

## Pemanfaatan Bunga Telang (*Clitoria ternate* L.) pada Pewarnaan Gram Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

### *Utilization Of Butterfly Pea Flowers (Clitoria ternate L.) In Gram Staining Of Staphylococcus aureus and Escherichia coli Bacteria*

Dian Hastari Ningrum<sup>1\*</sup>, Herlina Herlina<sup>2</sup>, Visensius Krisdianilo<sup>3</sup>, Andy Febriady<sup>4</sup>

<sup>1234</sup>Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam,  
Sudirman Street Number 38 Lubuk Pakam, Deli Serdang, North Sumatra, Indonesia, 20512  
Email: dianhastari1951@gmail.com

#### Abstrak

Latar Belakang: Bunga telang (*Clitoria ternate* L.) dikenal sebagai tumbuhan yang sering ditemukan, mengandung antosianin pada bagian bunganya, yang memberikan warna merah dan biru-ungu. Antosianin adalah molekul utama pewarna pada tanaman dan memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai pewarna alami. Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menentukan apakah ekstrak bunga telang dapat menggantikan gentian violet pada pewarnaan Gram. Metode: Metode eksperimental digunakan dalam penelitian ini. Hasil: Pewarnaan Gram menggunakan ekstrak bunga telang dengan pH asli pada berbagai konsentrasi (1:10 hingga 5:10) menunjukkan hasil yang bervariasi pada *Staphylococcus aureus*, dengan hasil terbaik pada konsentrasi 5:10 karena menghasilkan warna ungu pada bakteri. Untuk *Escherichia coli*, pewarnaan menghasilkan warna merah pada bakteri, menunjukkan hasil yang baik. Kesimpulan: Uji *Kruskal Wallis* menghasilkan nilai *Asymp. Sig* (0,000) < 0,05, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan dalam pewarnaan Gram antara gentian violet dan ekstrak bunga telang pada variasi pH dan komposisi.

**Kata kunci:** Bunga Telang; Pewarnaan Gram; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

#### Abstract

*Introduction* : Butterfly pea flower (*Clitoria ternate* L.) is one of the most commonly found plants. Butterfly pea flowers contain anthocyanins which are abundant in the flowers and play a role in giving red, violet-blue color to the flowers. Anthocyanins are the main molecules of plant colorants. The potential of anthocyanins in butterfly pea flowers can be used as a natural coloring reagent. *Objective* : The purpose of this study was to determine whether telang flower extract can be used as a substitute for gentian violet in Gram staining. *Method* : The research method used is experimental. *Result* : The results of Gram staining research using original pH butterfly pea flower extract at concentrations of 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, and pH 5 butterfly pea flower extract at concentrations of 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, 5:10 on *Staphylococcus aureus* bacteria showed poor bacterial staining results because the bacteria were not purple while the original pH butterfly pea flower extract at a concentration of 5:10 showed good staining results because the bacteria were purple. While in *Escherichia coli* bacteria, butterfly pea flower extract shows good staining results because the bacteria are red. *Conclusion* : Data analysis using the *Kruskal Wallis* test obtained *Asymp. Sig* (0.000) < 0.05, it can be concluded that there is a significant difference in Gram staining using gentian violet and telang flower extract with variations in pH and composition as a substitute for gentian violet.

**Keywords:** Butterfly Pea Flower; Gram Stain; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

\* Corresponding Author: Dian Hastari Ningrum, Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Indonesia

E-mail : dianhastari1951@gmail.com

Doi : 10.35451/mmj.v2i1.2377

Received : October 17, 2024. Accepted: October 30, 2024. Published: October 31, 2024

Copyright (c) 2024 Dian Hastari Ningrum. Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

## 1. PENDAHULUAN

*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi pada manusia. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat (coccus) yang muncul dalam kelompok menyerupai anggur dan menghasilkan enterotoksin yang bisa menyebabkan keracunan makanan. Infeksi ini ditandai dengan gejala seperti mual, muntah, kejang perut, dan diare (Alam, Basarang and Nasir, 2018). *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang (basil) yang hidup alami dalam saluran pencernaan manusia. Infeksi *E. coli* bisa menyebabkan penyakit seperti infeksi saluran kemih dan diare, terutama jika makanan terkontaminasi oleh bakteri tersebut atau tidak diolah dengan baik. (Cikita, Petrika and Waliyo, 2021).

Dalam praktik laboratorium mikrobiologi, identifikasi bakteri kerap dilakukan melalui pengecatan atau pewarnaan preparat menggunakan mikroskop. Pewarnaan ini bertujuan memperjelas tampilan dan struktur bakteri yang sulit dilihat dalam keadaan alami, karena bakteri transparan (Assyahida et al., 2022). Metode pewarnaan, termasuk pewarnaan Gram, Kapsul, dan Tahan Asam, membantu pengamatan terhadap bentuk, ukuran, struktur luar, dan ciri-ciri kimiawi bakteri (Hidayanti, Sulfiani and Taufiq, 2021).

Pewarnaan Gram adalah metode diferensial yang sering digunakan di laboratorium mikrobiologi untuk membedakan bakteri Gram positif dari Gram negatif. Prinsip dasarnya adalah perbedaan dalam komposisi dinding sel pada kedua jenis bakteri tersebut. Zat pewarna yang biasa digunakan dalam pewarnaan Gram yaitu Gentian violet, Safranin atau Carbol fuchsin (Assyahida et al., 2022). Pewarna primer yang umum digunakan adalah gentian violet, yang mampu memberikan warna ungu pada bakteri Gram positif. Pewarna ini adalah pewarna sintetik yang sering digunakan di laboratorium mikrobiologi karena mudah diaplikasikan (Hidayanti, Sulfiani and Taufiq, 2021). Namun, pewarna sintesis seperti gentian violet memiliki beberapa kelemahan terkait dampaknya terhadap lingkungan. Pewarna ini, ketika tidak dikelola dengan baik, dapat menghasilkan limbah cair yang tidak mudah terurai, mengandung zat beracun dan logam berat, serta menyebabkan polusi pada tanah, air, dan udara. Penggunaan gentian violet yang berlebihan dapat menyebabkan biohazard yang merugikan kesehatan manusia dan lingkungan (Triol et al., 2020).

Berdasarkan uraian di atas, para peneliti mencari pewarna alternatif lain untuk pewarnaan bakteri yang tidak berbahaya bagi makhluk hidup (Triol et al., 2020). Penggunaan bahan alam sebagai pewarna alternatif sebab ramah lingkungan, murah, mudah diperoleh dan dipelihara sehingga dapat tumbuh di daerah terpencil (Niswah, Bintari and Risandiansyah, 2022). Berdasarkan hasil penelitian Triol et al (2020) ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea*) berpotensi mewarnai bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan Gram negatif *Escherichia coli* melalui pewarnaan sederhana. Selain itu, ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea*) juga berpotensi mewarnai dan membedakan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan campuran kedua bakteri tersebut menggunakan metode pewarnaan Gram. Penelitian juga dilakukan Tirtasari dan Prasetya (2020) ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) ditambahkan asam sitrat dengan perbandingan 4:10, 6:10, 8:10, 10:10 dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alternatif dari bahan alam sebagai pewarnaan dan pengamatan preparat jaringan tumbuhan. Penelitian yang dilakukan Azka, Mandasari dan Santoso (2021) ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) ditambahkan aquadest dengan perbandingan 1:5 dapat digunakan sebagai pengganti methylen blue pada pewarnaan sel epitel mukosa mulut menggunakan metode pewarnaan diff quik tetapi membutuhkan waktu perendaman yang lebih lama. Penelitian yang dilakukan Niswah, Bintari dan Risandiansyah (2022) ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle* L) mampu memberikan warna pada pewarnaan sederhana bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* tetapi tidak dapat menggantikan *methylen blue* sebagai kontrol positif.

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu di atas, mendorong peneliti ikut berkontribusi mencari pewarna alternatif pada pewarnaan Gram bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan bunga telang (*Clitoria ternatea*) dengan variasi komposisi 1:10, 2:10, 3:10, 4:10 dan 5:10 bunga telang (*Clitoria ternatea*) terhadap *Aquadest*. Dalam penelitian ini bunga telang (*Clitoria ternatea*) dipilih karena merupakan salah satu pewarna alami yang tersedia melimpah. Penelitian bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai pewarna alternatif belum banyak dilakukan dan masih terbatas (Triol et al., 2020).

Pada penelitian ini, bunga telang dipilih sebagai bahan karena mudah ditemukan dan mengandung antosianin dalam jumlah tinggi, yang memberikan warna alami seperti biru dan ungu pada bunga. Kandungan antosianin dalam bunga telang mencapai sekitar 820 ppm, lebih tinggi daripada kandungan antosianin pada kulit buah naga dan kubis ungu (Suryadnyani, Ananto and Deccati, 2021). Senyawa ini mudah larut dalam pelarut polar dan ramah lingkungan, sehingga ideal sebagai pewarna alami (Azka, Mandasari and Santoso, 2021).

## 2. METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Escherichia coli*, bunga telang, aquadest, gentian violet, lugol, alkohol 96%, safranin, FeCl<sub>3</sub> 1,2%, AlCl<sub>3</sub> 1%, HCl, dan imersi oil.

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ose, bunsen, neraca analitik, beaker glass, gelas ukur, object glass, mikroskop, kertas saring, kertas timbang, spatula, aluminium foil, autoclave, pH indikator universal, incubator, laminar air flow, batang pengaduk, botol coklat, rak pewarnaan, pipet tetes, stopwatch, dan mikroskop.

### Prosedur

#### Pembuatan Media EMBA

Media ini dibuat dengan melarutkan 1,87 gram serbuk EMBA dalam 50 ml aquadest, lalu dipanaskan dan diaduk hingga larut. Setelah itu, media disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit, dibiarkan hingga suhu turun sekitar 45-50°C, lalu dituangkan ke dalam cawan petri hingga memadat (Misgiati et al., 2022).

#### Pembuatan Media MSA

Media MSA dibuat dengan melarutkan 5,55 gram serbuk MSA dalam 50 ml aquadest, kemudian dipanaskan dan diaduk. Media ini disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dibiarkan hingga hangat (45-50°C), dan dituangkan ke cawan petri hingga memadat (Misgiati et al., 2022).

#### Inokulasi Bakteri *Escherichia coli*

Inokulasi bakteri *Escherichia coli* menggunakan media EMBA. Koloni bakteri *Escherichia coli* diambil menggunakan ose kemudian diinokulasikan ke media EMBA dan diinkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C.

#### Inokulasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan media Mannitol Salt Agar (MSA). koloni bakteri *Staphylococcus aureus* diambil menggunakan ose kemudian diinokulasikan ke media Mannitol Salt Agar (MSA) dan diinkubasi pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### Pembuatan Larutan AlCl<sub>3</sub> 1%

Larutan AlCl<sub>3</sub> 1% dibuat dengan menimbang 0,5 gram AlCl<sub>3</sub> kemudian dilarutkan kedalam 50 ml aquadest.

#### Pembuatan Larutan FeCl<sub>3</sub> 1,2%

Larutan FeCl<sub>3</sub> 1,2% dibuat dengan menimbang 0,6 gram FeCl<sub>3</sub> kemudian dilarutkan kedalam 50 ml aquadest.

#### Pembuatan Ekstrak Kasar Berair Bunga Telang

Pembuatan ekstrak bunga telang menurut Virgianti, (2017) dengan modifikasi : Bunga telang dicuci hingga bersih, setelah itu direndam menggunakan aquadest selama 24 jam dengan perbandingan 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, dan 5:10, kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat hasil saringan dari proses sebelumnya ditambahkan 1 ml FeCl<sub>3</sub> 1,2% dan 1 ml AlCl<sub>3</sub> 1%. Selanjutnya ukur pH dari masing-masing komposisi larutan bunga telang yang telah dibuat.

### Pembuatan Ekstrak Kasar Berair Bunga Telang pH 5

Bunga telang dicuci hingga bersih. Setelah itu direndam menggunakan *aquadest* selama 24 jam dengan perbandingan 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, dan 5:10, kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat hasil saringan dari proses sebelumnya ditambahkan 1 ml  $\text{FeCl}_3$  1,2% dan 1 ml  $\text{AlCl}_3$  1%, kemudian ukur pH dari masing-masing komposisi. Selanjutnya pH diatur menjadi pH 5, jika pH asli dibawah 5 maka ditambahkan NaOH, jika pH asli diatas 5 maka ditambahkan HCl.

### Pembuatan Preparat Bakteri

*Object glass* dibersihkan dan diberi label berisi nama bakteri dan perlakuan pewarnaan yang digunakan. Pijarkan jarum ose kemudian tunggu hingga dingin, lalu bakteri diambil dari koloni biakan murni dan diratakan diatas preparat. Preparat dibiarkan hingga mengering setelah itu difiksasi diatas api (Hidayanti, Sulfiani and Taufiq, 2021).

### Pewarnaan Gram (Kontrol)

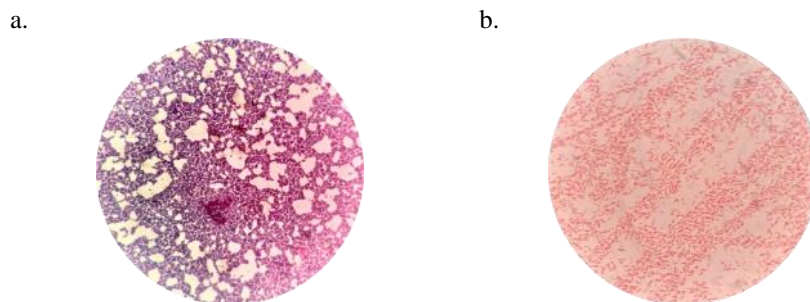
Menurut Hidayanti, et al., (2021) proses pewarnaan kontrol dilakukan dengan gentian violet selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air, lalu direndam dalam larutan lugol selama 1 menit, dibilas lagi, diberi alkohol selama 30 detik, dibilas, dan akhirnya diberi safranin selama 1 menit sebelum dibilas kembali. Hasil pengamatan dilakukan dengan mikroskop perbesaran 100x.

### Pewarnaan Gram (Eksperimen)

Preparat digenangi dengan larutan bunga telang dengan variasi komposisi 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, dan 5:10 dan variasi pH asli dan pH 5 selama 1 menit, lalu bilas dengan air mengalir, selanjutnya diwarnai dengan lugol, alkohol, dan safranin seperti langkah pada kontrol. Hasil pengamatan dilakukan dengan mikroskop perbesaran 100x.

## 3. HASIL

Penelitian terhadap pemanfaatan bunga telang (*Clitoria ternatea*L.) pada pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sebagai pengganti gentian violet dilakukan penilaian dengan kriteria penilaian yaitu baik, kurang baik, dan tidak baik hasil pewarnaan oleh 3 panelis sebagai responden yang telah memenuhi persyaratan dapat membaca hasil pada mikroskop. Hasil akhir penilaian akan di coding dengan kriteria penilaian yaitu 1 : hasil pewarnaan tidak baik apabila bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna merah dan bakteri *Escherichia coli* tidak berwarna. 2 : hasil pewarnaan kurang baik apabila bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna merah keunguan dan bakteri *Escherichia coli* berwarna merah pucat. 3 : hasil pewarnaan baik apabila bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna ungu dan bakteri *Escherichia coli* berwarna merah. Hasil pengamatan pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* disajikan dalam tabel berikut ini :



Gambar 4.1 (a) Hasil Pewarnaan Gram Kontrol Positif Bakteri *Staphylococcus aureus* (b) Hasil Pewarnaan Gram Kontrol Positif Bakteri *Escherichia coli*

Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Kontrol Positif  
Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Bakteri	Panelis 1			Panelis 2			Panelis 3			Kriteria (%)		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Baik	Kurang Baik	Tidak Baik
<i>S. aureus</i>	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%
<i>E. coli</i>	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%

Keterangan tabel :

P1 : Pengulangan pertama

P2 : Pengulangan kedua

P3 : Pengulangan ketiga

Kriteria Penilaian *S. aureus* :

1 : Merah

2 : Ungu kemerahan

3 : Ungu

Kriteria Penilaian *E. coli* :

1 : Tidak berwarna

2 : Merah pucat

3 : Merah

Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Bakteri *Staphylococcus aureus*  
Menggunakan Bunga Telang pH 7 Sebagai Pengganti Gentian violet

K	Panelis 1			Panelis 2			Panelis 3			Kriteria (%)		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Baik	Kurang Baik	Tidak Baik
1:10	1	1	2	1	1	2	1	1	1	0%	22%	78%
2:10	2	1	1	3	2	1	2	2	1	11%	44%	44%
3:10	1	2	3	2	2	3	2	2	2	22%	67%	11%
4:10	1	2	3	3	3	3	2	2	2	44%	44%	11%
5:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%

Keterangan tabel :

K : Konsentrasi

P1 : Pengulangan pertama

P2 : Pengulangan kedua

P3 : Pengulangan ketiga

Kriteria Penilaian :

1 : Merah

2 : Ungu Kemerahan

3 : Ungu

Tabel 4.3 Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Bakteri *Staphylococcus aureus*  
Menggunakan Bunga Telang pH 5 Sebagai Pengganti Gentian Violet

K	Panelis 1			Panelis 2			Panelis 3			Kriteria (%)		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Baik	Kurang Baik	Tidak Baik
1:10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0%	0%	100%
2:10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0%	0%	100%
3:10	2	2	2	2	2	2	1	1	1	0%	67%	33%
4:10	1	1	2	1	1	2	1	1	1	0%	22%	78%
5:10	1	1	1	2	2	1	2	2	2	0%	56%	44%

Keterangan tabel :

K : Konsentrasi

P1 : Pengulangan pertama

P2 : Pengulangan kedua

P3 : Pengulangan ketiga

Kriteria Penilaian :

1 : Merah

2 : Ungu Kemerahan

3 : Ungu

Tabel 4.4 Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Bunga Telang pH 7 Sebagai Pengganti Gentian Violet

K	Panelis 1			Panelis 2			Panelis 3			Kriteria (%)		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Baik	Kurang Baik	Tidak Baik
1:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%
2:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%
3:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%
4:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%
5:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%

Keterangan tabel :

K : Konsentrasi

P1 : Pengulangan pertama

P2 : Pengulangan kedua

P3 : Pengulangan ketiga

Kriteria Penilaian :

1 : Tidak berwarna

2 : Merah pucat

3 : Merah

Tabel 4.5 Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Bunga Telang pH 5 Sebagai Pengganti Gentian Violet

K	Panelis 1			Panelis 2			Panelis 3			Kriteria %		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Baik	Kurang Baik	Tidak Baik
1:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%
2:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%
3:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%
4:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%
5:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	100%	0%	0%

Keterangan tabel :

K : Konsentrasi

P1 : Pengulangan pertama

P2 : Pengulangan kedua

P3 : Pengulangan ketiga

Kriteria Penilaian :

1 : Tidak berwarna

2 : Merah pucat

3 : Merah

Hasil penelitian selanjutnya dianalisa menggunakan SPSS versi 25, analisis dilakukan secara univariat dan bivariat. Selanjutnya dilakukan uji normalitas untuk mengetahui apakah data hasil penelitian berdistribusi normal atau tidak. Jika data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji ANOVA, jika data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*.

#### 4. PEMBAHASAN

Pewarnaan Gram digunakan untuk membedakan bakteri menjadi dua jenis, yaitu Gram positif dan Gram negatif, berdasarkan perbedaan struktur dinding sel. Pewarna primer seperti gentian violet umumnya digunakan untuk pewarnaan ini. Penelitian ini menguji potensi ekstrak bunga telang sebagai pewarna alternatif yang ramah lingkungan untuk pewarnaan Gram (Virgianti and Luciana, 2017).

Pada penelitian ini bunga telang direndam selama 1x24 jam menggunakan *aquadest* sebagai pelarut yang bertujuan untuk menarik zat warna yang terkandung di dalam sediaan bahan alam agar lebih optimal digunakan. Penelitian Saputri, Pratiwi and Kunarto, (2021) menyatakan bahwa waktu perendaman selama 0 jam memiliki kadar antosianin terendah yaitu sedangkan perendaman selama 24 jam memiliki kadar antosianin yang tinggi. Penambahan larutan AICl<sub>3</sub> 1% dan larutan FeCl<sub>3</sub> 1,2% yang digunakan digunakan sebagai mordant untuk mempertahankan warna dan menghindari pemudaran pada hasil pewarnaan (Azka, Mandasari and Santoso, 2021). Pewarna bunga telang dengan pH asli memiliki nilai pH 7 setelah dilakukan pengecekan menggunakan

pH universal. Pembuatan pewarna bunga telang dengan pH 5 disesuaikan menurut pH gentian violet yaitu 5,43 (Triol et al., 2020).

Dalam penelitian ini, pewarnaan kontrol menggunakan gentian violet, sedangkan pewarnaan eksperimen menggunakan ekstrak bunga telang dengan variasi pH dan konsentrasi. Preparat bakteri yang telah diwarnai diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 100x untuk melihat perbedaan hasil.

Bakteri *Escherichia coli* diisolasi menggunakan media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan tumbuh dengan ciri koloni hijau metalik (Langgar, Sanam and Detha, 2021). Sementara itu, *Staphylococcus aureus* diisolasi pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan membentuk koloni kuning keputihan (Alam, dkk, 2018). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa bakteri Gram positif (*S. aureus*) memiliki warna ungu karena menyerap pewarna primer, sedangkan *E. coli* berwarna merah karena menyerap pewarna sekunder safranin (Khariri and Sariadji, 2018).

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan di peroleh hasil pewarnaan yang berbeda dari setiap perlakuan konsentrasi. Dilihat dari parameter kejelasan lapang pandang dan kesempurnaan bentuk bakteri terlihat sama pada semua perlakuan konsentrasi, yaitu lapang pandang terlihat jelas dan mempunyai bentuk bakteri yang sempurna. Bakteri *Staphylococcus aureus* terlihat jelas berbentuk coccus dan bakteri *Escherichia coli* terlihat jelas berbentuk basil. Sedangkan untuk parameter kekontrasan warna yang dihasilkan terlihat bakteri *Escherichia coli* berwarna merah dan bakteri *Staphylococcus aureus* terlihat bervariasi, yaitu berwarna merah, merah keunguan, dan ungu.

Penelitian terhadap pemanfaatan bunga telang (*Clitoria ternatea*L.) pada pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sebagai pengganti gentian violet di dapatkan hasil persentase dari kontrol positif 100% baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan 100% baik terhadap bakteri *Escherichia coli*. Pewarnaan Gram bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan bunga telang diperoleh hasil presentase 100% baik pada bunga telang pH asli dengan konsentrasi 5:10. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak antosianin yang di dapat dan pada pH 6-8 akan menyebabkan warna antosianin menjadi biru sedangkan pada pH 5 atau pH asam akan menyebabkan warna antosianin menjadi merah (Sumartini, Ikrawan and Muntaha, 2020).

Hasil persentase pewarnaan Gram bakteri *Escherichia coli* 100% baik menggunakan bunga telang sebagai pengganti gentian violet pada semua komposisi. Hal ini disebabkan oleh bakteri Gram positif dan Gram negatif memiliki ketebalan lapisan peptidoglikan yang berbeda. Dinding sel bakteri Gram positif memiliki ketebalan peptidoglikan sekitar 10-20 lapisan sedangkan bakteri Gram negatif memiliki 1-3 lapisan. Sehingga lapisan peptidoglikan bakteri Gram negatif tidak dapat menjaga stabilitas mekanik sel (Niswah, Bintari and Risandiansyah, 2022). Terjadi mekanisme yang berbeda pada bakteri Gram positif dan Gram negatif ketika ditambahkan larutan peluntur, pada bakteri Gram positif pewarna primer akan dipertahankan tetapi pada bakteri Gram negatif pewarna primer akan hilang (Virgianti and Luciana, 2017).

Hasil analisis yang sudah dilakukan menggunakan uji *Kruskal Wallis*, ada perbedaan signifikan antara penggunaan gentian violet dan ekstrak bunga telang pH asli dengan variasi konsentrasi 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, 5:10, dan bunga telang pH 5 dengan variasi konsentrasi 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, 5:10 dalam pewarnaan Gram.

## 5. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini, ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terbukti dapat digunakan sebagai alternatif pewarna gentian violet dalam pewarnaan Gram untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pewarnaan Gram menggunakan ekstrak bunga telang pada pH asli dengan konsentrasi 5:10 menunjukkan hasil yang baik, khususnya dalam pewarnaan *S. aureus* yang tampak ungu dan *E. coli* yang berwarna merah. Ekstrak bunga telang pada pH 7 dan konsentrasi 5:10 cukup efektif dalam membedakan kedua jenis bakteri, menegaskan potensinya sebagai pengganti pewarna sintetik dalam aplikasi laboratorium mikrobiologi.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Agrippina, F.D. (2019) 'Identifikasi Coliform dan *Escherichia coli* Pada Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) di Bandar Lampung', *Majalah Teknologi Agro Industri*, 11(2), pp. 54–57.
- [2] Alam, S., Basarang, M. and Nasir, M. (2018) 'Identifikasi *Staphylococcus aureus* Pada Pangsit Goreng yang dijual di Daerah Sudiang Kota Makassar', *Jurnal Medika : Media Ilmiah Analisis Kesehatan*, 3(1), pp. 28–34.
- [3] Angelo, F. et al. (2022) 'Pemanfaatan Larutan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Sebagai Counterstain Pada Pengecatan Gram *Escherichia coli* ATCC 25922', *Avicenna : Journal of Health Research*, 5(2), pp. 9–17.
- [4] Angriani, L. (2019) 'The Potential of Extract Butterfly Pea Flower (*Clitoria ternatea*L.) as a Local Natural Dye for Various Food Industry', *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*, 2(1), pp. 32–37.
- [5] Assyahida, S. et al. (2022) "Combination Potential Soaking Teak Leaves (*Tectona Grandis*) With HCl on Staining Gram In *Escherichia coli* Bacteria", *The 5 th International conference on Health Polytechnics of Surabaya, 2 nd International Conference of Medical Laboratory Technology*, 2(1), pp. 51–60.
- [6] Azka, E.N., Mandasari, A.A. and Santoso, S.D. (2021) 'Comparison of Natural Dyes from Telang Flower Extracts (*Clitoria ternatea*L.) as a Substitute for Methylen Blue in Diff Quik Painting', *Procedia of Engineering and Life Science*, 1(2).
- [7] Cikita, R.C., Petrika, Y. and Waliyo, E. (2021) 'Pengaruh Tepung Pisang Kepok (*Msa Paradisiaca*) yang ditambahkan Pada Makanan Anak Stunting Terhadap Penurunan Bakteri *E. coli*', *Pontianak Nutrition Journal*, 4(2), pp. 100–104.
- [8] Fransisca, D., Kahanjak, D.N. and Frethernety, A. (2020) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* jack) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer', *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan*, 4(1), pp. 460–470.
- [9] Handito, D. et al. (2022) 'Analisis Komposisi Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Antioksidan Alami Pada Produk Pangan', *Prosiding SAINTEK*, 4(November 2021), pp. 64–70.
- [10] Harindana, P.Y.A. et al. (2021) 'Kesesuaian Pewarnaan Gram dengan Kultur Darah sebagai Prediktor Nilai Kritis Kasus Bakteremia di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar', *Intisari Sains Medis*, 12(2), pp. 494–499.
- [11] Hayati, L.N. et al. (2019) 'Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* Pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi', *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), pp. 76–82.
- [12] Hidayah, H. et al. (2022) 'Analisis Cemaran Bakteri Coliform dan Identifikasi *Escherichia coli* Pada Es Batu Balok di Kota Karawang', *Pharma Xplore – Jurnal Sains Dan Ilmu Farmasi*, 7(1), pp. 54–68.
- [13] Hidayanti, A.S.N., Sulfiani, S. and Taufiq, N. (2021) 'Utilization Pemanfaatan Ekstrak Kulit Ubi Jalar Ungu Sebagai Pengganti Crystal Violet pada Pewarnaan Gram', *Jurnal Sehat Mandiri*, 16(2), pp. 46–56.
- [14] Hutasoit, D.P. (2020) 'Pengaruh Sanitasi Makanan dan Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli* Terhadap Penyakit Diare', *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 9(2), pp. 779–786.
- [15] Jiwintarum, Y., Rohmi and Prayuda, I.D.P.M. (2016) 'Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Pewarna Alami Untuk Pewarnaan Bakteri', *Jurnal Kesehatan Prima*, 10(2), pp. 1726–1734.
- [16] Kristiani, N.K. (2022) 'Quality Jam Made from Salak Pondoh With Butterfly Pea Extract (*Clitoria ternatea*)', *Jurnal Mahasiswa Pariwisata dan Bisnis*, 1(9), pp. 2344–2356.
- [17] Kusuma, A.D. (2019) 'Potensi Teh Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Obat Pengencer Dahak Herbal Melalui Uji Mukositas', *Risenologi : Jurnal Sains, Teknologii, Sosial, Pendidikan, dan Bahasa*, 4(2), pp. 65–73.
- [18] Langgar, S.M.C., Sanam, M.U.E. and Detha, A.I.R. (2021) 'Prevalensi *Escherichia coli* Pada Daging Sapi di Rumah Potong Hewan Oeba Kota Kupang', *Jurnal Veteriner Nusantara*, 4(1), pp. 1–10.
- [19] Marbun, R.W.S., Mardani, F.N. and Aini, U.F. (2020) 'Pemanfaatan Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* poiret) Sebagai Zat Pewarna Pada Pewarnaan Gram Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*', *Klinikal Sains : Jurnal Analisis Kesehatan*, 8(2), pp. 82–89.
- [20] Misgiati et al. (2022) 'Potential Extract of n-Hexane, Dichloromethane, Ethylacetate of The Dewa Mushroom (*Agaricus blazei* Muril) on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*', *Journal of Herbal, Clinical and Pharmaceutical Sciences*, 3(2), pp. 82–89.
- [21] Nasution, S.W. (2022) Uji Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus Rubellus* dan *Pheretima* Sp Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Cetakan Pe. Edited by A.N. Nasution and S.L.R. Nasution. Universitas Prima Indonesia.



- [22] Ngete, A.F. and Rara, I.M.F. (2020) 'Penggunaan Pewarna Alami Sebagai Upaya Meningkatkan Kualitas Kesehatan', *Jurnal Kesehatan Tujuh Belas*, 1(2), pp. 130–135.
- [23] Niswah, A.A., Bintari, Y.R. and Risandiansyah, R. (2022) 'Piper betle L. Sebagai Pewarna Bakteri: Uji Akurasi dan Presisi Warna Pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*', *Jurnal Kedokteran*, 10(2), pp. 1–11.
- [24] Purba, E.C. (2020) 'Kembang telang (*Clitoria ternatea*L.) : Pemanfaatan dan Bioaktivitas', *EduMatSains*, 4(2), pp. 111–124.
- [25] Putri, N., Frannita, E.L. and Hidayatullah, M.C. (2022) 'Isolation and Identification of *Staphylococcus aureus* from Wounds of Dairy Cattle In Vitro.', *Berkala Penelitian Teknologi Kulit, Sepatu, Dan Produk Kulit Politeknik Atk Yogyakarta*, 21(2022), pp. 229–236.
- [26] Risky, Y.T., Agrijanti and Inayati, N. (2019) 'Uji Screening Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Menggunakan Antibiotik Cefoxitin (fox) 30 µg Pada Pasien Penderita Abses Gigi di Klinik BPJS Mataram', *Jurnal Analis Medika Bio Sains*, 6(2), pp. 98–104.
- [27] Saputri, E.Y., Pratiwi, E. and Kunarto, B. (2021) 'Pengaruh Waktu Perendaman Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Pada Manisan Kolang - Kaling Terhadap Aktivitas Antioksidan, Antosianin, Intensitas Warna Dan Organoleptik', pp. 1–9.
- [28] Suebkhampt, A. and Sothibandhu, P. (2012) 'Effect of Using Aqueous Crude Extract from Butterfly Pea Flowers (*Clitoria ternatea*L.) as a Sye on Animal Blood Smear Staining', *Suranare J.Sci. Technol*, 19(1), pp. 15–19.
- [29] Sumartini, Ikrawan, Y. and Muntaha, F.M. (2020) 'Analisis Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dengan Variasi pH Metode Liquid Chromatograph-Tandem Mass Spectrometry (Lc-Ms/Ms)', *Pasundan Food Technology Journal*, 7(2), pp. 70–77.
- [30] Suparno, A.C., Kasasiah, A. and Ratnasari, D. (2022) 'Isolation of *Escherichia coli* in Raw water Source and Resistance Assay for Ampicilin and Ceftriaxone', *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 5(2), pp. 265–273.
- [31] Suryadnyani, N.M.D., Ananto, A.D. and Deccati, R.F. (2021) 'Pembuatan Paper Kit Test Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea*L.) Untuk Identifikasi Formalin Pada Makanan', *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(2), p. 118-124.
- [32] Syamsi, N. (2019) 'Imunoprofilaksis dan Imunoterapi Bakteri *Staphylococcus aureus*', *Healthy Tadulako Journal*, 5(3), pp. 13–17.
- [33] Tirtasari, N.L. and Prasetya, T. (2020) 'Pengaruh Rasio Berat Bunga Telang (*Clitoria ternatea*L.) dan Volume Pelarut Asam Sitrat terhadap Pewarnaan Preparat Jaringan Tumbuhan', *Indonesian Journal of Chemical Science*, 9(3), pp. 201–204.
- [34] Triol, C.B. et al. (2020) 'The use of *Clitoria ternatea*(Blue Ternate) Ethanolic Extract as a Potential Stain for Bacteria', *Department of Science and Technologi, Philippines*, 3(1), pp. 42–47.
- [35] Trisno, K., PG, T.K. and Suarjana, I.G.K. (2019) 'Isolasi dan Indentifikasi Bakteri *Escherichia coli* dari Udara pada Rumah Potong Unggas Swasta di Kota Denpasar', *Indonesia Medicus Veterinus*, 8(5), pp. 685–694. Available at: <https://doi.org/10.19087/imv.2019.8.5.685>.
- [36] Usmadi (2020) 'Pengujian Persyaratan Analisis (Uji Homogenitas dan Uji Normalitas)', *Inovasi Pendidikan*, 7(1), pp. 50–62.
- [37] Virgianti, D.P. and Luciana, C. (2017) 'Penggunaan Ekstrak Kombinasi Angkak dan Daun Jati Sebagai Pewarna Penutup Pada Pewarnaan Gram', *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17(1), pp. 66–72.
- [38] Widianingsih, M. and Setyorini, D.C. (2019) 'Identifikasi *Staphylococcus aureus* Pada Abon Sapi di Pasar Pahing Kota Kediri', *Journal Bioeksperimen*, 5(2), pp. 99–105.
- [39] Zahara, M. (2022) 'Brief Review: Description of *Clitoria ternatea*L. and Its Benefits', *Jurnal pendidikan Sains dan Biologi*, 9(2), pp. 719–728.
- [40] Zussiva, A., Bertha, K.L. and Budiyati, C.S. (2012) 'Ekstraksi dan Analisis Zat Warna Biru (Anthosianin) dari Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Pewarna Alami', *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 1(1), pp. 356–365.