



PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN JATI (*Tectona grandis*) SEBAGAI PEWARNA ALTERNATIF PENGGANTI ZAT WARNA SAFRANIN PADA PEWARNAAN PREPARAT BAKTERI

Oleh

Erna Kristinawati¹, Kaffat Bana Ahsan², I Wayan Getas³

^{1,2,3}Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Mataram, Indonesia

E-mail: ¹ernakris29@gmail.com, ³getasponi@gmail.com

Abstrak

Pengamatan bakteri dengan mikroskop cahaya tidak mudah terlihat, karena bakteri tidak dapat mengadsorpsi atau membiaskan cahaya, sehingga digunakan zat warna untuk mewarnai bakteri tersebut atau latar belakangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pemanfaatan daun jati (*Tectona grandis*) sebagai pewarna alternatif pengganti zat warna safranin pada pewarnaan bakteri. Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif observatif, sampel yang digunakan sebanyak 5 sampel dengan 5 perlakuan yang diulangi sebanyak 5 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa preparat bakteri *E.coli* yang dicat menggunakan ekstrak daun jati konsentrasi 1 % dan 2 % dihasilkan pewarnaan yang kualitasnya tidak baik sebanyak 10 preparat (40 %), menggunakan ekstrak daun jati konsentrasi 3 % dihasilkan pewarnaan yang kualitasnya kurang baik sebanyak 5 preparat (20 %), menggunakan konsentrasi 4 % dan 5 % dihasilkan pewarnaan yang kualitasnya baik sebanyak 10 preparat (40 %). Kesimpulan dalam penelitian ini adalah daun jati (*Tectona grandis*) dapat digunakan sebagai pewarna alternatif pengganti zat warna safranin pada pewarnaan preparat bakteri.

Kata Kunci: Ekstrak Daun Jati, Pewarnaan Preparat Bakteri, Safranin

PENDAHULUAN

Identifikasi bakteri merupakan prosedur laboratorium yang digunakan untuk mengetahui sifat-sifat morfologi bakteri. Pemeriksaan morfologi bakteri ini perlu untuk mengenal jenis bakteri. Konfirmasi jenis bakteri dapat menggunakan berbagai pewarnaan, reaksi enzimatis atau reaksi biokimia, terutama jika identifikasi menggunakan media masih meragukan (1). Kebanyakan bakteri mudah bereaksi dengan pewarna-pewarna sederhana karena sitoplasmanya bersifat basofilik (suka akan basa) sedangkan zat-zat warna yang digunakan untuk pewarnaan sederhana umumnya bersifat alkalin (komponen kromoforiknya bermuatan positif) (2).

Pengamatan bakteri dengan mikroskop cahaya tidak mudah terlihat, karena bakteritidak mengadsorpsi ataupun

membiaskan cahaya. Alasan inilah yang menyebabkan zat warna digunakan untuk mewarnai bakteri atau latar belakangnya(3). Pewarna bakteri yang biasa digunakan yaitu pewarna sintesis diantaranya safranin, carbol fuchsin, crystal violet, dan methylen blue (4). Di Indonesia, bahan pewarna alami banyak digunakan seperti dari bahan alam berupa tanaman yang mengandung antosianin baik bagian bunga, daun, batang, ataupun akar. Selain digunakan sebagai pewarna makanan dan tekstil, pewarna alami dari bahan alam dapat pula digunakan sebagai pewarna pada proses pewarnaan bakteri (5).

Penelitian pewarna alami yang digunakan pada pewarnaan bakteri dilakukan oleh Hafiz et al.,(2013) yang menggunakan ekstrak daun henna sebagai pewarna penutup pada pewarnaan Gram. Penelitian terkait pewarna alami juga telah dilakukan oleh Luciana



(2016), bahwa kombinasi ekstrak angkak dan daun jati 2:1 dapat digunakan sebagai pewarna bakteri pada pewarnaan sederhana, yaitu dapat memberikan hasil pewarnaan yang cukup baik pada parameter yang diukur meliputi kejelasan lapang pandang, kekontrasan warna dan kesempurnaan bentuk bakteri yang diwarnai.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekstrak daun jati dapat digunakan sebagai alternatif pengganti zat warna safranin pada pewarnaan preparat bakteri.

LANDASAN TEORI

1. Pewarnaan Bakteri

Mikroorganisme yang ada di alam ini mempunyai morfologi, struktur dan sifat yang khas begitu pula dengan bakteri. Bakteri yang hidup hampir tidak berwarna dan kontras dengan air, dimana sel – sel bakteri yang ada disuspensikan. Salah satu cara untuk mengamati bentuk sel bakteri sehingga mudah diidentifikasi adalah dengan cara metode pengecatan atau pewarnaan. Hal tersebut berfungsi untuk mengetahui sifat fisiologisnya yaitu mengetahui reaksi dinding sel bakteri melalui serangkaian pengecatan atau pewarnaan(8).

Untuk mempelajari morfologi, struktur, sifat-sifat bakteri untuk membantu identifikasinya bakteri perlu diwarnai. Jenis jenis pewarnaan kuman yang dikenal adalah pengecatan sederhana, pengecatan negatif, pengecatan diferensial dan pengecatan khusus(2).

a. Pewarnaan Sederhana

Pewarnaan sederhana, merupakan pewarnaan yang paling umum digunakan. Berbagai macam tipe morfologi bakteri (kokus, basil, spirillum, dan sebagainya) dapat dibedakan dengan menggunakan pewarna sederhana, yaitu mewarnai sel – sel bakteri hanya digunakan satu macam zat warna saja. Kebanyakan bakteri mudah bereaksi dengan

pewarna sederhana karena sitoplasmanya bersifat basofilik(9).

b. Pewarnaan Negatif

Suspensi bakteri dibuat dalam zat warna negrosin atau tinta bak dan disebar – ratakan dengan gelas alas lain (sediaan hapus). Disini bakteri tidak diwarnai dan tampak sebagai benda – benda terang dengan latar belakang hitam. Pewarnaan ini dipakai untuk bakteri yang sukar diwarnai seperti *Treponema*, *Leptosira* dan *Borellia*(10).

c. Pewarnaan Diferensial

Merupakan pewarnaan yang menggunakan lebih dari satu macam warna serta menampilkan perbedaan di antara sel-sel bakteri atau bagian-bagian sel bakteri. Pewarnaan ini terbagi sebagai berikut :

1) Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram atau metode Gram adalah suatu metode untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni Gram positif dan Gram negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel mereka. Dalam pewarnaan Gram diperlukan empat reagen yaitu :

- Zat warna utama (kristal violet)
- Mordan (Larutan Iodin) yaitu senyawa yang digunakan untuk mengintensifkan warna utama.
- Peluntur zat warna (alkohol / aseton) yaitu solven organik yang digunakan untuk melunturkan zat warna utama.
- Zat warna kedua / zat warna penutup digunakan untuk mewarnai kembali sel – sel yang telah kehilangan cat utama setelah perlakuan dengan alkohol.

2) Pewarnaan Tahan Asam

Pewarnaan ini ditujukan terhadap bakteri yang mengandung lemak



dalam konsentrasi tinggi sehingga sukar menyerap zat warna, namun jika bakteri diberi zat warna khusus seperti karbol fukhsin melalui proses pemanasan, maka akan menyerap zat warna dan akan tahan diikat tanpa mampu dilunturkan oleh peluntur yang kuat sekalipun seperti asam alkohol. Karena itu bakteri ini disebut bakteri tahan asam (BTA). Teknik pewarnaan ini dapat digunakan untuk mendiagnosa keberadaan bakteri penyebab tuberculosis *Mycobacterium tuberculosis*(8).

d. Pewarnaan Khusus

Pewarnaan khusus ini dipakai untuk mewarnai bagian sel kuman atau kuman tertentu yang sukar diwarnai dengan pewarnaan biasa termasuk dalam pengecatan ini adalah pengecatan endospora, flagelladan pengecatan kapsul.

2. Pewarna Alami

Bahan pewarna alami banyak digunakan seperti dari bahan alam berupa tanaman yang mengandung antosianin baik bagian bunga, daun, batang maupun akar. Aplikasi penggunaan pewarnaan alami pada makanan dan tekstil.

Selain digunakan sebagai pewarna makanan dan tekstil, pewarna alami dari bahan alam dapat pula digunakan sebagai pewarna dalam proses pewarnaan bakteri. Bahan alam yang berpotensi untuk digunakan sebagai pewarna pada bakteri sangatlah banyak, diantaranya kombinasi angkak dan daun jati yang menghasilkan pigmen berwarna merah.

Penelitian Ati (2006) menyatakan bahwa ekstrak daun jati ini memiliki kandungan antosianin jenis pelargonidin sebagai pigmen alaminya pelargonidin merupakan golongan pigmen antosianidin, yaitu aglikon antosianin yang terbentuk bila

antosianin dihidrolisis dengan asam. Kandungan ini berfungsi sebagai pembentuk warna (pemberi pigmen) yang menyebabkan ekstrak daun jati berwarna merah darah.

Begitu juga dengan angkak atau biasa disebut dengan beras merah cina. Angkak sendiri merupakan produk dari beras yang difermentasikan oleh jenis kapang *Monascus anka / Monascus purpureus*(12). Menurut Suwanto (1985) dan Ma et.al., (2000) pada angkak terdapat pigmen berwarna merah yaitu *rubropunktatin* dan *monaskorubin*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Luciana (2016), bahwa kombinasi ekstrak angkak dan daun jati 2:1 dapat digunakan sebagai pewarna bakteri pada pewarnaan sederhana, yaitu dapat memberikan hasil pewarnaan yang cukup baik pada parameter yang diukur meliputi kejelasan lapang pandang, kekontrasan warna dan kesempurnaan bentuk bakteri yang diwarnai.

3. Tanaman Jati

Tanaman jati yang tumbuh di Indonesia berasal dari India. Tanaman yang mempunyai nama ilmiah *Tectona grandis* secara historis, nama tectona berasal dari bahasa portugis (tekton) yang berarti tumbuhan yang memiliki kualitas tinggi(13).

Daun jati muda memiliki kandungan pigmen alami yang terdiri dari pheophiptin, β - karoten, pelargonidin 3-glukosida, pelargonidin 3,7-diglukosida, klorofil dan dua pigmen lain yang belum diidentifikasi. Pelargonidin merupakan golongan pigmen antosianidin, yaitu aglikon antosianin yang terbentuk bila antosianin dihidrolisis dengan asam. Kandungan ini berfungsi sebagai pembentuk warna (pemberi pigmen) yang menyebabkan ekstrak daun jati berwarna merah darah(11).

4. Ekstraksi



Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia dari tanaman. Ekstrak adalah senyawa aktif dari tanaman atau jaringan hewan, dengan menggunakan pelarut yang selektif. Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara dingin. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu dengan maserasi, perkolasi dan soxhletasi.

Maserasi merupakan jenis ekstraksi yang sangat sederhana yang dilakukan dengan cara merendam bahan simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, maka zat aktif (zat terlarut) ditarik keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang kali hingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (14).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat deskriptif observatif yaitu peneliti mengamati secara langsung objek yang akan diteliti, kemudian digambarkan secara deskriptif untuk mengetahui ekstrak daun jati dapat sebagai alternatif pengganti zat warna safranin. Dalam penelitian ini menggunakan 25 unit eksperimen diantaranya 5 replikasi dan 5 perlakuan yakni pewarnaan preparat bakteri menggunakan ekstrak daun jati dengan konsentrasi 1% , 2%, 3%, 4% dan 5%. Pembuatan konsentrasi ekstrak daun jati dilakukan dengan teknik maserasi dan pewarnaan preparat bakteri dengan teknik pewarnaan Gram dari sampel bakteri *E. coli*.

Pengambilan sampel dilakukan dengan Teknik *Non Random Purposive Sampling*. Adapun kriteria sampel daun jati yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jati muda, memiliki warna agak kecoklatan dan masih segar. Variabel penelitian terdiri dari variabel bebas yaitu ekstrak daun jati

(*Tectona grandis*) dan variabel terikat yaitu hasil pewarnaan alternatif.

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan kriteria pengecatan yakni baik (jika hasil penyerapan zat warna pada preparat bakteri terwarnai kontras terhadap lapangan pandang dan bentuk bakteri sempurna), kurang baik (jika bakteri kurang terwarnai kontras terhadap lapangan pandang dan bentuk bakteri kurang sempurna) dan tidak baik (jika bakteri tidak dapat terwarnai kontras terhadap lapangan pandang dan bentuk bakteri tidak sempurna).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan kualitas hasil pewarnaan preparat bakteri menggunakan ekstrak daun jati dengan konsentrasi 1% , 2%, 3%, 4% dan 5%.

Tabel 1. Hasil pewarnaan preparat bakteri *E.coli* menggunakan safranin dan ekstrak daun jati.

| Kode Slide | Warna Bakteri | Kontras terhadap lapangan pandang | Bentuk bakteri | Kualitas Pewarnaan |
|------------|------------------|-----------------------------------|-----------------|--------------------|
| Control | Merah | Kontras | Basil | Baik |
| T1 | Tidak terwarnai | Tidak Kontras | Tidak terbentuk | Tidak Baik |
| T2 | Tidak terwarnai | Tidak Kontras | Tidak terbentuk | Tidak Baik |
| T3 | Tidak terwarnai | Kontras | Batang pendek | Kurang Baik |
| T4 | Merah Kecoklatan | Kontras | Batang pendek | Baik |
| T5 | Merah Kecoklatan | Kontras | Batang pendek | Baik |

Keterangan :

Control: Pewarnaan preparat bakteri menggunakan safranin.

T1 : Pewarnaan preparat bakteri menggunakan ekstrak daun jati 1 %.

T2 : Pewarnaan preparat bakteri menggunakan ekstrak daun jati 2 %.

T3 : Pewarnaan preparat bakteri menggunakan ekstrak daun jati 3 %.

T4 : Pewarnaan preparat bakteri menggunakan ekstrak daun jati 4 %.

T5 : Pewarnaan preparat bakteri menggunakan ekstrak daun jati 5 %.



Tabel 2. Persentase hasil pewarnaan dari preparat bakteri *E. coli*

| No | Pewarna | Kualitas Pewarnaan | | | | | |
|-------|---------------------|--------------------|----|-------------|----|------------|----|
| | | Baik | | Kurang Baik | | Tidak Baik | |
| | | n | % | n | % | n | % |
| 1 | Ekstak daun jati 1% | - | - | - | - | 5 | 20 |
| 2 | Ekstak daun jati 2% | - | - | - | - | 5 | 20 |
| 3 | Ekstak daun jati 3% | - | - | 5 | 20 | - | - |
| 4 | Ekstak daun jati 4% | 5 | 20 | - | - | - | - |
| 5 | Ekstak daun jati 5% | 5 | 20 | - | - | - | - |
| Total | | 10 | 40 | 5 | 20 | 10 | 40 |

Dari tabel 1 dan 2 terlihat bahwa preparat bakteri *E. coli* yang dicat menggunakan ekstrak daun jati konsentrasi 1 % dan 2 % dihasilkan pewarnaan yang kualitasnya tidak baik (40 %), menggunakan ekstrak daun jati konsentrasi 3 % dihasilkan pewarnaan yang kualitasnya kurang baik (20 %), menggunakan ekstrak daun jati konsentrasi 4 % dan 5 % dihasilkan pewarnaan yang kualitasnya baik (40 %).

Pada preparat bakteri *E. coli* yang diwarnai menggunakan ekstrak daun jati diperoleh hasil pewarnaan yang berbeda dari setiap konsentrasi. Dilihat dari parameter kebersihan preparat terlihat sama pada semua konsentrasi yaitu tidak ada endapan cat pada preparat. Sedangkan untuk parameter kontras terhadap lapangan pandang dan bentuk bakteri diperoleh hasil yang bervariasi yaitu, pada konsentrasi 1 % dan 2 % terlihat tidak kontras dan bakteri tidak terbentuk. Pada konsentrasi 3 % diperoleh hasil kurang kontras dan bentuk bakteri batang pendek. Pada konsentrasi 4 % dan 5 % diperoleh hasil kontras terhadap lapangan pandang dan bentuk bakteri batang pendek.

Pada dasarnya bakteri berwarna transparan sehingga mudah terwarnai dengan pewarna – pewarna sederhana karena sitoplasmanya bersifat basofilik. Preparat dengan konsentrasi 1 – 3 % tidak dapat terwarnai disebabkan oleh

kandungan zat warna antosianin pada daun jati tersebut dalam jumlah sedikit maupun beberapa faktor seperti pH, temperatur, oksigen, ion logam, dan kandungan air yang terkandung didalamnya sehingga zat warna antosianin tidak optimal dalam mewarnai bakteri.

Sementara preparat dengan konsentrasi 4–5% dapat terwarnai karena kandungan antosianin yang terkandung lebih besar sehingga bakteri mampu menyerap zat warna antosianin oleh karena struktur pori peptidoglikan dari bakteri Gram negatif yang lebih besar, maka akan lebih mudah bagi larutan Gram C untuk menetralkan atau menghapus zat warna ungu yang ada dipeptidoglikan sehingga akan terlihat warna kemerah – merahan dari ekstrak daun jati. Hal – hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan pewarnaan preparat bakteri agar diperoleh kualitas pewarnaan yang baik yaitu : preparat bakteri harus benar – benar kering sebelum diwarnai, dalam melakukan pewarnaan bakteri harus memperhatikan cat yang digunakan dengan jenis pewarnaan yang dilakukan, untuk menghindari hilangnya sediaan pada preparat, cucilah sediaan dengan air mengalir secara perlahan – lahan.

PENUTUP

Kesimpulan

1. Pada pewarnaan preparat bakteri *E. coli* yang diwarnai dengan ekstrak daun jati dengan konsentrasi 1 % di peroleh kualitas pewarnaan yang tidak baik.
2. Pada pewarnaan preparat bakteri *E. coli* yang diwarnai dengan ekstrak daun jati dengan konsentrasi 2 % di peroleh kualitas pewarnaan yang tidak baik.
3. Pada pewarnaan preparat bakteri *E. coli* yang diwarnai dengan ekstrak daun jati dengan konsentrasi 3 % di peroleh kualitas pewarnaan yang kurang baik.
4. Pada pewarnaan preparat bakteri *E. coli* yang diwarnai dengan ekstrak daun jati



dengan konsentrasi 4 % di peroleh kualitas pewarnaan yang baik.

5. Pada pewarnaan preparat bakteri *E. coli* yang diwarnai dengan ekstrak daun jati dengan konsentrasi 5 % di peroleh kualitas pewarnaan yang baik.
6. Daun jati jenis *Tectona grandis* dapat digunakan sebagai alternatif pewarnaan bakteri, karena memiliki kemampuan melekat pada sediaan bakteri namun masih memerlukan penelitian lanjutan untuk menyempurnakan formulasinya

Saran

Bagi peneliti selanjutnya disarankan untuk meningkatkan konsentrasi ekstrak daun jati dan waktu perendaman preparat dengan ekstrak daun jati agar menghasilkan kualitas preparat yang lebih baik serta memperhatikan kualitas daun jati agar memperoleh pigmen merah yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim.
Http://Ilmualam.Net/Perbedaan_Pewarna-Alami-Dan-Buatan.Html. 2016.
- [2] Waluyo L. Teknik Metode Dasar Mikrobiologi. Malang: UMM Press; 2010.
- [3] W. Lay B. Analisis Mikroba Di Laboratorium. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada; 1994.
- [4] Jiwintarum Y, Rohmi, Prayuda IDPM. Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Pewarna Alami Untuk Pewarnaan Bakteri Yunan. *J Kesehat Prima*. 2016;10(2):1726–34.
- [5] Virgianti DP, Luciana C. Penggunaan Ekstrak Kombinasi Angkak Dan Daun Jati Sebagai Pewarna Penutup Pada Pewarnaan Gram. *J Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 2017;17(1):66–72.
- [6] Hafiz H, Chukwu O, Nura S. The Potentials Of Henna (*Lawsonia Inamis L.*) Leaves Extracts As Counter Stain In Gram Staining Reaction. *Bayero J Pure Appl Sci*. 2013;5(2):56–60.
- [7] Luciana C. Pemanfaatan Kombinasi Angkak Dan Daun Jati Sebagai Pewarna Pada Pewarnaan Bakteri. *Stikes Bakti Tunas Husada*. Tasikmalaya; 2016.
- [8] Rasbawati, Fitriani. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Hewan. Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian, Peternakan Dan Perikanan Universitas Muhammadiyah Parepare. 2019.
- [9] Soemarno. Isolasi Dan Identifikasi Bacteri Klinik. Yogyakarta: Akademi Analis Kesehatan Yogyakarta Departemen Kesehatan RI; 2000.
- [10] Assani S. Ultrastruktur, Morfologi, Dan Pewarnaan Kuman, Dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Binarupa Aksara; 1994.
- [11] Ati NH. Komposisi Dan Kandungan Pigmen Pewarna Alami Kain Tenun Ikat Di Kabupaten Timor Tengah Selatan, Provinsi Nusa Tenggara Timor. *Salatiga UKSW Indo J Chem*. 2006;
- [12] Wijayakusuma H. Ramuan Herbal Penurun Kolesterol. Depok: Pustaka Bunda; 2008.
- [13] Sumarna Y. Budidaya Jati. Jakarta: Penerbit Swadaya; 2004.
- [14] Hasanah N. Skrining Senyawa Antimitosis Ekstrak Daun Turi (*Sesbania Grandiflora L.*) Berdasarkan Penghambatan Pembelahan Sel Telur Bulubabi. 2010;