

Pengaruh Penambahan Oksidator Pada Air Rendaman Angkak dan Daun Jati Terhadap Hasil Modifikasi Pewarnaan Gram

Nurhidayat¹, Yusianti Silviani²

¹DIV Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

² DIII Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

Abstrak

Penggunaan *safranin* pada pewarnaan Gram memiliki kelemahan yaitu harganya yang mahal serta warnanya sulit terserap pada preparat tertentu. Penggunaan pewarna alami merupakan alternatif untuk menggantikan pewarna *safranin*. Salah satu pewarna alami yang dapat digunakan adalah air rendaman angkak dan daun jati. Penambahan oksidator pada pewarna alam menghasilkan lapang pandang bersih dan bentuk bakteri sempurna. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan oksidator pada air rendaman angkak dan daun jati terhadap modifikasi pewarnaan Gram dengan menggunakan perbandingan. Desain penelitian adalah deskriptif dengan pendekatan quasi eksperimental. Penelitian dilakukan pada bulan Januari-Maret 2022 di Laboratorium Klinik Prodia Metro Lampung. Teknik sampling menggunakan metode *probability sampling* secara *simple random sampling*. Daun jati didapatkan dari kebun jati masyarakat di daerah Kabupaten Pesawaran Lampung, angkak didapatkan dari pasar swalayan di Kota Metro Lampung. Perbandingan angkak dan daun jati yang digunakan adalah 2:1. Pengamatan dilakukan dengan sistem skoring dengan melihat kejelasan bentuk dan morfologi setelah dilakukan pewarnaan. Hasil penelitian menunjukkan hasil pewarnaan bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan hasil baik dapat diamati dan diidentifikasi morfologi yaitu pada perbandingan 2:1, sedangkan bakteri *Escherichia.coli* hanya terwarnai sel nya saja sedang morfologi tidak dapat diidentifikasi. Simpulan dari penelitian ini bahwa tidak ada pengaruh penambahan oksidator pada air rendaman angkak dan daun jati terhadap hasil modifikasi pewarnaan Gram.

Kata kunci: Angkak, Daun jati, Pewarnaan Gram, Oksidator

The Effect of Adding an Oxidizing Agent to The Immersion Water of Angkak and Teak Leaves on The Modified Gram Staining Result

Abstract

The use of safranin on Gram staining has the disadvantage of being expensive and the color is difficult to absorb in certain preparations. The use of natural dyes is an alternative to replace safranin dyes. One of the natural dyes that can be used is water soaked in angkak and teak leaves. The addition of an oxidizing agent to natural dyes results in a clean field of view and a perfect bacterial shape. The aim of this study was to determine the effect of adding an oxidizing agent to the water soaked in Angkak and teak leaves on the modification of Gram staining by using a comparison. The research design is descriptive with a quasi-experimental approach. The research was conducted from January to March 2022 at the Prodia Metro Lampung Clinical Laboratory. The sampling technique uses the probability sampling method by means of simple random sampling. Teak leaves are obtained from community teak gardens in the Pesawaran Regency, Lampung, and Angkak is obtained from supermarkets in Metro Lampung City. The ratio of Angkak and teak leaves used is 2:1. Observations were made with a scoring system by looking at the clarity of shape and morphology after coloring. The results showed that the results of *Staphylococcus aureus* staining gave good results, observable and identifiable morphology, namely at a ratio of 2:1, while *Escherichia.coli* bacteria only stained the cells while the morphology could not be identified. The conclusions from this study were that there was no effect of adding an oxidizing agent to the water soaked in Angkak and teak leaves on the results of modified Gram staining.

Keywords: Angkak, Teak Leaves, Gram Staining, Oxidizing

Korespondensi: Yusianti Silviani, DIII Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Jl. Raya Solo-Baki, Bangorwo, Kwarasan, Kab. Grogol, Jawa Tengah 57552 Email: yusianti.silviani@stikesnas.ac.id, Telp: 085647147883

Pendahuluan

Perbedaan warna pada bakteri gram positif dan gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (Fitri, 2011).

Di Indonesia, bahan pewarna alami banyak digunakan seperti dari bahan alam berupa tanaman yang mengandung antosianin baik bagian bunga, daun, batang, ataupun akar. Aplikasi penggunaan pewarna alami diantaranya yaitu sebagai pewarna alami pada makanan dan tekstil. Pewarna alami yang dapat diaplikasikan pada makanan diantaranya yaitu buah naga (Ekawati et al., 2015), kulit manggis (Farida, 2015), sedangkan pewarna alami yang dapat diaplikasikan sebagai pewarna tekstil yaitu daun jati (Rosyida et al., 2014).

Safranin merupakan pewarna kationik dan merupakan salah satu kontaminan berbahaya yang telah ditemukan dalam farmasi dan limbah pabrik tekstil. Kontaminan ini berbahaya bagi kesehatan manusia karena efek negatifnya pada kulit seperti alergi kulit, sistem pencernaan dan sistem pernapasan (Bayazit, 2014).

Pemanfaatan zat pewarna alami untuk mewarnai jaringan tumbuhan menjadi alternatif untuk menggantikan pewarna sintetis yang harganya mahal dan bersifat karsinogenik. Zat karsinogenik dalam pewarnasintetis dapat menimbulkan masalah bagi lingkungan dan kesehatan manusia. Oleh karena itu zat warna sintetis perlu diganti menggunakan zat pewarna alami untuk mengurangi masalah yang ditimbulkan (Purwanto, 2012).

Hasil penelitian Virgianti (2017) dengan hasil pengamatan menunjukkan bahwa hasil pewarnaan yang cukup baik diperoleh dari perlakuan dengan waktu perendaman pewarna penutup kombinasi angkak dan daun jati selama 10 menit dengan penambahan oksidator pada proses pewarnaan Gram yang dilakukan, yaitu menunjukkan lapang pandang yang bersih, dan bentuk bakteri yang sempurna dan warna yang cukup kontras meskipun hasil yang diperoleh tidak sebaik pada kontrol.

Daun jati muda memiliki kandungan beberapa senyawa pigmen terutama antosianin yang dapat digunakan sebagai pewarna alami. Pada saat ini pemanfaatan daun jati biasanya digunakan sebagai pembungkus makanan. Daun

jati muda mengandung pigmen alami antosianin yang cukup tinggi sehingga dapat memberikan warna merah pada preparat (Nurwanti et al., 2013).

Warna merah angkak sangat potensial sebagai pengganti warna merah sintetis yang saat ini penggunaannya sangat luas pada berbagai produk makanan. *Monascus* sp menghasilkan enam jenis pigmen, yaitu 2 pigmen kuning: monascin dan ankaflavin, 2 pigmen jingga: monascorubrin dan rubropunctanin dan 2 pigmen merah: monascorubramine dan rubropunctamine (Andarwulan, 2012).

Penambahan oksidator kalium permanganat tersebut didasari oleh hasil penelitian Hafiz et al., (2013) yang menyatakan bahwa pewarna alami harus dioksidasi terlebih dahulu. Berdasarkan penelitian tersebut dinyatakan bahwa kalium permanganat adalah oksidator yang paling bagus digunakan dibandingkan dengan *hydrogen peroxide*, *ferric chloride*, dan *potassium alum*.

Pada penelitian ini menggunakan oksidator untuk melihat adanya pengaruh penambahan oksidator $KMnO_4$ dan H_2O_2 pada rendaman angkak dan daun jati dalam pengecatan Gram. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan oksidator pada air rendaman angkak dan daun jati terhadap modifikasi pewarnaan Gram.

Metode

Jenis penelitian ini deskriptif dengan pendekatan quasi eksperimen membandingkan hasil pewarnaan modifikasi dengan hasil pewarnaan kontrol. Penelitian ini dilakukan pada Januari-Maret 2022, tempat penelitian Laboratorium Klinik Prodia Metro Lampung. Sertifikat laik etik penelitian dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah Purwokerto No. Registrasi: KEPK/UMP/17/1/2022.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, kaca objek, rak pengecatan, neraca analitis, gelas ukur, kertas saring whatman, mikroskop, gelas erlemeyer. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah $KMnO_4$ 0.1 N, H_2O_2 1%, angkak, daun jati muda, aqudest steril, pewarna gram (gram set), biakan bakteri *Staphylococcus aureus* kode ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 yang berasal dari seksi Mikrobiologi Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung.

Reagen warna modifikasi dibuat dari bahan angkak dan daun jati dengan menimbang masing-masing bahan sebanyak 5 gram daun jati muda selanjutnya rendam masing-masing dalam 10 mL aquadest steril selama 10-12 jam, kemudian saring menggunakan kertas saring masing-masing zat warnanya. Setelah reagen modifikasi jadi dibuat perbandingan sebagai berikut:

Tabel 1. Perbandingan reagen warna modifikasi

Perbandingan	Angkak	Daun Jati	Oksidator
2 : 1	8 mL	4 mL	2mL
2 : 1	8 mL	4 mL	(KMnO ₄)
2 : 1	8 mL	4 mL	0.1N) 2 mL (H ₂ O ₂ 1%)

Prosedur pewarnaan modifikasi Gram, teteskan cat Gram A pada preparat bakteri biarkan selama 60 detik kemudian bilas dengan air mengalir, teteskan cat Gram B selama 2 menit kemudian bilas dengan air mengalir. Selanjutnya teteskan Gram C (alcohol asam) selama 30 detik sebagai peluntur kemudian bilas dengan air mengalir dan keringkan. Kemudian masing-masing preparat bakteri *Staphylococcus aureus* kode ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan cat Gram D selama 30 detik. Dengan zat warna modifikasi ditetaskan masing-masing kemudian diamkan selama 10 menit. Kemudian setelah dilakukan pewarnaan, masing-masing preparat bakteri diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali.

Hasil penelitian dilakukan secara langsung antara hasil pewarnaan gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) dan gram negatif (*Escherichia.coli* ATCC 25922) menggunakan modifikasi air rendaman angkak dan daun jati antara yang tidak ditambahkan oksidatorKMnO₄ dan H₂O₂ dengan yang ditambahkan oksidatorKMnO₄ dan H₂O₂.

Hasil pengamatan dinilai menggunakan skor berdasarkan beberapa parameter pengamatan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa hasil pewarnaan yang cukup baik diperoleh dari perlakuan dengan waktu perendaman pewarna penutup kombinasi angkak dan daun jati selama 10 menit dengan penambahan oksidator pada proses pewarnaan Gram yang dilakukan, yaitu menunjukkan lapang pandang yang bersih, dan bentuk bakteri yang sempurna dan warna yang cukup kontras meskipun hasil yang diperoleh tidak sebaik pada kontrol (Virgianti, 2017).

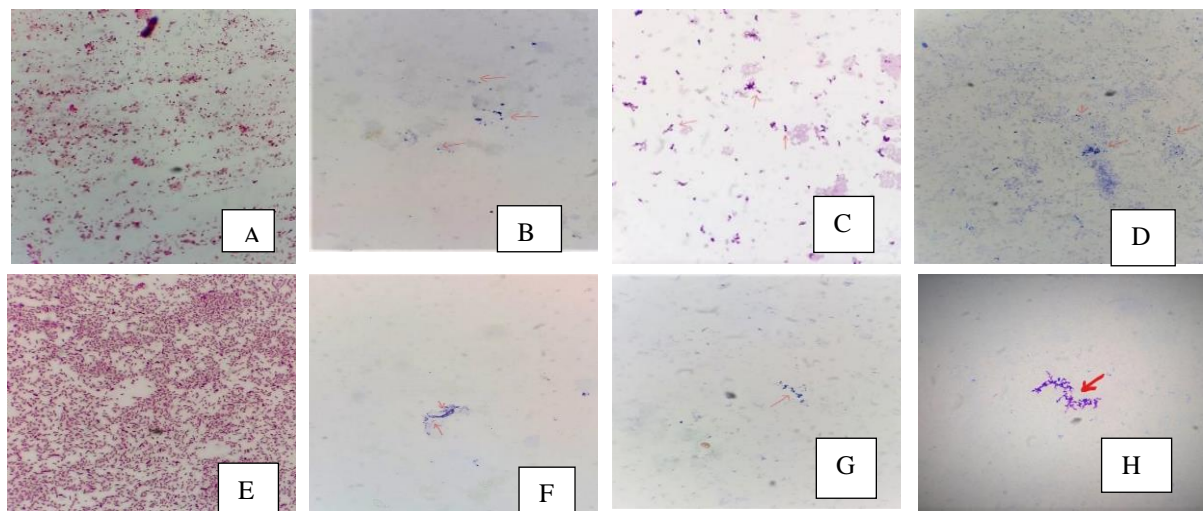
Tabel 2. Scoring Pengamatan

Parameter Pengamatan	Deskripsi	Scoring
Kejelasan lapangan pandang	Lapangan pandang kurang terlihat jelas, sulit identifikasi bentuk bakteri	1
	Lapangan pandang terlihat jelas untuk identifikasi bentuk bakteri	2
Kekontrasan Warna	Bakteri terwarnai tetapi warna samar dan kurang kontras	1
	Bakteri terwarnai baik, jelas dan warna kontras baik untuk pengamatan	2
Bentuk/morfologi bakteri	Bentuk bakteri kurang jelas	1
	Bentuk bakteri jelas	2

Hasil

Berdasarkan hasil penelitian dan pengamatan preparat bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) dan gram negatif (*Escherichia.coli* ATCC 25922) menggunakan modifikasi air rendaman angkak dan daun jati antara yang tidak ditambahkan oksidatorKMnO₄ dan H₂O₂ dengan yang ditambahkan oksidatorKMnO₄ dan H₂O₂ didapatkan hasil pewarnaan pada gambar 1.

Berdasarkan hasil pewarnaan preparat bakteri yang telah dilakukan, preparate bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) dan gram negatif (*Escherichia.coli* ATCC 25922) menggunakan modifikasi air rendaman angkak dan daun jati antara yang tidak ditambahkan oksidatorKMnO₄ dan H₂O₂ dengan yang ditambahkan oksidatorKMnO₄ dan H₂O₂ didapatkan hasil data scoring disajikan pada tabel 3.



Gambar 1. Hasil Pewarnaan dengan Gram dan Modifikasi

Keterangan A: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Gram standart, **B:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Angkak daun jati 2:1, **C:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Angkak + daun jati (2:1) + Oksidator $KMnO_4$, **D :** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Angkak + daun jati (2:1) + Oksidator H_2O_2 , **E:** *Escherichia coli* ATCC 25922 Gram standart, **F:** *Escherichia coli* ATCC 25922 Angkak daun jati 2:1, **G:** *Escherichia coli* ATCC 25922 Angkak + daun jati (2:1) + Oksidator $KMnO_4$, **H :** *Escherichia coli* ATCC 25922 Angkak + daun jati (2:1) + Oksidator H_2O_2

Tabel 3. Hasil Pengamatan Modifikasi Pewarnaan Gram

No	Preparat Bakteri	Pewarnaan	Parameter Pengamatan	Score
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Gram Kontrol	Kejelasan lapangan pandang	2
			Kekontrasan Warna	2
			Bentuk/morfologi bakteri	2
			Total score	6
2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Angkak + daun jati (2:1)	Kejelasan lapangan pandang	2
			Kekontrasan Warna	2
			Bentuk/morfologi bakteri	2
			Total score	6
3	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Angkak + daun jati (2:1) + Oksidator $KMnO_4$	Kejelasan lapangan pandang	2
			Kekontrasan Warna	2
			Bentuk/morfologi bakteri	2
			Total score	6
4	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Angkak + daun jati (2:1) + Oksidator H_2O_2	Kejelasan lapangan pandang	2
			Kekontrasan Warna	2
			Bentuk/morfologi bakteri	2
			Total score	6
5	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram Kontrol	Kejelasan lapangan pandang	2
			Kekontrasan Warna	2
			Bentuk/morfologi bakteri	2
			Total score	6
6	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Angkak + daun jati (2:1)	Kejelasan lapangan pandang	2
			Kekontrasan Warna	1
			Bentuk/morfologi bakteri	1
			Total score	4
7	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Angkak + daun jati (2:1) + Oksidator $KMnO_4$	Kejelasan lapangan pandang	2
			Kekontrasan Warna	1
			Bentuk/morfologi bakteri	1
			Total score	4
8	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Angkak + daun jati (2:1) + Oksidator H_2O_2	Kejelasan lapangan pandang	2
			Kekontrasan Warna	1
			Bentuk/morfologi bakteri	1
			Total score	4

Pembahasan

Dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari lapisan peptidoglikan (murein) pelindung yang sangat tebal. Lapisan peptidoglikan merupakan komponen utama dinding sel Gram positif. Komponen lain dari dinding sel Gram positif yang adalah asam teikoat dan asam lipoteikoat. Kedua komponen ini unik untuk dinding sel gram positif. Polisakarida antigenik lainnya mungkin ada pada permukaan lapisan peptidoglikan (Lehman, 2015)

Dinding sel bakteri Gram negative mikroorganisme terdiri dari dua lapisan, lapisan peptidoglikan bagian dalam jauh lebih tipis daripada di dinding sel Gram positif. Di luar lapisan peptidoglikan adalah membran luar tambahan yang unik untuk dinding sel Gram negatif. Membran luar mengandung protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida (LPS). LPS mengandung tiga wilayah: polisakarida spesifik O antigenik, polisakarida inti, dan lipid dalam A (juga disebut endotoksin. Antara membran luar dan membran dalam dan meliputi lapisan peptidoglikan tipis adalah daerah yang disebut sebagai ruang periplasmik. Di dalam ruang periplasma terdapat matriks seperti gel yang mengandung protein pengikat nutrisi dan enzim degradatif dan detoksifikasi. Ruang periplasma tidak ada pada bakteri Gram positif (Lehman, D. C, 2015).

Pada penelitian ini zat warna merah dari angkak berfungsi mewarnai sel bakteri. Sedangkan zat warna antosianin dari daun jati berfungsi memperjelas morfologi/ bentuk bakteri. Hasil pewarnaan dapat dilihat pada Gambar 1, jika dibandingkan antara hasil pewarnaan standar Gram untuk bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 morfologi jelas bentuk bulat/coccus Gram positif, diameter 0.7-1.2 um, berkelompok seperti buah anggur. Hasil pewarnaan campuran air rendaman angkak dan daun jati tanpa penambahan oksidator, terlihat masih bisa diamati morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bentuk bulat/coccus Gram positif, susunan sudah tersebar tidak bergerombol, ukuran 07-1.2 um, lapangan pandang dan latar belakang jelas, masih bisa diidentifikasi. Berdasar tabel 3 hasil skor pengamatan, didapatkan skor 6 sedangkan pewarnaan kontrol Gram skor 6, berarti skor pengamatan sesuai dengan standar.

Hasil pewarnaan campuran air rendaman angkak dan daun jati dengan penambahan oksidator $KMnO_4$ terlihat morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 jelas

bentuk bulat/coccus Gram positif, ukuran 0.7-1.2 um, lapangan pandang dan latar belakang warna jelas dan masih bisa dilakukan identifikasi. Berdasar tabel 3 hasil skor pengamatan, didapatkan skor 6 sedangkan pewarnaan kontrol Gram skor 6, berarti skor pengamatan sesuai dengan standar.

Hasil pewarnaan air rendaman angkak dan daun jati dengan penambahan oksidator H_2O_2 terlihat morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 hasil pewarnaan sedikit lebih tipis tetapi masih cukup jelas bentuk bulat/coccus Gram positif, ukuran 07-1.2 um, lapangan pandang dan latar belakang warna lebih tipis jelas dan masih bisa dilakukan identifikasi. Berdasar tabel 3 hasil score pengamatan, didapatkan skor 6 sedangkan pewarnaan kontrol Gram skor 6, berarti skor pengamatan sesuai dengan standar.

Hasil pewarnaan gambar 1 pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan pewarnaan Gram standar terlihat morfologi jelas bentuk batang Gram negatif, ukuran 1.1-1.5 um, bakteri susunannya menyebar. Hasil pewarnaan campuran air rendaman angkak dan daun jati tanpa penambahan oksidator, pada preparat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 jika dibandingkan dengan hasil pewarnaan kontrol Gram, morfologi terlihat kurang jelas, warna tidak jelas dan cenderung masih menyerap sisa zat warna utama, lapangan pandang dan latar belakang tidak cukup jelas, tetapi tidak dapat dilakukan identifikasi. Berdasar tabel 3 hasil score pengamatan, didapatkan skor 4 sedangkan pewarnaan kontrol Gram skor 6, berarti skor pengamatan kurang dari standar.

Hasil pewarnaan campuran air rendaman angkak dan daun jati dengan penambahan oksidator $KMnO_4$ terlihat morfologi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 jika dibandingkan dengan hasil pewarnaan kontrol Gram, morfologi tidak jelas dan hasil pewarnaan lebih cenderung masih menyerap sisa zat warna utama, lapangan pandang dan latar belakang cukup jelas, akan tetapi tidak dapat dilakukan identifikasi. Berdasar tabel 3 hasil score pengamatan, penilaian skor pengamatan didapatkan skor 4 sedangkan pewarnaan kontrol Gram skor 6, berarti skor pengamatan kurang dari standar.

Hasil pewarnaan campuran air rendaman angkak dan daun jati dengan penambahan oksidator H_2O_2 terlihat morfologi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 jika dibandingkan dengan hasil pewarnaan kontrol Gram, morfologi tidak jelas dan hasil

pewarnaan lebih cenderung menyerap sisa zat warna utama, lapangan pandang dan latar belakang cukup jelas tetapi lebih tipis, sehingga bakteri sulit dilakukan identifikasi. Berdasar tabel 3 hasil skor pengamatan, penilaian skor pengamatan didapatkan skor 4 sedangkan pewarnaan kontrol Gram skor 6, berarti skor pengamatan kurang standar.

Hal tersebut terjadi akibat konsentrasi zat pigmen merah: monascorubramine, rubropunctamine pada angkak dan pigmen merah antosianin pada daun jati yang rendah, didapatkan dari proses rendaman menggunakan pelarut aquadest steril, sehingga zat warna tidak optimal diserap oleh dinding sel bakteri.

Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Virgianti, 2017) menggunakan campuran ekstrak angkak dan daun jati menggunakan alkohol 96%, menghasilkan zat warna yang lebih tinggi konsentrasinya. Hasil penelitian ini setelah dilakukan perendaman selama 10 menit terhadap preparat bakteri menggunakan ekstrak angkak dan daun jati menunjukkan lapangan pandang yang cukup jelas, bentuk bakteri yang sempurna berbentuk batang (*Escherichia coli*), hasil yang cukup kontras bila dibandingkan dengan hasil pewarnaan kontrol Gram. Sehingga simpulan hasil penelitian tersebut, ekstrak angkak dan daun jati bisa digunakan sebagai alternatif pewarna penutup pada pewarnaan Gram.

Kekontrasan warna dapat diketahui dengan penyerapan warna pada jaringan yang akan diamati sedangkan kejelasan preparat dapat diamati dengan memperhatikan beberapa indikator yaitu ada tidaknya gelembung udara, ketebalan dan jelas tidaknya inti sel terwarnai (Wagiyanti, 2017).

Rendahnya konsentrasi zat warna campuran air rendaman angkak dan daun jati yang dipakai dikarenakan volume pelarut (aquadest steril) yang cukup besar dibandingkan dengan konsentrasi pigmen merah dari angkak monascorubramine, rubropunctamine dan pigmen merah dari daun jati antosianin. Air merupakan bahan pelarut yang universal, sehingga air merupakan pelarut yang baik. Air mampu melarutkan berbagai jenis senyawa kimia misalnya seperti garam-garam, gula, asam, beberapa jenis gas dan banyak macam molekul organik (Utomo, 2015).

Sifat-sifat suatu larutan sangat dipengaruhi oleh susunan komposisinya. Untuk menyatakan komposisi larutan tersebut maka digunakan istilah konsentrasi larutan yang menunjukkan perbandingan jumlah zat terlarut

terhadap pelarut (Khikmah, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan tidak ada pengaruh penambahan oksidator $KMnO_4$ dan H_2O_2 pada air rendaman angkak dan daun jati terhadap hasil modifikasi pewarnaan Gram. Saran untuk peneliti selanjutnya, dapat menggunakan bahan pewarna alami lainnya yang memiliki potensi sebagai pewarna. Dapat melanjutkan dan menyempurnakan penelitian yang telah dilakukan dengan meningkatkan konsentrasi pewarna modifikasi.

Daftar Pustaka

- Andarwulan, N., & Faradilla, R. F. (2012). *Pewarna Alami Untuk Pangan*. (SEAFast) Center Bogor.
- Bayazit, Ş. S. (2014). Investigation of Safranin O Adsorption on Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPION) and Multi-Wall Carbon Nanotube/SPION Composites. *Desalination and Water Treatment*, 52(37–39), 6966–6975. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.821045>
- Ekawati, P., Rostiati, & Syahraeni. (2015). Aplikasi Ekstrak Kulit Buah Naga Sebagai Pewarna Alami Pada Susu Kedelai Dan Santan. *Jurnal Agrotekbis*, 3(2), 198–205.
- Farida, R., & Choirun Nisa, F. (2015). Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Manggis Metode Microwave Assited Extraction (Lama Ekstraksi Dan Rasio Bahan: Pelarut) Extraction Anthocyanin Mangosteen Peel Waste with Microwave (Length of Extraction Time and Ratio of Material: Solvent). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(2), 362–373.
- Fitri, L., & Yasmi, Y. (2011). Isolasi Dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Biologi Edukasi*, 3(2), 20–25 <http://www.jurnal.unsyiah.ac.id/JBE/article/view/465>
- Hafiz, H., Chukwu, O., & Nura, S. (2013). The Potentials of Henna (*Lawsonia inamis L.*) Leaves Extracts as Counter Stain in Gram Staining Reaction. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 5(2), 56–60. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v5i2.10>

- Irfannuddin. (2019). *Cara Sistematis Berlatih Meneliti* (S. S. & Den Setiawan (ed.); Cetakan 1). Rayyana Komunikasindo Jakarta.
- Khikmah, N. (2015). Pengaruh Konsentrasi Naoh dan Laju Alir pada Penentuan Kreatinin dalam Urin secara Sequential Injection Analysis. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*, 1(1), 613–616.
- Lehman, D. C., Mahon, C. R., Suvarna, K. (2015). Diagnostic Mycobiology. In *Diagnostic Textbook of Microbiology* (5th ed.).
- Nurwanti, M., Budiono, J. D., & P, R. P. (2013). Pemanfaatan Filtrat Daun Muda Jati Sebagai Bahan Pewarna Alternatif Dalam Pembuatan Preparat Jaringan Tumbuhan. *BioEdu*, 2(1), 73–76. <https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/bioedu/article/view/1621>
- Purwanto, A., & Kwartiningsih dan Endang Mastuti, E. (2012). Pembuatan Zat Warna Alami dalam Bentuk Serbuk untuk Mendukung Industri Batik di Indonesia. *Jurnal Rekayasa Proses*, 6(1), 26. <https://doi.org/10.22146/jrekpros.2454>
- Rosyida, A., Tekstil, P. K., Teknologi, A., & Surakarta, W. (2014). *Pemanfaatan Daun Jati Muda untuk Pewarnaan Kain Kapas Pada Suhu Kamar Utilization of Teak Leaves for Dyeing on Cotton Fabric At Room Temperature*. <https://doi.org/10.31266/at.v29i2.882>
- Utomo, S. (2015). Pengaruh Konsentrasi Larutan NaNO₂ Sebagai Inhibitor Terhadap Laju Korosi Besi Dalam Media Air Laut. *Teknologi*, 7(2), 93–103. <https://doi.org/10.24853/jurtek.7.2.93-103>
- Virgianti, D. P. (2017). Penggunaan Ekstrak Kombinasi Angkak Dan Daun Jati Sebagai Pewarna Penutup Pada Pewarnaan Gram. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi*, 17(1), 66. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v17i1.191>
- Wagiyanti, H., & Noor, R. (2017). Red Dragon Fruit (*Hylocereus costaricensis* Britt. Et R.) Peel Extract as a Natural Dye Alternative in Microscopic Observation of Plant Tissues: The Practical Guide in Senior High School. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 3(3), 232. <https://doi.org/10.22219/jpbi.v3i3.4843>