, Mondal DP, Biswas D. Sodium hypochlorite is more effective than 70% ethanol against biofilms of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Am J Infect Control* [Internet]. 2018;46(6):e37–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2017.12.015>
 22. Arifani I, Pradini GW, Farisa I, Arya D, Cahyadi AI. Destructive Effect of Calcium Hypochlorite against *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm. *Althea Med J*. 2017;4(3):468–73.
 23. Barragan V, Nieto N, Keim P, Pearson T. Meta-analysis to estimate the load of *Leptospira* excreted in urine: Beyond rats as important sources of transmission in low-income rural communities. *BMC Res Notes*.

- 2017;10(71):1–7.
24. Yuwvaranni S, Thiruvengadam S. Distribution, Isolation, Identification, Characterization and Effect of Chlorine, Antibiotics and Herbs on Bacterial Genus *Leptospira* in Chennai. *Int J Chem Sci.* 2010;8(5):520–6.
25. Severing AL, Rembe JD, Koester V, Stuermer EK. Safety and efficacy profiles of different commercial sodium hypochlorite/hypochlorous acid solutions (NaClO/HClO): Antimicrobial efficacy, cytotoxic impact and physicochemical parameters in vitro. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(2):365–72.
26. Fukuzaki S. Mechanisms of actions of sodium hypochlorite in cleaning and disinfection processes. *Biocontrol Sci.* 2006;11(4):147–57.
27. Wang J, Sui M, Yuan B, Li H, Lu H. Inactivation of two *Mycobacteria* by free chlorine: Effectiveness, influencing factors, and mechanisms. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;648:271–84. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.451>