

## **OPTIMASI KONSENTRASI DAN WAKTU KONTAK EKSTRAK DAUN JATI (*Tectona grandis*) SEBAGAI ALTERNATIF SAFRANIN PADA PEWARNAAN GRAM**

*Optimization Of Concentration And Contact Time Of Teak Leaf Extract (*Tectona Grandis*) As An Alternative To Safranin In Gram Stain*

**Andita Izmi Syafitri<sup>1\*</sup>, Hafizah Ilmi Sufa<sup>2</sup>, Iis Kurniati<sup>3</sup>, Fusvita Merdekawati<sup>4</sup>**

<sup>1\*</sup> Program Studi Sarjana Terapan, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Email: [anditaizmi12@gmail.com](mailto:anditaizmi12@gmail.com)

<sup>2</sup> Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes kemenkes Bandung, Email: [hafizahilmisufa@gmail.com](mailto:hafizahilmisufa@gmail.com)

<sup>3</sup> Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes kemenkes Bandung, Email: [kurniati20260@gmail.com](mailto:kurniati20260@gmail.com)

<sup>4</sup> Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes kemenkes Bandung, Email: [fusvitamerdekawati@gmail.com](mailto:fusvitamerdekawati@gmail.com)

### **ABSTRACT**

*Safranin is a cationic dye and is one of the harmful substance, in addition to its relatively expensive price, safranin waste also has several harmful effects on health, so the various studies on the use of natural dyes as an alternative of safranin have been widely carried out. Teak leaves are one of the plants that have the potential to used as an alternative of safranin because they contain anthocyanin compounds. This study aims to determine the concentration and optimal contact time of teak leaf extract that can be used as an alternative of safranin. The research method used is a quasi-experiment by providing treatment with 25%, 50%, and 100% concentration variations also contact time variations of 0.5, 1, and 1.5 minutes. The results showed that teak leaf (*Tectona grandis*) extract could be used as an alternative of safranin in Gram staining of *E. coli* and *S. aureus*. The conclusion of this study is that the optimum concentration of teak leaf extract is 50%, and the optimum contact time of teak leaf extract in Gram staining is 0.5 minutes.*

**Key words:** *Teak leaf extract, Anthocyanins, Gram staining, Escherichia coli, Staphylococcus aureus*

### **ABSTRAK**

Safranin merupakan pewarna kationik dan merupakan salah satu zat berbahaya. Selain harganya yang relatif mahal, limbah safranin juga memiliki beberapa efek berbahaya bagi kesehatan. Berdasarkan permasalahan tersebut, berbagai penelitian tentang pemanfaatan zat pewarna alami sebagai alternatif safranin telah banyak dilakukan. Daun jati adalah salah satu tanaman yang berpotensi untuk dijadikan alternatif dari zat warna safranin karena mengandung senyawa antosianin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi dan waktu kontak optimum ekstrak daun jati yang dapat digunakan sebagai alternatif safranin. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen semu dengan memberikan perlakuan variasi konsentrasi 25%, 50%, dan 100% serta variasi waktu kontak 0,5, 1, dan 1,5 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun jati (*Tectona grandis*) dapat dijadikan bahan alternatif safranin dalam pewarnaan Gram *E. coli* dan *S. aureus*. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu konsentrasi optimum dari ekstrak daun jati adalah

50%, dan waktu kontak optimum ekstrak daun jati dalam pewarnaan Gram adalah 0,5 menit.

**Kata kunci:** Ekstrak daun jati, Antosianin, Pewarna Gram, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

## PENDAHULUAN

Bakteri merupakan mikroorganisme yang erat kaitannya dengan kehidupan manusia dan sering terdapat di lingkungan. Bakteri umumnya transparan sehingga diperlukan pewarnaan yang baik untuk mengamati morfologinya di bawah mikroskop. <sup>1</sup> Salah satu metode yang digunakan adalah pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram ini membantu dalam mengklasifikasikan bakteri dan proses identifikasi. Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan isolasi pada cawan agar, pewarnaan Gram, uji biokimia, dan uji serologi.

Pewarnaan Gram dapat mengklasifikasikan bakteri kedalam dua kelompok besar yaitu Gram positif dan Gram negatif berdasarkan struktur kimia dan fisik dari dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mempunyai dinding sel yang lebih tebal dan sederhana, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki dinding sel berlapis tiga dengan kandungan petidoglikan yang lebih tipis dan sedikit. <sup>2</sup>

Proses pewarnaan Gram melibatkan beberapa langkah: pewarnaan primer dengan kristal violet, pengintensifan warna dengan lugol, penghilangan kelebihan warna dengan alkohol, dan pewarnaan sekunder dengan safranin. Safranin merupakan bahan pewarna kationik pada pewarnaan Gram yang memiliki efek samping berbahaya dan dapat mencemari lingkungan. <sup>3</sup> Oleh karena itu, banyak penelitian yang mencari alternatif pewarna alami sebagai pengganti safranin.

Selain harganya yang relatif mahal, limbah safranin juga memiliki beberapa

efek berbahaya bagi kesehatan sehingga berbagai penelitian tentang pemanfaatan zat pewarna alami sebagai alternatif pengganti safranin telah banyak dilakukan, seperti penelitian yang dilakukan oleh Rahayuningtyas dkk pada tahun 2017 yang menggunakan buah merah, <sup>4</sup> penelitian Adisa dkk pada tahun 2017 menggunakan daun pacar kuku, <sup>5</sup> penelitian Camara pada tahun 2020 menggunakan cabai merah, <sup>6</sup> dan penelitian Kamel dkk pada tahun 2016 yang menggunakan bunga rosella. <sup>7</sup> Berbagai penelitian tersebut dilakukan sebagai upaya untuk pengurangan limbah safranin yang dapat mencemari lingkungan.

Pewarna alami dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan yang mengandung senyawa antosianin, senyawa yang menghasilkan warna merah hingga ungu. Antosianin adalah suatu pigmen yang dapat memberikan warna merah sampai biru, antosianin ini tergolong dalam turunan senyawa organik dari golongan *flavonoid*. Antosianin banyak ditemukan pada beberapa bagian tumbuhan seperti daun, buah, kelopak hingga umbi. <sup>8</sup> Penggunaan pewarna alami ini banyak digunakan pada industri makanan, tekstil, dan dapat pula digunakan untuk pewarnaan bakteri. Sumber pewarna alami yang mungkin digunakan adalah daun jati yang mengandung pigmen antosianin dan menghasilkan pigmen yang berwarna merah. <sup>9</sup> Senyawa antosianin yang terkandung dalam daun jati dapat menghasilkan warna merah, ungu, hingga merah gelap. <sup>10</sup>

Pigmen antosianin terdiri atas beberapa unit kimia yaitu basa aglikon atau cincin flavylum (antosianidin),

gula, dan kelompok asilasi.<sup>11</sup> Antosianin merupakan senyawa yang termasuk dalam golongan *flavonoid* dan dikenal sebagai indikator pH. Senyawa ini berubah warna tergantung pada keasaman atau kebasaaan lingkungan. Pada pH rendah, antosianin berwarna merah, tetapi pada pH tinggi berubah menjadi biru atau kuning. Semakin rendah pH maka warna dari antosianin ini akan semakin stabil.<sup>12</sup> Stabilitas warna ini membuat antosianin cocok sebagai pewarna alami untuk berbagai aplikasi, termasuk pewarna mikroba.

Penelitian yang dilakukan oleh Kristinawati menunjukkan bahwa ekstrak daun jati (*Tectona grandis*) efektif sebagai alternatif safranin dalam pewarnaan Gram. Konsentrasi ekstrak daun jati yang berbeda dari 1% hingga 5% diuji pada *E. coli*. Hasil penelitian menunjukkan perkembangan warna optimal diperoleh pada konsentrasi 4% sampai 5%.<sup>9</sup> Penelitian ini membuka peluang pengembangan pewarna alami yang lebih ramah lingkungan dan ekonomis dalam dunia mikrobiologi.

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh beberapa rumusan masalah yang menjadi fokus penelitian. Pertama, apakah daun jati yang dibuat ekstrak dapat digunakan sebagai alternatif safranin pada pewarnaan Gram *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun jati optimal yang efektif untuk pewarnaan Gram pada konsentrasi berbeda yaitu 25%, 50%, dan 100%. Rumusan masalah akhir mengenai lama waktu kontak optimal (variasi 0,5 menit, 1 menit, 1,5 menit) yang diperlukan ekstrak daun jati untuk mengoptimalkan pewarnaan *E. coli* dan *S. aureus*.

Tujuan dari penelitian ini adalah menjawab pertanyaan yang dirumuskan sebelumnya. Para peneliti ingin mengetahui apakah ekstrak daun jati akan efektif sebagai alternatif safranin

dalam pewarnaan Gram bakteri tipe *E. coli* dan *S. aureus*. Selain itu, penelitian ini menentukan konsentrasi ekstrak daun jati yang optimal dan menentukan waktu kontak yang optimal untuk mencapai hasil pewarnaan yang maksimal pada dua jenis bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi baru tentang pemanfaatan ekstrak daun jati sebagai pewarna alami dalam bidang mikrobiologi khususnya pada pewarnaan Gram. Lebih lanjut, penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan bagi penelitian yang akan datang mengenai penggunaan pewarna alami di bidang kesehatan dan mikrobiologi, sehingga memberikan alternatif yang lebih ramah lingkungan dibandingkan penggunaan pewarna kimia seperti safranin.

## METODE

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian quasi eksperimen dengan desain *static group comparison*. Perancangan ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas ekstrak daun jati sebagai pengganti safranin pada pewarnaan Gram. Konsentrasi ekstrak daun jati yang digunakan divariasikan 25%, 50%, dan 100%, serta waktu kontak divariasikan 0,5, 1, dan 1,5 menit. Hasil pewarnaan dibandingkan dengan safranin sebagai kontrol untuk memeriksa kualitas pewarnaan *E. coli* dan *S. aureus*.

Populasi penelitian ini terdiri dari daun jati asal Kabupaten Bandung, dan sampel yang digunakan adalah ekstrak daun jati. Penelitian ini meliputi sembilan kombinasi perlakuan dengan konsentrasi dan waktu kontak berbeda, dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sehingga terdapat 54-unit percobaan dan enam kontrol. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar dan Laboratorium Mikrobiologi

Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung pada bulan Mei 2024.

Data primer diperoleh melalui pengamatan mikroskopis sediaan Gram *E. coli* dan *S. aureus*. Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi berbagai peralatan standar laboratorium seperti neraca analitik, alat gelas, autoklaf, mikroskop, daun jati segar, isolat bakteri, dan media kultur bakteri.

Prosedur penelitian meliputi sterilisasi alat dan bahan, penyiapan sampel daun jati, pengujian kadar air, ekstraksi daun jati, uji penegasan bakteri, pembuatan preparat bakteri, dan pewarnaan Gram. Pewarnaan dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi dan waktu kontak ekstrak daun jati. Hasil dari pewarnaan kemudian dibandingkan dengan kontrol safranin untuk menilai kualitas warna, bentuk bakteri, dan kekontrasan dengan latar belakang preparat.

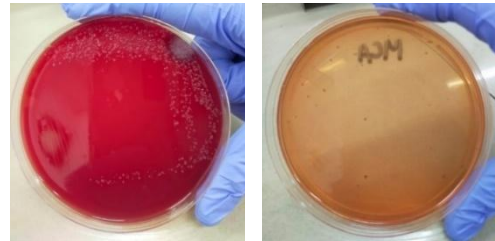
Data penelitian dianalisis untuk mengetahui konsentrasi dan waktu kontak optimal ekstrak daun jati pada pewarnaan Gram yang hasilnya paling mendekati kontrol safranin. Hasil pewarnaan dievaluasi oleh tiga panelis yang mengevaluasi kualitas warna, bentuk bakteri, dan kontras terhadap latar belakang. Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) pada 14 Mei 2024.

## HASIL

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun jati sebagai zat warna alternatif safranin dalam pewarnaan Gram *E. coli* dan *S. aureus*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan divariasikan menjadi 25%, 50%, dan 100%, serta waktu kontak 0,5, 1, dan 1,5 menit. Sediaan bakteri kemudian diamati untuk menilai kualitas pewarnaan.

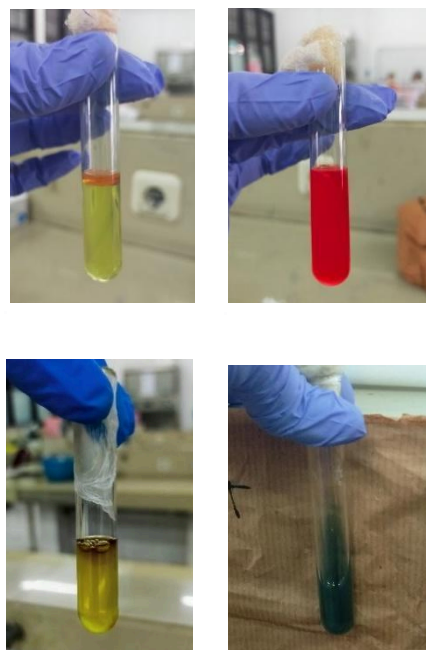
Pada uji kadar air, simplisia daun jati kering diuji secara gravimetri. Hasilnya menunjukkan kadar air sebesar 8,8%. Karena kadar airnya yang rendah, simplisia dapat disimpan dalam waktu lama dan terlindung dari kontaminasi mikroorganisme sehingga cocok untuk dibuat ekstrak.

Uji konfirmasi *E. coli* dilakukan dalam beberapa langkah, dimulai dengan pembiakan bakteri pada agar darah dan agar MacConkey, dilanjutkan dengan pengujian biokimia IMViC. Setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diamati koloni bakteri yang tumbuh pada media.



**Gambar 1** *E. coli* pada media AD dan MCA

Pada media AD, didapatkan koloni berbentuk bulat kecil berdiameter 0,1 – 0,5 mm, permukaan cembung, dan berwarna keabuan. Pada media MCA, koloni berbentuk bulat sedang, keping cembung, dan berwarna merah.





dan variasi lama kontak. Konsentrasi dari ekstrak daun jati yang digunakan sebagai alternatif safranin dibuat menjadi 25%, 50%, dan 100% serta

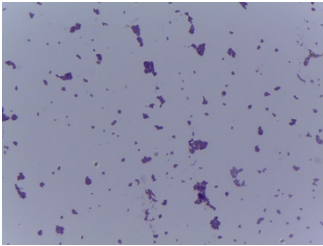

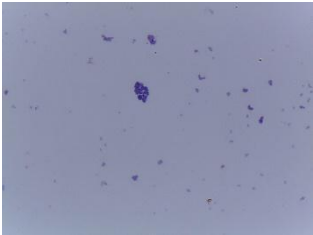


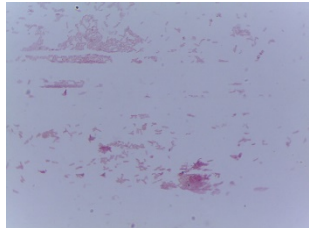
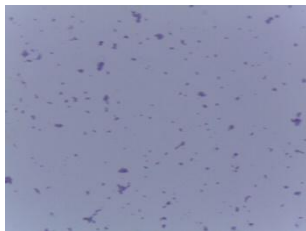
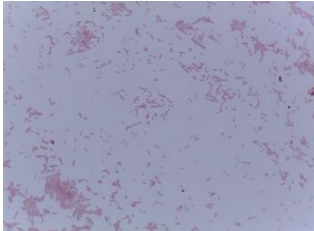
variasi waktu kontak 0,5, 1, dan 1,5 menit. Setelah dilakukan pewarnaan, didapatkan hasil sebagai berikut:

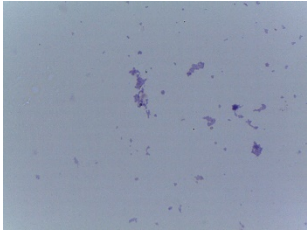

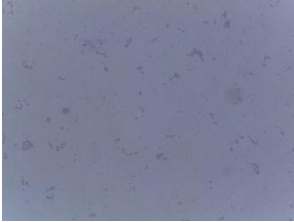

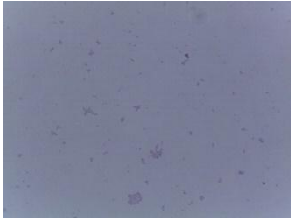
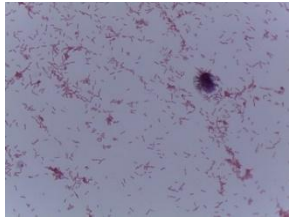
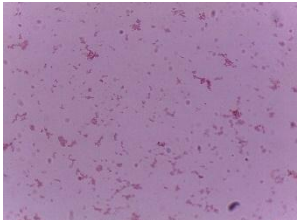
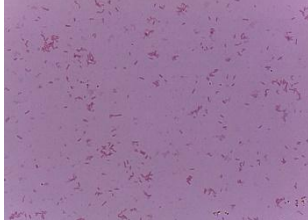
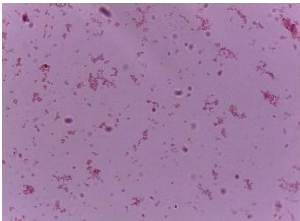
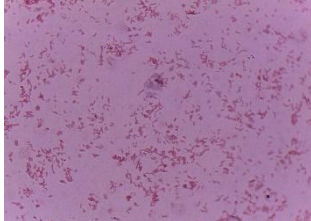
**Tabel 1. Hasil Penilaian Preparat oleh Panelis**

No	%	Waktu	Gram Positif			Gram Negatif			Rata-rata
			B	W	K	B	W	K	
1			2	2	2	2	2	2	
2	Kontrol	1 menit	2	2	2	2	2	2	2
3			2	2	2	2	2	2	
4			1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	
5	25%	0,5 menit	1,3	1,3	1,3	1,7	1,7	1,7	1,65
6			1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	
7			2	1,7	2	2	1,7	2	
8	25%	1 menit	2	2	2	1,7	1,7	2	1,78
9			2	1,7	2	1,7	1	1	
10			2	1	1,7	2	1,3	1,7	
11	25%	1,5 menit	1,7	1,3	1,7	2	1	1,3	1,66
12			2	1,7	2	2	1	1,3	
13			1,7	1,3	1,7	2	1,7	2	
14	50%	0,5 menit	2	1,3	1,7	2	1,7	1,7	1,80
15			2	1,7	2	2	2	2	
16			2	1,3	1,3	2	1,7	1,7	
17	50%	1 menit	2	1,7	1,7	2	1,7	1,7	1,76
18			2	1,7	1,7	2	1,7	1,7	
19			1,7	1,3	1,7	2	2	2	
20	50%	1,5 menit	1,7	1	1,3	2	2	2	1,73
21			1,7	1,3	1,7	2	1,7	2	
22			1,3	1	1,3	1,7	1,7	1,3	
23	100%	0,5 menit	1,7	1,3	1,7	1,7	2	1,3	1,46
24			1,3	1	1,3	1,7	2	1,3	
25			1	0,7	1	1,7	2	2	
26	100%	1 menit	1,7	1,3	1,7	1,7	2	2	1,55
27			1,7	1,3	1,7	1,7	2	2	

28			2	1,3	1,7	2	2	1,3	
29	100%	1,5 menit	2	1,3	1,7	2	2	1,3	1,68
30			2	1,3	1,3	2	2	1,3	

**Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram**

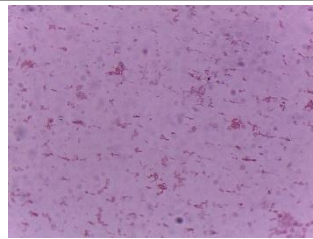
Konsentrasi	Waktu	Hasil		Rata-rata
Kontrol	1 menit	 B=2 W=2 K=2	 B=2 W=2 K=2	2
25 %	0,5 menit	 B=1,6 W=1,6 K=1,6	 B=1,7 W=1,7 K=1,7	1,65
25%	1 menit	 B=2 W=1,8 K=2	 B=1,8 W=1,4 K=1,7	1,78
25%	1,5 menit	 B=1,9 W=1,3 K=1,8	 B= 1,9 W=1,7 K=1,4	1,66

50%	0,5 menit			1,80
		B=1,9 W=1,4 K=1,8	B=2 W=1,8 K=1,9	
50%	1 menit			1,76
		B=2 W=1,6 K=1,6	B=2 W=1,7 K=1,7	
50%	1,5 menit			1,73
		B=1,7 W=1,2 K=1,6	B=2 W=1,9 K=2	
100%	0,5 menit			1,46
		B=1,4 W=1,1 K=1,4	B=1,7 W=1,9 K=1,3	
100%	1 menit			1,55
		B=1,4 W=1,1 K=1,4	B=1,7 W=2 K=1,7	

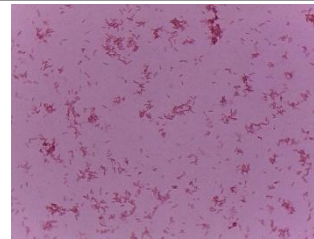


100%

1,5  
menit



B=1,9 W=1,3 K=1,6



1,68

B=2 W=2 K=1,3

Keterangan: % = Konsentrasi

B = Bentuk

W = Warna

K = Kontras

## PEMBAHASAN

Daun jati terlebih dahulu dicuci dan dikeringkan untuk mengurangi kadar airnya. Pengujian kadar air bertujuan untuk menghitung seberapa banyak kandungan air yang terdapat dalam suatu sampel sebelum dilakukannya proses ekstraksi. Tingginya kadar air dalam suatu sampel dapat menurunkan kualitas ekstrak. Syarat kadar air untuk simplisia pada umumnya yaitu tidak lebih dari 10%.<sup>14</sup>

Kadar air simplisia yang telah memenuhi syarat sudah dapat digunakan untuk ekstraksi. Simplisia yang sudah dihaluskan dilarutkan dengan Etanol 96% dengan perbandingan 1:10 lalu dimasukkan kedalam botol berwarna gelap.<sup>15</sup> Pemilihan etanol dalam proses maserasi ini karena etanol merupakan pelarut polar yang dapat mengekstraksi senyawa-senyawa polar termasuk antosianin.<sup>16</sup> Botol ditutup rapat dan didiamkan selama 2-3 hari sembari dihomogenkan 1 kali dalam sehari. Maserat kemudian disaring dan dievaporasi hingga didapat ekstrak kental.

Berdasarkan pewarnaan Gram yang telah dilakukan, preparat *E. coli* tampak masih transparan dan tidak terwarnai oleh ekstrak daun jati dengan konsentrasi 4%, 5%, dan 6%. Hal ini

kemungkinan dapat disebabkan oleh kandungan zat antosianin pada ekstrak terlalu sedikit ataupun dapat disebabkan oleh faktor lain, diantaranya pH, suhu, oksigen, kadar air, maupun jenis pelarut yang digunakan. Konsentrasi ekstrak daun jati dinaikkan menjadi 25%, 50%, dan 100% untuk menemukan formulasi konsentrasi yang hasilnya paling mendekati kontrol.

Kandungan pigmen antosianin pada daun jati stabil berwarna merah ketika berada pada rentang pH 3-4, berwarna kuning pada pH 1, dan berwarna oranye pada pH 5-7. Zat antosianin akan berubah menjadi kalkon yang tidak berwarna seiring dengan semakin tinggi pH. pH sangat mempengaruhi warna dari antosianin, antosianin ini dapat berwarna merah dalam larutan asam, berwarna ungu dalam larutan netral, dan dapat memunculkan warna biru pada pH basa. Variasi warna yang muncul ini dapat terjadi karena pada pH rendah molekul sianidin pada antosianin terprotonasi kemudian membentuk ion positif atau kation. Ketika pH meningkat menjadi lebih basa, molekul pada antosianin kemudian terdeprotonasi menjadi ion negatif atau anion. Hal tersebut menyebabkan beberapa pewarna yang mengandung antosianin hanya dapat digunakan pada pH rendah. Jenis pelarut yang digunakan

dalam ekstraksi juga mempengaruhi warna yang dihasilkannya. Antosianin bersifat hidrofilik atau larut dalam air yang menyebabkannya lebih banyak diekstrak menggunakan pelarut yang berbasis alkohol ataupun pelarut air. Antosianin yang dihasilkan lebih baik kualitasnya jika diekstrak menggunakan pelarut berbasis alkohol dibandingkan menggunakan pelarut air.<sup>16</sup>

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun jati berpotensi menggantikan safranin pada pewarnaan Gram *E. coli* dan *S. aureus*. Penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak ini memberikan pewarna yang baik dan merupakan alternatif yang efektif dan alami.

Konsentrasi ekstrak daun jati yang optimal untuk hasil pewarnaan Gram terbaik adalah 50% dibandingkan konsentrasi lainnya yaitu 25% dan 100%. Selain itu, waktu pemaparan optimal untuk pengembangan warna yang efektif adalah 0,5 menit, yang lebih cepat dibandingkan variasi waktu lainnya.

Peneliti selanjutnya dianjurkan untuk menguji penggunaan ekstrak daun jati pada konsentrasi 7% hingga 24% untuk mengoptimalkan hasil pewarnaan. Selain itu, ekstrak daun jati sebaiknya dijadikan bubuk agar lebih mudah digunakan dan umur simpan lebih lama.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada seluruh pihak yang telah terlibat dalam penelitian ini. Terima kasih atas dukungan dan kontribusinya dalam penyelesaian penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dosen

pembimbing, dosen penguji, dan juga panelis atas saran, masukan, dan dukungannya selama proses penelitian dan penyusunan karya ilmiah ini.

Penulis berharap penelitian ini dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya mikrobiologi dan dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya.

## DAFTAR RUJUKAN

1. NauE, D. A., Karneli, K., Syailendra, A., Syafitri, I., Wulandari, S., & Julianti, W., Buah Bit (*Beta Vulgaris L.*) sebagai Alternatif Safranin pada Pewarnaan Gram. *Husada Mahakam: Jurnal Kesehatan*, 2022, 12 (1): 19-24. <https://doi.org/10.35963/hmjk.v12i1.285>
2. Rini CS, Rohmah J. *BAKTERIOLOGI DASAR*. Sidoarjo: UMSIDA Press; 2020
3. Bayazit, S., Investigation of safranin o adsorption on superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION) and multi-wall carbon nanotube/spion composites. *Desalination and Water Treatment*. 2013, 52(37–39), 6966–6975. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.821045>
4. Rahayuningtyas, A. D., Dewi, W., Sudjarwo, I., Pemanfaatan Ekstrak Etil Asetat Buah Merah Sebagai Zat Pengganti Pewarna Primer Pada Teknik Pengecatan Tunggal Bakteri Gram Negatif Batang. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 2018, 29(2): 1-6. <https://doi.org/10.24198/jkg.v29i2.18583>
5. Adisa, J. O., Musa, K. M., Egbujo, E. Uwaeme, I. M., A study of

- various modifications of *Lawsonia inermis* (Henna) leaf extract as a cytoplasmic stain in liver biopsies. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 2017 5(3): 1058-1065.  
DOI:[10.18203/2320-6012.ijrms20170662](https://doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20170662)
6. Camara, J. S., Engineering Cayenne Pepper Extract As Alternative Biostain In Microscopy. *International Journal of Scientific & Technology Research*. 2020, 9(3): 3210-3212. SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3567499>
  7. Kamel, F. H. & Najmaddin, C., Use of Some Plants Color as Alternative Staining of Bacteria. *Kirkuk University Journal/Scientific Studies*. 2016, 11(3): 248-253. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105654>
  8. Deepak, P., & Omman,. Use of dye extract of melastoma malabathricum linn. for plant anatomical. *Acta Biologica Indica*. 2013 2(2), 456-460.
  9. Kristinawati, E., Ahsan, K. B., Getas, I. W., Pemanfaatan Ekstrak Daun Jati (*Tectona Grandis*) sebagai Pewarna Alternatif Pengganti Zat Warna Safranin pada Pewarnaan Preparat Bakteri. *Open Journal Systems*. 2022, 16 (8): 7137-7142. <https://doi.org/10.33758/mbi.v16i8.1528>
  10. Andayani, I. G. A. S., Sulastri, S., Hananto, D. A., Sriasih, M., Ekstrak Daun Jati (*Tectona Grandis*) Alternatif Pewarna pada Penghitungan Jumlah dan Viabilitas Sel Kultur Dibandingkan dengan Pewarna *Tryphan Blue*. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*. 2020, 8 (2): 205-2011. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v8i2.3015>
  11. Bueno, J. M., Sáez-Plaza, P., Ramos-Escudero, F., Jiménez, A. M., Fett, R., & Asuero, A. G., Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments. Part II: Chemical Structure, Color, and Intake of Anthocyanins. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2012, 42(2): 126-151. <https://doi.org/10.1080/10408347.2011.632314>
  12. Socaciu C. Food Colorants: Chemical and Functional Properties. Boca Raton: CRC Press; 2007
  13. Dewi, A. K., Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. 2013, 31(2): 142-143. <https://journal.ugm.ac.id/jsv/article/viewFile/3780/3704>
  14. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia Edisi Kedua. Jakarta: Ditjen POM RI; 2017
  15. Supardi, Q. A., Bintari, Y. R., Risandriansyah, R., Potensi Ekstrak Metanol Daun Jati (*Tectona grandis*) sebagai Pewarna Sederhana pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kedokteran Komunitas*. 2022. 10(1): 1-7.
  16. Ifadah, R. A., Wiratara, P. R. W., Afgani, C. A., Ulasan Ilmiah: Antosianin dan Manfaatnya untuk Kesehatan. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*. 2021. 3(2): 11-18.

<https://doi.org/10.35308/jtpp.v3i2.4450>