

**PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia  
inermis L*) SEBAGAI PENGGANTI SAFRANIN DALAM  
PEWARNAAN GRAM BAKTERI  
*Escherichia coli***

**KARYA TULIS ILMIAH**



Oleh:

Riska Ayu Andini

Nim: E.22.07.034

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM  
MEDIS SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN STIKES  
PANRITA HUSADA BULUKUMBA**

**2025**

**PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia  
inermis L*) SEBAGAI PENGGANTI SAFRANIN DALAM  
PEWARNAAN GRAM BAKTERI  
*Escherichia coli***

**KARYA TULIS ILMIAH**

Untuk Memenuhi Sebagai Persyaratan Mencapai Gelar Ahli Madya Analis  
Kesehatan (Amd.Kes) Pada Program Studi DIII Teknologi Laboratorium  
Medis Stikes Panrita Husada Bulukumba



Oleh :

RISKA AYU ANDINI

NIM. E.22.07.034

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN (STIKES)  
PANRITA HUSADA BULUKUMBA**

**2025**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

**PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia inermis L.*)**

**SEBAGAI PENGGANTI SAFRANIN DALAM PEWARNAAN GRAM**

**BAKTERI *Escherichia coli***

**KARYA TULIS ILMIAH**

Disusun Oleh:

Riska Ayu Andini

NIM. E.22.07.034

KTI ini Telah Disetujui Tanggal

26 juni 2025

Pembimbing Utama

Asriyani Ridwan, S.ST., M.Biomed  
NIDN. 0910058802

Pembimbing Pendamping

Dr. Muriyati, S.Kep, Ns, M.Kes  
NIP. 19770926 202212 2 007

Pengaji I

Dr. Fatimah, S.Si., M.Si  
NIDN. 0920088504

Pengaji II

Hj. Nuria Naim, S.Si., M.Kes  
NIDN. 4016045801

LEMBAR PENGESAHAN

PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia inermis L*)  
SEBAGAI PENGGANTI SAFRANIN DALAM PEWARNAAN GRAM

BAKTERI *Escherichia coli*

Disusun Oleh:

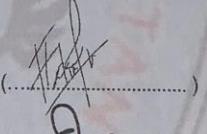
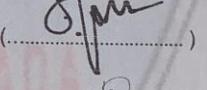
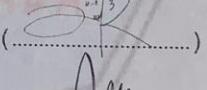
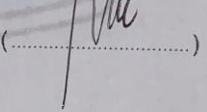
Riska Ayu Andini  
NIM. E.22.07.034

Telah Dipertahankan Di Depan Tim Penguji

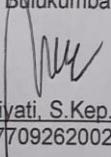
Pada Tanggal 25 Juli 2025

Dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat

MENYETUJUI

1. Penguji I  
Dr. Fatimah, S. Si., M.Si  
NIDN. 0920088504 
2. Penguji II  
Hj. Nurlia Naim, S.Si., M.Kes  
NIDN. 4016045801 
3. Pembimbing Utama  
Asriyani Ridwan, S.ST., M. Biomed  
NIDN. 0910058802 
4. Pembimbing Pendamping  
Dr. Muriyati, S.Kep.Ns.M.Kes  
NIP. 19770926 202212 2 007 

Mengetahui,  
Ketua STIKES Panrita Husada  
Bulukumba

  
Dr. Muriyati, S.Kep., M.Kes  
NIP.197709262002122007

Mengetahui,  
Ketua Program Studi  
Teknologi Laboratorium Medis

  
Andi Harmawati Novriani,HS,S.S.T.,M.Kes  
NIDN. 0913119005

**SURAT PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Riska Ayu Andini

Nim : E22.07.034

Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis

Judul KT : Pemanfaatan Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L) Sebagai Pengganti Safranin Dalam Pewarnaan Gram Bakteri *Escherichia coli*.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa tugas akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Bulukumba, 22 september 2025



Riska Ayu Andini

E.22.07.034

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat allah SWT, berkat rahmat dan bimbingannya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan Judul “Pemanfaatan Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia Inermis L*) Sebagai Pengganti Safranin Dalam Pewarnaan Gram Bakteri *Escherichia Coli*” proposal ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar ahli madya Teknologi laboratorium Medis (A.Md.Kes) pada program studi Teknologi Laboratorium Media Stikes Panrita Husada Bulukumba Bersamaan ini perkenankanlah saya mengucap terima kasih sebesar-besarnya dengan hati yang tulus kepada:

1. H. Muh. Idris Aman, S. Sos selaku ketua Yayasan Panrita Husada Bulukumba yang telah menyiapan sarana dan prasarana sehingga proses belajar mengajar berjalan dengan lancar.
2. Dr. Muriyati, S. Kep, M. Kes selaku ketua STIKes Panrita Husada Bulukumba dan selaku pembimbing pendamping yang selalu memberikan motivasi sebagai bentuk kepedulian sebagai orang tua yang membimbing penulis selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah.
3. Dr. Asnidar, S. Kep, M. Kes selaku wakil ketua 1 yang telah merekomendasikan pelaksanaan penelitian.
4. Andi Harmawati N. HS, S. ST., M. Kes selaku ketua Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis yang telah membagi i pengetahuan.
5. Asriyani Ridwan, S.ST., M. Biomed selaku pembimbing utama yang telah bersedia untuk memberikan bimbingan serta mengarahkan

penulis dari awal sampai akhir dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

6. Dr. Fatimah, S. Si., M. Si selaku penguji utama yang telah bersedia memberikan masukan, arahan, serta kritik yang membangun dalam proses penyusunan dan penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Hj. Nurlia Naim, S.Si., M. Kes selaku penguji kedua yang telah bersedia memberikan masukan, arahan, serta kritik yang membangun dalam proses penyusunan dan penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Teristimewa kepada kedua orang tua tercinta, seluruh keluarga serta hormatku kepada mereka yang telah memberikan doa, motivasi, dorongan, dukungan, moril serta materi kepada penulis
9. Terimakasih untuk diri sendiri, terimakasih telah berjuang sejauh ini, terimakasih telah melawan semua rasa takut yang ada pada diri walau sering kali merasa putus asa dengan keadaan. Terimakasih karena memutuskan tidak menyerah sesulit apapun kondisi saat proses penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini meskipun banyak kekurangan.
10. Terimakasih kepada sahabat saya yaitu Putri Ananda, Riska Sri Yuniar dan husnul Khatima yang telah mendukung dan membantu saya dalam proses penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
11. Rekan-rakan mahasiswa (i) jurusan Teknologi Laboratorium Medis Angkatan 2025 STIKes Panrita Husada Bulukumba yang banyak membantu dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah Mohon maaf atas

segala kesalahan dan ketidak sopanan yang mungkin telah saya  
perbuat semoga Allah SWT senantiasa memudahkan setiap  
langkah-langkah kita menuju kebaikan dan selalu menganugrahkan  
kasi sayang-nya untuk kita semua. Amin.

Bulukumba, 23 September 2025



Riska Ayu Andini

## ABSTRAK

**Pemanfaatan Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis L*) Sebagai Pengganti Safranin Dalam Pewarnaan Gram Bakteri *Escherichia coli*.**  
**Riska Ayu Andini<sup>1</sup>, Asriyani Ridwan<sup>2</sup>, Dr. Muriyati<sup>3</sup>**

**Latar Belakang:** Pacar kuku (*Lawsonia inermis L.*) merupakan tanaman yang mengandung senyawa pewarna alami, terutama lawsone, yang telah banyak dimanfaatkan dalam bidang kosmetik dan pengobatan tradisional. Senyawa ini memiliki potensi sebagai alternatif pewarna alami dalam pewarnaan bakteri.

**Tujuan:** Diketahui potensi ekstrak daun pacar kuku sebagai pengganti pewarna sintesis (safranin) dalam pewarnaan gram bakteri *Escherichia coli* dan diketahui variasi konsentrasi yang optimal, yang dilakukan dengan berbagai tingkat konsentrasi

**Metode:** Pewarnaan Gram merupakan metode untuk membedakan bakteri Gram positif dan negatif berdasarkan struktur dinding selnya, yang memerlukan pewarna penutup seperti safranin. Namun, karena sifat karsinogenik dan harga safranin yang relatif tinggi, dibutuhkan alternatif pewarna dari bahan alam. Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dengan pendekatan kualitatif, yang bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis L.*) sebagai alternatif pewarna pengganti safranin dalam metode pewarnaan Gram.

**Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun pacar kuku berpotensi sebagai pewarna alami pengganti safranin dalam pewarnaan Gram bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi 100% dan 75% berhasil memberikan pewarnaan yang jelas, sementara konsentrasi 50% dan 25% tidak efektif dalam mewarnai bakteri.

**Kesimpulan:** Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pacar kuku berpotensi digunakan sebagai alternatif pewarna alami pengganti zat pewarna sintetis (safranin) dalam proses pewarnaan Gram terhadap bakteri *Escherichia coli*.

**Sara:** Untuk peneliti selanjutnya diharapkan analisis fitokimia lanjutan pada ekstrak daun pacar kuku. Hal ini krusial untuk mengidentifikasi secara spesifik pigmen atau senyawa aktif yang berperan dalam efek pewarnaan

**Kata Kunci:** *Lawsonia inermis*, lawsone, pewarna alami, pewarnaan Gram, *Escherichia coli*.

## **ABSTRACT**

**Utilization of Henna Leaf Extract (*Lawsonia inermis L.*) as a Substitute for Safranin in Gram Staining of *Escherichia coli***  
**Riska Ayu Andini<sup>1</sup>, Asriyani Ridwan<sup>2</sup>, Dr. Muriyati<sup>3</sup>**

**Background:** Henna (*Lawsonia inermis L.*) is a plant that contains natural coloring compounds, particularly lawsone, which has long been used in cosmetics and traditional medicine. This compound has the potential to serve as a natural alternative dye in bacterial staining.

**Objective:** To investigate the potential of henna leaf extract as a substitute for synthetic dye (safranin) in Gram staining of *Escherichia coli* and to determine the optimal concentration through various levels of extract concentration.

**Method:** Gram staining is a method used to differentiate Gram-positive and Gram-negative bacteria based on their cell wall structure, requiring a counterstain such as safranin. However, due to the carcinogenic properties and relatively high cost of safranin, alternatives from natural sources are needed. This study employed an experimental research design with a qualitative approach to evaluate the effectiveness of henna leaf extract (*Lawsonia inermis L.*) as a natural substitute for safranin in the Gram staining method.

**Results:** The findings revealed that henna leaf extract has potential as a natural dye substitute for safranin in Gram staining of *Escherichia coli*. Extract concentrations of 100% and 75% produced clear staining, while 50% and 25% concentrations were not effective in coloring the bacteria.

**Conclusion:** Based on the results, henna leaf extract can be considered a potential natural alternative to synthetic safranin in Gram staining of *Escherichia coli*.

**Suggestion:** Further research is recommended to conduct phytochemical analysis of henna leaf extract in order to specifically identify the pigments or active compounds responsible for the staining effect.

**Keywords:** *Lawsonia inermis*, lawsone, natural dye, Gram staining, *Escherichia coli*

## DAFTAR ISI

|   |                              |
|---|------------------------------|
| <b>KATA PENGANTAR .....</b>               | <b>ii</b>                    |
| <b>ABSTRAK .....</b>                      | <b>v</b>                     |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                    | <b>vii</b>                   |
| <b>DAFTAR GAMBAR .....</b>                | <b>ix</b>                    |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                 | <b>x</b>                     |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>               | <b>xi</b>                    |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>             | Error! Bookmark not defined. |
| A. Latar Belakang .....                   | 1                            |
| B. Rumusan Masalah .....                  | 4                            |
| C. Tujuan Penelitian .....                | 5                            |
| D. Keaslian Penelitian.....               | Error! Bookmark not defined. |
| E. Manfaat .....                          | 7                            |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>       | <b>9</b>                     |
| A. Tinjauan Teori .....                   | 9                            |
| B. Kerangka Teori.....                    | 21                           |
| <b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....</b> | <b>22</b>                    |
| A. Desain penelitian.....                 | 22                           |
| B. Variabel Penelitian .....              | 22                           |
| C. Definisi Operasional .....             | 22                           |
| D. Waktu dan Lokasi Penelitian.....       | 23                           |
| E. Teknik Pengumpulan Data.....           | 23                           |
| F. Instrumen Penelitian .....             | 25                           |
| G. Alur Penelitian.....                   | 31                           |
| H. Pengolahan dan Analisis Data .....     | 32                           |
| <b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>   | <b>36</b>                    |
| A. Hasil .....                            | 36                           |

|  |           |
|--|-----------|
| B. Pembahasan .....                    | 38        |
| <b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....</b> | <b>42</b> |
| A. Kesimpulan.....                     | 42        |
| B. Saran .....                         | 42        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>             | <b>43</b> |

## **DAFTAR GAMBAR**

|  |    |
|--|----|
| Gambar 2. 1. Daun pacar kuku ( <i>Lawsonia inermis L</i> ) ..... | 10 |
| Gambar 2. 2.bakteri <i>Escherichia coli</i> .....                | 16 |
| Gambar 2.3. gambar hasil .....                                   | 36 |

## **DAFTAR TABEL**

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| Tabel 3. 1. Kerangka Teori..... | 21 |
|---------------------------------|----|

## DAFTAR LAMPIRAN

|   |    |
|---|----|
| <b>Lampiran 1.</b> Surat Izin Penelitian Dari DPMPTSP Provinsi Sulsel ..... | 47 |
| <b>Lampiran 2.</b> Surat Izin Penelitian Dari DPMPTSP Kab Bulukumba .....   | 48 |
| <b>Lampiran 3.</b> Surat Keterangan Bebas Laboratorium .....                | 49 |
| <b>Lampiran 4.</b> Dokumentasi Penelitian .....                             | 50 |
| <b>Lampiran 5.</b> Konsentrasi 100% .....                                   | 52 |
| <b>Lampiran 6.</b> Rumus Pembuatan Konsentrasi .....                        | 55 |

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis L.*), yang lebih dikenal dengan nama henna, merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan untuk keperluan kecantikan dan pengobatan. Tumbuhan ini termasuk dalam famili *Lythraceae* dan genus *Lawsonia*, serta tergolong sebagai tumbuhan berbunga. Tanaman ini hanya memiliki satu spesies dan tumbuh di daerah beriklim tropis maupun subtropis. Henna berasal dari wilayah Afrika Utara dan Asia Tenggara, namun kini juga sering dijadikan tanaman hias di berbagai tempat seperti India, wilayah Asia lainnya, pantai Afrika, dan kawasan sekitar Laut Mediterania. Di Indonesia, tanaman ini memiliki beragam nama daerah, antara lain gaca ineng (Aceh), ine (Batak), inai batang (Minangkabau), pacar (Madura), kayu laka (Manado), laka kahori (Tidore), pacar kuku (Jawa dan Sunda), kacar (Gayo), inai pasari (Sumatra), pacci (Bugis), kolondi (Ternate), bunga jari (Halmahera), dan tilang tutu (Gorontalo). (Safnawati, 2022).

Pacar kuku (*Lawsonia inermis L.*) merupakan tanaman semak kecil yang bercabang banyak dan memiliki batang kecil yang kadang berduri, dengan tinggi yang dapat mencapai 2 hingga 6 meter. Tanaman ini dikenal mengandung zat pewarna alami yang telah digunakan secara luas di berbagai belahan dunia, khususnya dalam industri kosmetik untuk mewarnai rambut, kuku, kulit, hingga kain. Selain itu, rebusan

daun pacar kuku sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengatasi rasa gatal dan bisul, yang diduga berkaitan dengan kadar gula darah yang tinggi. Di beberapa daerah pedesaan di Indonesia, daun ini juga digunakan untuk membantu mempercepat penyembuhan luka pada kulit. (Safnawati, 2022).

Ekstrak merupakan bentuk sediaan kental yang diperoleh melalui proses penarikan zat aktif dari simplisia menggunakan pelarut tertentu, diikuti dengan penguapan seluruh atau sebagian besar pelarut hingga diperoleh massa atau serbuk yang memenuhi standar yang telah ditetapkan. Proses ekstraksi sendiri adalah metode pemisahan komponen kimia yang larut dari suatu bahan dengan bantuan pelarut cair, sehingga senyawa yang tidak larut dapat dipisahkan. Umumnya, bahan yang diekstraksi berupa simplisia, yaitu bahan alam yang masih mengandung senyawa aktif seperti karbohidrat, protein, serat, dan senyawa lainnya yang bersifat larut. Senyawa aktif dalam simplisia ini dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa kelompok, seperti flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, serta kelompok senyawa bioaktif lainnya. (Dillasaloma, 2023).

Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis L.*) mengandung berbagai jenis pigmen pewarna alami, mulai dari merah, burgundy, kuning tua, coklat kemerahan, hingga coklat. Selain itu, daun ini juga mengandung hennotannic acid, yaitu senyawa penyamak yang mampu berikatan dengan protein. Kemampuan ini menjadikannya efektif untuk digunakan sebagai pewarna alami pada kulit, rambut, kuku, kain sutra, dan wol.

Berdasarkan hasil uji baik secara in vitro maupun in vivo, senyawa dalam daun pacar kuku menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri, antiiritasi, antioksidan, antikarsinogenik, antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik. (Fauznah et al., 2019)

Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis L.*) mengandung senyawa pewarna alami berwarna kuning kemerah yang dikenal sebagai lawsone. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk memberikan warna pada kuku, kulit, rambut, serta pada bahan tekstil seperti kain sutra dan wol. Selain kegunaannya dalam bidang kosmetik dan tekstil, lawsone juga berpotensi dimanfaatkan sebagai pewarna dalam proses pewarnaan bakteri (Edyani, 2020).

Pewarnaan Gram merupakan metode yang digunakan untuk membedakan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif berdasarkan perbedaan struktur dinding selnya, khususnya pada komponen peptidoglikan. Bakteri Gram positif akan menunjukkan warna ungu pada hasil akhir, sedangkan bakteri Gram negatif akan tampak berwarna merah. Perbedaan ini terjadi karena pada bakteri Gram negatif, zat warna utama akan hilang saat proses dekolorisasi, sehingga diperlukan pewarna penutup, yaitu safranin. Safranin memiliki keunggulan karena efisien dan mampu menghasilkan warna yang stabil. Namun demikian, penggunaannya memiliki keterbatasan karena harganya relatif tinggi serta bersifat karsinogenik. (Nurmilia et al., 2024).

*Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan ukuran sekitar 1,0–1,5  $\mu\text{m}$  x 2,0–6,0  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini dapat

bersifat non-motil maupun motil dengan bantuan flagela, serta mampu tumbuh baik dalam kondisi aerob maupun anaerob, sehingga digolongkan sebagai bakteri fakultatif anaerob. *Escherichia coli* juga dikenal mampu bertahan hidup pada lingkungan dengan ketersediaan nutrisi yang rendah. Secara biokimia, bakteri ini memiliki kemampuan menghasilkan indol, tidak mampu memfermentasi sitrat secara efektif, dan menunjukkan hasil negatif dalam uji urease (Rahayu et al., 2018).

Dalam pewarnaan Gram, safranin digunakan sebagai pewarna penutup. Safranin merupakan zat pewarna kationik yang diketahui bersifat karsinogenik, serta berpotensi menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan dan kesehatan manusia. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif pewarna berbasis bahan alam yang memiliki fungsi serupa dengan safranin. Daun pacar kuku mengandung senyawa fenolik dan termasuk dalam golongan senyawa protein, yang memiliki kemampuan pewarnaan yang baik dan berpotensi menjadi pengganti alami safranin. (Damayanti et al., 2024).

## B. Rumusan Masalah

Safranin adalah pewarna sintetis yang umum digunakan dalam metode pewarnaan Gram untuk memberikan warna merah pada preparat. Namun, ketersediaan safranin terbatas karena harganya relatif mahal. Selain itu, safranin memiliki stabilitas penyimpanan yang rendah dan mudah terdegradasi apabila terpapar sinar matahari.

Dari latar belakang diatas dapat disimpulkan rumusan masalahnya apakah ekstrak daun pacar kuku dapat dijadikan alternatif pengganti safranin pada pewarnaan gram bakteri *Escherchia coli*?

### C. Tujuan Penelitian

#### 1. Tujuan Umum

Diketahui potensi ekstrak daun pacar kuku sebagai pengganti pewarna sintesis (safranin) dalam pewarnaan gram bakteri *Escherchia coli*.

#### 2. Tujuan Khusus

Diketahui variasi konsentrasi yang optimal, yang dilakukan dengan berbagai tingkat konsentrasi

## D. Keaslian Penelitian

**Tabel 1.1 keaslian penelitian**

| No | Penulis   | Judul   | Persamaan   | Perbedaan   | Hasil   |
|----|---|---|---|---|---|
| 1  | Risa supri<br>ningrum,<br>nurul<br>Fatimah,<br>sri nur<br>wahyuni | Penetapan<br>kadar<br>Flavonoid<br>ekstrak Etanol<br>daun pacar<br>kuku ( <i>Lawsonia<br/>Inermis L</i> )<br>Berdasarkan<br>perbedaan cara<br>pengeringan                               | 1) Sampel daun<br>pacar kuku<br>( <i>lawsonia<br/>Inermis L</i> ).<br>2) Metode<br>maserasi | 1) Etanol 70%<br>Konsentrasi larutan ekstrasi<br>Penentuan kadar plavonoid              | Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kadar flavoloid ekstrak etanol daun pacar kuku pada pengeringan dengan angin 6,5% ±0,1373 dan Pengeringan Dengan oven sebesar 7,37% ±0,2158   |
| 2  | Nurul<br>Safwati  | Uji Aktivitas anti bakteri etanol<br>daun pacar<br>kuku ( <i>Lawsonia<br/>Inermis L</i> )<br>terhadap<br>bakteri<br><i>salmonella<br/>typhi</i> dan<br><i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | 1) Ekstrak daun<br>pacar kuku<br>( <i>lawsonia<br/>Inermis L</i> )                          | 1) Konsentrasi larutan ekstrasi<br>2) Bakteri<br>3) Fungsi/<br>kengunaan hasil ekstrasi | Hasil penelitian menunjukkan bahwa ektrak etanol daun pacar kuku memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri <i>S. Typhi</i> dan <i>S. aureus</i> yang ditandai adanya zona bening di sekitar cakram pada konsentrasi anri bakteri terendah merupakan nilai KHM. Konsentrasi 40% merupakan KHM terhadap bakteri <i>S. typhi</i> dan <i>S. aureus</i> dengan diameter zona hambat berturut-tutut 4,0540,50 mm dikategorikan lemah dan 8,660,50 mm dikategorikan sedang. terhadap |

---

|   |   |   |    |   |  |   |  |
|---|---|---|----|---|--|---|--|
|   |   |   |    |   |  |   | bakteri <i>S. typhi</i> dan <i>S. aureus</i> dengan diameter zona hambat berturut-turut 4,0540,50 mm dikategorikan lemah dan 8,660,50 mm dikategorikan sedang. |
| 3 | Sunita<br>damayanti,<br>dhia<br>novalina,<br>wahid<br>syamsul<br>hadi | Pengaruh<br>terhadap<br>stabilitas daun<br>pacar kuku<br>sebagai<br><i>counterstain</i><br>alternative<br>pada<br>pewarnaan<br>gram | pH | 1) Bakteri<br><i>Esherichia coli</i><br>2) Daun<br>Pacar<br>Kuku<br><i>(Lawsonia Inermis L)</i> | 1) pH yang digunakan<br>2) Bakteri<br><i>Staphylococcus aureus</i> | Hasil penelitian<br>menunjukkan bahwa zat warna pada pH3 lebih stabil disbanding dengan zat warna pada pH 7 dan pada pewarnaan dengan ekstrak daun pacar kuku bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> lebih terwarnai dan terlihat jelas disbanding dengan bakteri <i>Esherichia coli</i> yang tidak terwarnai oleh ekstrak daun pacar kuku. |  |

---

## D. Manfaat

### 1. Manfaat Teoritis

Pemanfaatan ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis*), yang mengandung senyawa lawsone dengan sifat pigmen alami, berpotensi menjadi alternatif ramah lingkungan dalam pewarnaan Gram. Senyawa aktifnya mampu berinteraksi dengan komponen kimia dinding sel bakteri, memberikan warna kontras yang setara

dengan safranin. Hal ini memungkinkan ekstrak daun pacar kuku untuk menggantikan pewarna sintetis secara lebih aman, murah, dan berkelanjutan, terutama di wilayah yang kaya akan sumber daya tumbuhan ini.

## 2. Manfaat Aplikatif

- a. Terhadap peneliti, sebagai penambah wawasan pengetahuan tentang pewarnaan gram menggunakan ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia Inermis L*).
- b. Terhadap akademik, sebagai masukan referensi kepada pembaca dan peneliti selanjutnya untuk mengembangkan pewarna alami alternatif dari bahan lain.
- c. Terhadap masyarakat, sebagai informasi bahwa selain dikonsumsi sebagai kosmetik dan obat ternyata daun pacar kuku juga dapat dijadikan bahan pewarna alami alternatif dari daun pacar kuku

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Teori**

##### **A. Daun Pacar Kuku (*Lawsonia Inermis L*)**

Tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*), yang lebih dikenal sebagai henna, merupakan spesies berbunga dari genus *Lawsonia* dalam famili Lythraceae dan termasuk tumbuhan dengan satu spesies tunggal. Tanaman ini banyak dibudidayakan oleh petani, terutama untuk kebutuhan di bidang kosmetik dan farmasi. Pacar kuku umumnya tumbuh di wilayah beriklim tropis dan subtropis, dengan asal-usul dari Afrika Utara dan Asia Tenggara, serta kerap dijadikan tanaman hias di wilayah India, Persia, dan sepanjang pesisir Laut Mediterania. Untuk memperoleh kandungan zat aktif *lawsone* yang maksimal, daun yang digunakan sebaiknya dipetik pada kondisi tidak terlalu muda maupun terlalu tua, dan idealnya dilakukan pada pukul 08.00 hingga 10.00 pagi. (Safnawati, 2022)

Di Indonesia, tanaman ini memiliki beragam nama lokal yang berbeda-beda di setiap daerah. Beberapa di antaranya meliputi: gaca ineng di Aceh, ine di Batak, inea batang di Minangkabau, pacar di Madura, kayu laka di Manado, laka kahori di Tidore, pacar kuku di wilayah Jawa Tengah dan Sunda, kacar di Gayo, inai parasi di Sumatra, pacel di Bugis, kolondigi di Ternate, bunga jari di Halmahera, serta tilangga tutu di Gorontalo. Komponen kimia

daun pacar kuku meliputi Lawson, tannin, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid, alkaloid dan minyak atsiri. (Safnawati, 2022).



Gambar 2. 1. Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L)

(Anggraeni, 2022)

### 1. Klasifikasi Tanaman Pacar Kuku

Menurut Global Biodiversity Information Facility (2017), secara sistematika klasifikasi tanaman pacar kuku diantaranya

|         |   |                               |
|---------|---|-------------------------------|
| Kigdom  | : | Plantae                       |
| Divisi  | : | Magnoliophyta                 |
| Class   | : | Magnoliopsida                 |
| Ordo    | : | Myrales                       |
| Famly   | : | Lythraceae                    |
| Genus   | : | Lawsonia                      |
| Spesies | : | <i>Lawsonia inermis</i> Linn. |

### 2. Morfologi Daun Pacar Kuku

Tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) merupakan jenis perdu kecil yang bercabang banyak dan termasuk dalam kelompok semak. Tanaman ini memiliki batang herba yang keras,

dengan tinggi berkisar antara 20 hingga 75 cm serta tumbuh bercabang. Daunnya tersusun secara spiral, berbentuk lanset memanjang, berukuran panjang sekitar 2,5–9 cm dan lebar 1–2,5 cm, tidak bergerigi, berwarna hijau muda, dan tidak memiliki daun penumpu. Bunga tanaman ini berwarna cerah dengan variasi warna seperti merah, merah muda, jingga, ungu, dan putih. Buahnya berbentuk kapsul (kendaga) yang saat matang akan terbuka membentuk lima bagian yang menggulung. (ir syamsul hidayat, 2015).

### 3. Kandungan Daun Pacar Kuku

Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) mengandung berbagai jenis pigmen pewarna alami, dengan variasi warna mulai dari merah, burgundy, kuning tua, coklat kemerahan hingga coklat. Daun tanaman ini mengandung senyawa tannin sekitar 4,5%, yang secara tradisional dimanfaatkan sebagai obat alternatif untuk mengatasi diare, sementara serbuk daunnya digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka. Bunganya mengandung minyak atsiri yang memiliki aroma menyerupai trimetilamina dan biasa dimanfaatkan dalam industri kosmetik. Selain itu, bijinya diketahui mengandung minyak sebanyak kurang lebih 10,5%. (Hilmi et al., 2018).

## B. Ekstrasi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu komponen dari bahan padat atau cair dengan menggunakan pelarut tertentu. Pelarut yang digunakan harus memiliki kemampuan selektif untuk melarutkan zat yang diinginkan tanpa melarutkan zat lain yang tidak diperlukan. Proses ini bertujuan untuk memisahkan senyawa tertentu dari campurannya dan dapat dilakukan melalui berbagai teknik. Prinsip dasar dari ekstraksi pelarut adalah perbedaan kelarutan masing-masing komponen dalam campuran terhadap pelarut yang digunakan. Beberapa faktor yang memengaruhi kecepatan dan efisiensi ekstraksi meliputi jenis dan ukuran partikel sampel, lama waktu ekstraksi, mutu dan jenis pelarut, serta suhu pelarut selama proses berlangsung. (Nunung Hasanah, 2015).

### 1. Jenis Ekstrasi

#### a. Ekstrasi secara dingin

##### 1) Metode *maserasi*

Maserasi adalah metode ekstraksi yang sederhana, dilakukan dengan merendam bahan dalam pelarut selama beberapa hari pada suhu ruang dan dijauhkan dari paparan cahaya. Kelebihan dari metode ini adalah penggunaan alat yang tidak rumit (Irawan, 2010).

Metode maserasi dapat diterapkan dengan beberapa bentuk modifikasi, antara lain:

- a) Maserasi dengan teknik perputaran melingkar
- b) Maserasi menggunakan metode digesti
- c) Maserasi melingkar dengan sistem bertingkat
- d) Teknik remaserasi
- e) Maserasi menggunakan alat pengaduk otomatis

2) Metode *Soxhletasi*

Soxhletasi adalah metode ekstraksi berkelanjutan di mana pelarut dipanaskan hingga menguap, kemudian uap tersebut dikondensasi menjadi cairan oleh kondensor, dan menetes ke dalam selongsong berisi simplisia. Setelah proses penyarian, pelarut kembali mengalir ke labu alas bulat melalui pipa sifon. Metode ini memiliki beberapa keunggulan, antara lain:

- a. Dapat digunakan untuk sample dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung
- b. Digunakan pelarut yang lebih sedikit
- c. Pemanasannya dapat diatur

3) Metode Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui bahan yang telah

dibasahi. Keuntungan metode ini adalah tidak memerlukan langkah tambahan yaitu sampel padat telah terpisah dari ekstrak. Kerugiannya adalah kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien.

b. Ekstrasi secara panas

1) Metode *refluks*

Keuntungan dari metode ini adalah digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung. Kerugiannya adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi dari operator.

2) Metode destilasi uap

Destilasi uap merupakan teknik yang umum digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri dari bahan tanaman. Metode ini cocok digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung minyak menguap atau senyawa kimia dengan titik didih tinggi pada tekanan atmosfer normal.

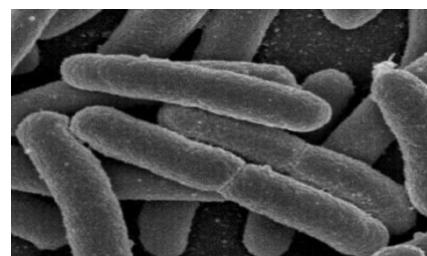
### C. Bakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* adalah spesies utama dari kelompok bakteri Gram negatif. Saat ini, bakteri ini banyak dimanfaatkan oleh berbagai industri, terutama dalam produksi obat-obatan seperti antibiotik dan insulin. Secara teoritis, ribuan jenis senyawa kimia dapat dihasilkan melalui proses fermentasi menggunakan *Escherichia coli*, asalkan struktur genetiknya telah dimodifikasi sedemikian rupa untuk menghasilkan produk sesuai kebutuhan (Agusphamita, 2020).

#### 1. Klasifikasi dan Morfologi *Escherichia coli*

Genus *Escherichia* termasuk dalam kelompok *Escherichiae* yang berada dalam famili Enterobacteriaceae, dan pertama kali berhasil diisolasi pada tahun 1885 oleh ahli bakteriologi asal Jerman, Theodor Escherich. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan ukuran sekitar  $1,0\text{--}1,5 \mu\text{m} \times 2,0\text{--}6,0 \mu\text{m}$ . Bakteri ini dapat bersifat motil dengan flagela atau tidak motil, mampu tumbuh baik dalam kondisi dengan maupun tanpa oksigen karena bersifat anaerob fakultatif, serta dapat bertahan hidup di lingkungan dengan nutrisi yang rendah. Secara biokimia, *Escherichia coli* memiliki kemampuan memproduksi indol, cenderung tidak dapat memfermentasi sitrat, dan menunjukkan hasil negatif pada uji urease (Rahayu et al., 2018).

*Escherichia coli* merupakan bakteri yang secara alami hidup di saluran pencernaan, namun dapat menimbulkan penyakit colibacilosis, terutama pada ternak muda. Penularannya bisa terjadi melalui saluran cerna, pusar yang belum kering, atau secara intrauterin. Bakteri ini menjadi patogen jika berada di luar habitat alaminya. *Escherichia coli* sendiri tergolong sebagai bakteri komensal atau bagian dari flora normal yang terdapat di peritoneum atau usus bagian bawah (Putri, 2023).



Gambar 2. 2. bakteri *Escherichia coli*

(Agusphamita, 2020)

Domain : *Bacteria*  
Kingdom : Eubacteria  
Phylum : Proteobacteria  
Class : Gammaproteobacteria  
Order : Enterobacteriales  
Family : Enterobacteriaceae  
Genus : *Escherichia*  
Species : *Escherichia coli*

Sumber: (Agusphamita, 2020)

## 2. Jenis-jenis bakteri

Berdasarkan perbedaan kandungan dari dinding sel, bakteri dapat digolongkan menjadi dua yaitu :

### 1. Bakteri Gram Positif

Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tersusun dari peptidoglikan (PG) dalam jumlah besar, sehingga membuat dinding selnya menjadi kaku. Pada bagian luar peptidoglikan, terdapat senyawa yang dikenal sebagai asam teikoat. Karena kandungan peptidoglikannya lebih banyak, bakteri Gram positif umumnya lebih kuat dan tahan terhadap kerusakan secara mekanis (Jannah, 2023).

### 2. Bakteri Gram Negatif

Bakteri Gram negatif memiliki kandungan peptidoglikan (PG) yang jauh lebih sedikit dibandingkan Gram positif. Namun, di bagian luar lapisan PG, terdapat membran luar yang terdiri dari lipoprotein, fosfolipid, dan lipopolisakarida. Karena struktur PG-nya yang tipis, bakteri Gram negatif lebih mudah terpengaruh oleh antibiotik seperti penisilin, yang bekerja dengan merusak peptidoglikan tersebut (Jannah, 2023).

#### D. Pewarnaan Gram

Salah satu metode pewarnaan yang umum digunakan untuk mengenali jenis bakteri adalah pewarnaan Gram. Melalui teknik ini, bakteri diklasifikasikan menjadi dua kelompok berdasarkan respon dinding selnya terhadap pewarna kristal violet atau safranin. Bakteri yang mempertahankan warna ungu setelah diberi kristal violet disebut Gram positif, contohnya *Clostridium perfringens* dan *Staphylococcus aureus*. Sementara itu, bakteri yang kehilangan warna ungu setelah dibilas dengan alkohol namun tetap berwarna merah muda karena menyerap pewarna safranin disebut Gram negatif, seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (James, 2008).

Beberapa jenis bakteri, seperti *Mycobacterium spp.*, tidak dapat diwarnai menggunakan metode pewarnaan Gram karena dinding selnya mengandung lipid dalam jumlah tinggi. Oleh karena itu, digunakan metode pewarnaan tahan asam untuk mengenalinya. Dengan teknik ini, sel bakteri akan tampak merah muda, sementara jaringan sekitarnya berwarna hijau. Bakteri yang sudah diwarnai dapat diamati bentuknya menggunakan mikroskop cahaya. Bentuk morfologi bakteri juga membantu dalam proses identifikasi, misalnya bentuk bulat (kokus), batang (basil), atau menyerupai koma (vibrio) (James, 2008).

Pewarnaan Gram adalah salah satu teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Salah satu zat pewarna yang

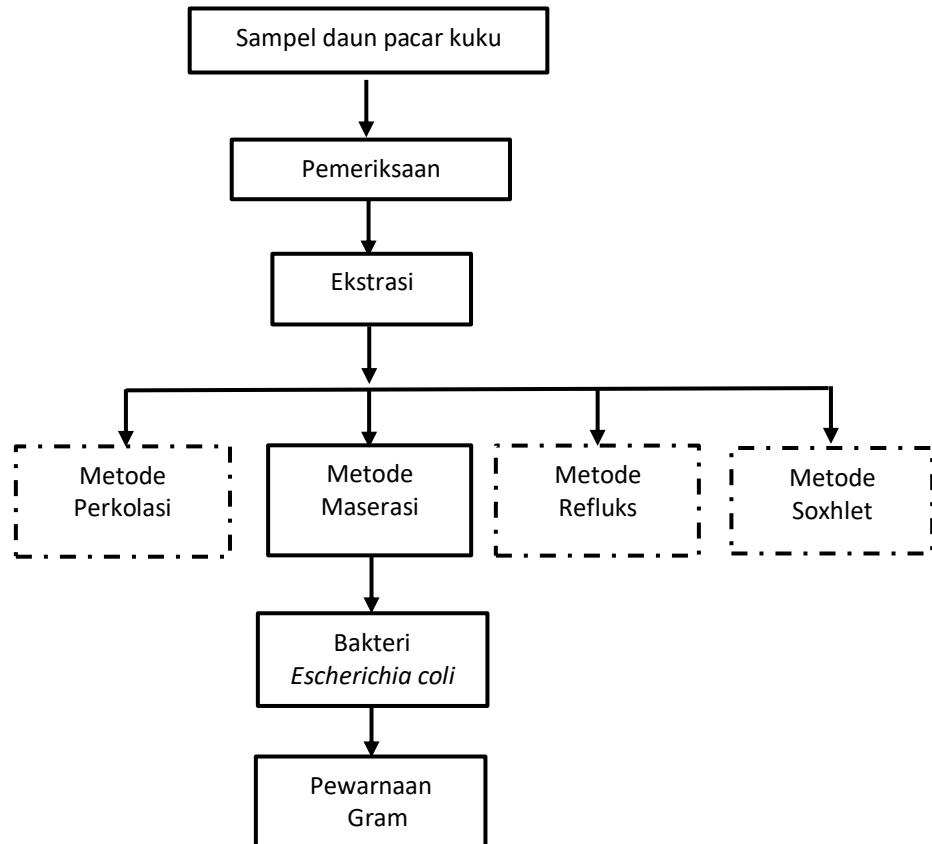
digunakan dalam metode ini adalah safranin. Namun, berbagai laporan telah menunjukkan bahwa safranin memiliki potensi toksitas dan risiko terhadap kesehatan, terutama akibat pencemaran dari limbah pewarna sintetis. Penggunaan zat pewarna sintetis dinilai berbahaya karena dapat menyebabkan penyakit serius seperti kanker, serta menimbulkan kerusakan pada organ ginjal dan hati (Asfiya et al., 2024).

Tujuan utama dari pewarnaan bakteri adalah untuk memberikan warna pada struktur-strukturnya agar terlihat lebih kontras dan jelas saat diamati. Pewarnaan Gram merupakan salah satu metode pewarnaan yang paling penting dan banyak digunakan dalam identifikasi bakteri. Proses pewarnaan ini dilakukan pada sediaan bakteri yang telah difiksasi, menggunakan beberapa larutan, yaitu: pewarna utama kristal violet, larutan yodium sebagai mordant, alkohol sebagai bahan pemucat, dan pewarna sekunder seperti safranin atau fuchsin. Bakteri Gram positif akan tetap mempertahankan warna ungu dari kristal violet, sedangkan bakteri Gram negatif akan kehilangan warna tersebut setelah dicuci dan akan tampak berwarna merah muda akibat pewarna safranin atau fuchsin (Amin et al., 2023).

Prinsip pewarnaan Gram didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel antara bakteri Gram positif dan Gram negatif. Saat ini, proses pewarnaan di laboratorium umumnya menggunakan zat pewarna sintetis, seperti safranin atau fuchsin (Edyani, 2020).

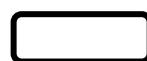
Bakteri dapat diidentifikasi melalui berbagai metode, salah satunya adalah pewarnaan Gram. Teknik ini memungkinkan pengamatan perbedaan warna antara bakteri Gram positif dan Gram negatif sebagai dasar interpretasi hasil identifikasi. Pewarnaan yang digunakan yaitu Kristal violet 0,5% - 1% yang memberi warna ungu pada sel bakteri, lugol 1% yang berfungsi untuk membentuk kompleks warna Kristal violet-iodin yang besar dan sulit keluar dari dinding sel terutama pada bakteri gram positif, alkohol 95% yang berfungsi sebagai penghilang warna, safranin 0,5%-1% yang berfungsi memberi warna merah pada bakteri gram negative yang telah kehilangan warna Kristal violet (Salsabila et al., 2023)

## B. Kerangka Teori



Tabel 3. 1. Kerangka Teori

Ket :



: Diteliti



: Tidak diteliti

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Desain penelitian**

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dengan pendekatan kualitatif, yang bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis L.*) sebagai alternatif pewarna pengganti safranin dalam metode pewarnaan Gram.

#### **B. Variabel Penelitian**

Variabel penelitian yaitu ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia Inermis L.*) dan *Escherichia coli*.

#### **C. Definisi Operasional**

1. Ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis L.*) merupakan hasil dari proses ekstraksi senyawa aktif yang terdapat dalam daunnya. Daun ini mengandung lawson, yaitu senyawa yang berperan sebagai pewarna alami serta memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antijamur, dan antioksidan.
2. Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu agen infeksius yang dapat menimbulkan berbagai penyakit, terutama infeksi primer pada saluran pencernaan seperti diare. Selain itu, bakteri ini juga dapat menyebabkan pneumonia akibat aspirasi, meningitis pada bayi yang baru lahir, serta septicemia.

3. Metode maserasi adalah teknik ekstraksi yang sederhana, dilakukan dengan merendam bahan dalam pelarut selama beberapa hari pada suhu ruang serta dilindungi dari paparan cahaya.

#### **D. Waktu dan Lokasi Penelitian**

1. Penelitian ini telah dilakukan pada bulan juni-juli 2025
2. Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Panrita Husada Bulukumba.

#### **E. Teknik Pengumpulan Data**

##### **1. Data Primer**

Data primer adalah data yang dikumpulkan secara langsung oleh peneliti di lapangan sesuai dengan kebutuhan penelitian. Data ini diperoleh melalui proses penentuan dan pengambilan sampel dari populasi, kemudian dilakukan pengumpulan data berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan. Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah Simple Random Sampling, yaitu metode pengambilan sampel secara acak. Disebut “simple” karena setiap anggota populasi memiliki peluang yang sama untuk terpilih sebagai sampel, tanpa mempertimbangkan tingkatan atau strata dalam populasi tersebut. (Amin, 2021).

Penentuan total jumlah sampel yang diperlukan dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rumus Federer.

Untuk uji eksperimen. Rumus *Federer* digunakan untuk menentukan jumlah pengulangan agar diperoleh data valid yaitu:

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

Keterangan:

t : Jumlah perlakuan kelompok (*Treatment*)

n : Jumlah pengulangan (*Replication*)

15 : Faktor derajar kebebasan umum

Maka perhitungan sampel sebagai berikut:

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$(5 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$4(n - 1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$4n = 19$$

$$n = \frac{19}{4}$$

$n = 4,75$  Dibulatkan menjadi 5

berdasarkan hasil perhitungan tersebut yaitu jumlah kelompok perlakuan ada 5 yakni, control positif, 25%, 50%, 75% dan 100% setiap kelompok tersebut diulang sebanyak 5 kali.

## 2. Data skunder

Data skunder adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan oleh orang yang melakukan penelitian dari sumber-sumber yang telah ada data ini digunakan untuk mendukung informasi primer yang telah diperoleh yaitu dari bahan pustaka, literatur, penelitian terdahulu, buku dan lain sebagainya (Inadjo et al., 2023).

## F. Instrumen Penelitian

### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, Nampan, Gunting, Kertas saring, Pipet tetes (*pyrex*), Pipet Pasteur, Beaker gelass (*pyrex*), Gelas kimia (*pyrex*), tabung reaksi, hotplate (IKA C-MAG HS 7), Rak tabung, Rak pewarnaan, Batang pengaduk (*pyrex*), Toples kaca, Aluminium voil, labu destilat (*pyrex*), pisau, objek gelas (*Sail Braind*), cover Glas (*Sail Braind*), bunsen, Mikroskop, Corong (*Pyrex*), Blender, labu erlenmeyer (*Pyrex*), wadah, pinset, pipet volume(*Pyrex*), tapis, ose bulat.

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, Aquades, Alkohol 95%, Ekstrak daun pacar kuku, Etanol 96%, gentian violet, lugol, safranin, spiritus.

### 3. Prosedur Pengambilan Sampel

1. Diambil daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda

2. Diambil daun yang tidak terkena hama
3. Diambil pada jam 8-10 pagi
4. Prosedur Penelitian

Dalam penelitian ini prosedur kerja menggunakan 3 tahap yakni;

a. *Pra analitik*

*Instrumen pembuatan ekstrak Daun pacar kuku:*

Metode yang digunakan dalam pembuatan ekstrak ini adalah metode *maserasi*

- 1) Dicuci daun pacar kuku
- 2) Dikeringkan dalam ruangan
- 3) Dihaluskan menggunakan blender
- 4) Ditimbang sebanyak 400 gr daun pacar kuku
- 5) Dimasukkan dalam botol kemudian ditambahkan dengan 1000 ml etanol 96%
- 6) Direndam selama 24 jam pada suhu ruang
- 7) Diambil endapan larutan lalu di saring menggunakan tapis
- 8) Disaring kembali menggunakan kertas saring

B. Metode *Destilasi*

- 1) Menyiapkan alat dan bahan serta rangkaian alat destilasi
- 2) Memasukkan sampel kedalam labu destilasi dan memasukkan thermometer hingga mengenai sampel

tersebut dengan cara digantung yang digunakan untuk mengatur ketetapan suhu

- 3) Menyalakan alat heating mantle sambil diatur suhunya 70°C
- 4) Proses destilasi berakhir jika ekstraksi dilakukan sampai seluruh Lawsone pada daun Pacar Kuku terekstraksi sempurna, dan jika tidak ada lagi pelarut yang menetes dan sampel menjadi kental

#### 5. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak daun pacar kuku

Pembuatan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dengan cara rumus sebagai berikut

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan:

N1 = Konsentrasi awal

V1 = Volume yang dicari

N2= Konsentrasi yang diinginkan

V2= Volume yang diinginkan

##### a. Konsentrasi 100%

- 1) Memipet 10 ml ekstrak daun pacar kuku lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml
- 2) Memindahkan ke botol reagen

b. Konsentrasi 75%

- 1) Memipet 7,5 ml ekstrak daun pacar kuku 100% lalu di masukkan kedalam labu ukur 10 ml
- 2) Ditambahkan aquades hingga tanda batas lalu di homogenkan
- 3) Memindahkan ke botol reagen

b. Konsentrasi 50%

- 1) Memipet 5 ml ekstrak daun pacar kuku 100% lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml
- 2) Ditambahkan aquades hingga tanda batas lalu di homogenkan
- 3) Memindahkan ke botol reagen

c. Konsentrasi 25%

- 1) Memipet 2,5 ml ekstrak daun pacar kuku 100 % lalu dimasukkan kedalam labu ukur
- 2) Ditambahkan aquades hingga tanda batas lalu di homogenkan
- 3) Memindahkan ke botol reagen

6. Pembuatan Preparat

- a. Memijarkan ose cincin diatas api bunsen
- b. Diambil kultur bakteri dengan menggunakan ose bulat dan letakkan di atas objek glass
- c. Membuat preparat dengan bebentuk oval kemudian dikeringkan

d. mengfiksasi sebanyak 3x di atas api Bunsen

b. *Analitik*

a) Preparat kontrol

- 1) Digenangi dengan larutan gentian violet selama 1 menit, buang kemudian bilas dengan aquades
- 2) Digenangi dengan larutan lugol selama 1 menit, buang bilas dengan aquades
- 3) Digenangi dengan larutan alkohol selama 20-30 detik, buang lalu bilas dengan aquades
- 4) Digenangi dengan larutan safranin selama 30 detik, buang lalu bilas dengan aquades
- 5) Dikeringkanlalu amati dengan menggunakan mikroskop pembesaran 100x menggunakan oil imersi

b) Preparat eksperimen

- 1) Digenangi dengan larutan gentian violet selama 1 menit, buang kemudian bilas dengan aquades
- 2) Digenangi dengan larutan lugol selama 1 menit, buang bilas dengan aquades
- 3) Digenangi dengan larutan alkohol selama 20-30 detik, buang lalu bilas dengan aquades
- 4) Digenangi dengan ekstrak daun pacar kuku masing-masing pada konsetrasi 25%, 50%, 75% dan 100% sebagai pengganti safranin selama 30menit, buang lalu bilas dengan aquades

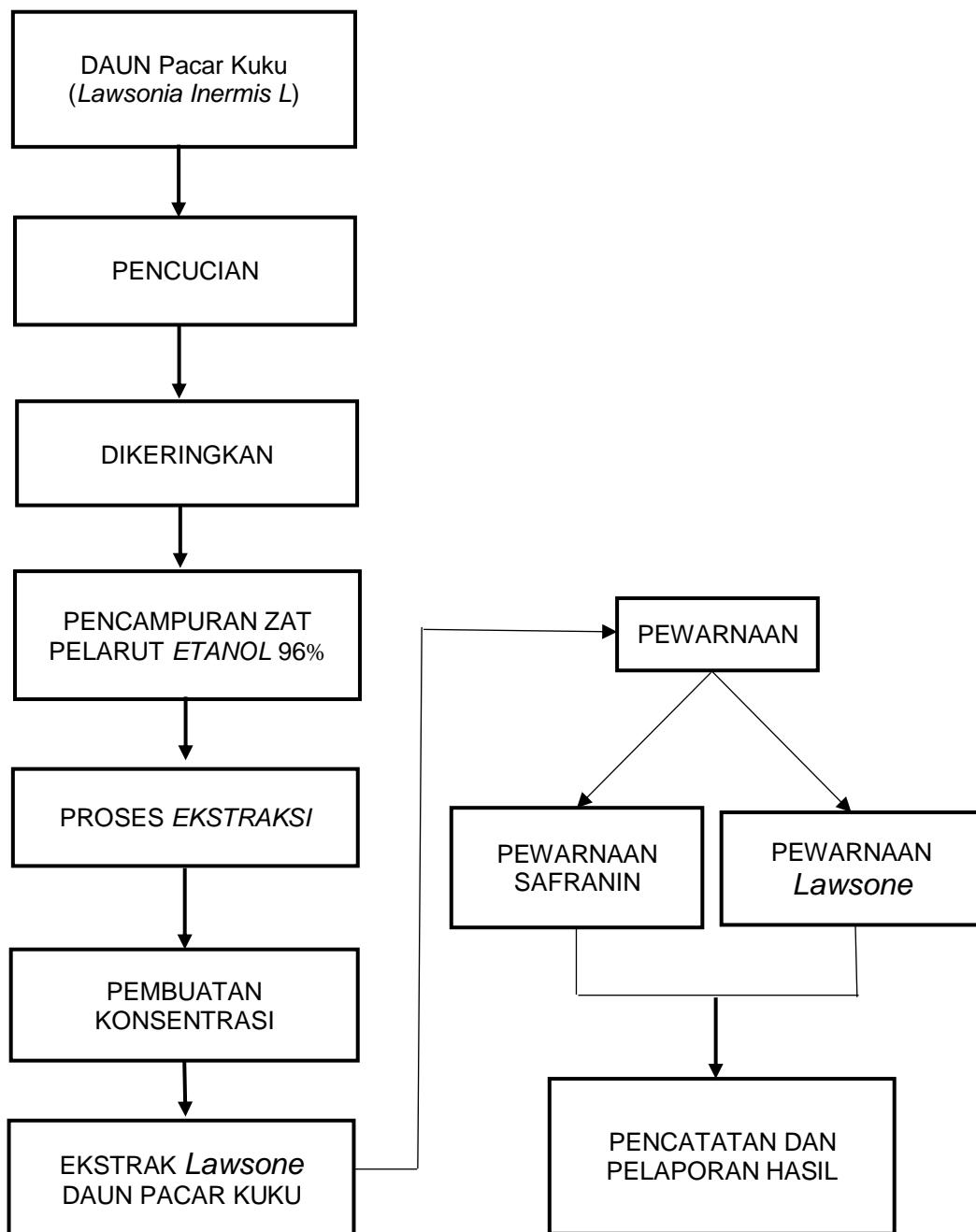
- 5) Dikeringkan lalu amati dengan menggunakan mikroskop pembesaran 100x

c. *Pasca Analitik*

Interpretasi hasil

Bakteri *Eschrichia coli* bentuk batang (*bacillus*), bersifat gram negatif dan mengikat zat warna terakhir (*safranin*).

## G. Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

## **H. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Pengolahan Data**

Tahap mendeskripsikan data, yaitu tabel frekuensi atau diagram, serta berbagai ukuran tendensi sentral maupun ukuran dispense tujuannya memahami karakteristik data sampel penelitian.

### **2. Analisis Data**

Analisis data dilakukan untuk mendapatkan hasil dengan membandingkan kualitas zat warna pada setiap konsentrasi.

Pengolahan data penelitian ini Menggunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) dengan analisis data menggunakan pengujian *Tests Of Normality* selanjutkan dilanjutkan dengan uji *Kruskal Walis*.

## **I. Etika dan Ijin Penelitian**

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan izin penelitian dari program studi Teknologi Laboratorium Medis Stikes Panrita Husada Bulukumba.

### **1. Integritas**

Berkomitmen dalam melakukan aktivitas penelitian dengan ikhlas, konsisten dalam berfikir dan melakukan tindakan.

### **2. Ketelitian**

Berusaha untuk menghindari kecerobohan, berhati-hati dalam melakukan penelitian, dan pengujian data. Serta berusaha melakukan yang terbaik untuk penelitian yang akan dilakukan.

### 3. Keterbukaan

Berbagi dan bias menggunakan data bersama, baik dari segi ide, sumber-sumber data yang diperoleh dan bias melakukan kerja sama yang saling menguntungkan. Dapat terbuka untuk dikenal dan menerima pendapat agar dapat melakukan perbaikan.

### J. Jadwal penelitian

| Kegiatan                    | Tahun 2024-2025 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
|-----------------------------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|
|                             | NOV             | DES | JAN | FEB | MAR | APR | MEI | JUN | JUL | AGST | SEPT |
| Pengajuan judul             |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
| Screening Judul & ACC Judul |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
| Pembimbing an Proposal      |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
| ACC Proposal                |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
| Ujian Proposal              |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
| Perbaikan proposal          |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
| Penelitian                  |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
| Bimbingan hasil penelitian  |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
| Ujian Hasil/Revisi          |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |
| Monoskrip                   |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |      |      |

## BAB IV

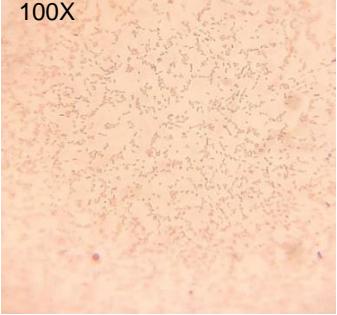
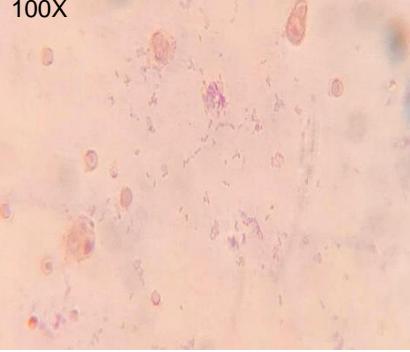
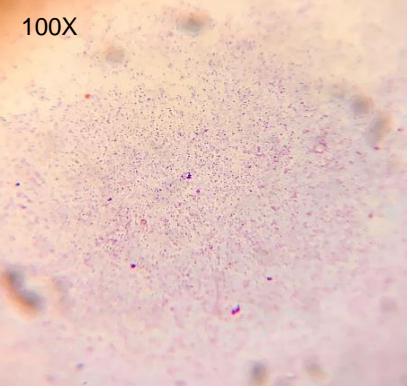
### HASIL PEMBAHASAN

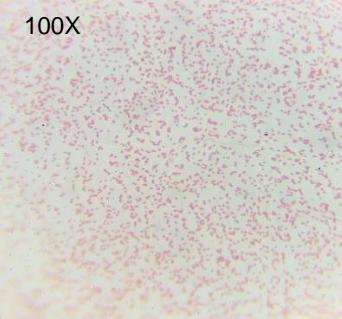
#### A. Hasil

Penelitian ekstrak daun pacar kuku sebagai pewarna alami pengganti safranin pada pewarnaan gram di lakukan di Laboratorium Mikrobiologi Stikes panrita Husada Bulukumba pada tanggal 04 – 11 juli dengan tujuan Untuk mengetahui potensi ekstrak daun pacar kuku sebagai pengganti pewarna sintesis (safranin) dalam pewarnaan gram bakteri *Escherchia coli*. Adapun hasil penelitian sebagai berikut:

**Gambar 2.3** Hasil pengamatan pewarnaan bakteri *Eschrichia coli* menggunakan ekstrak daun pacar kuku dan kontrol positif

| NO | GAMBAR  | HASIL IDENTIFIKASI   |
|----|---|--|
| 1  | <br>(a) 100% | Berbentuk batang (basil), berwarna merah dan tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti rantai |

|   |  |  |
|---|--|--|
| 2 | <br>100X<br>(b) 75%   | Berbentuk batang (basil), berwarna merah dan tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti rantai |
| 3 | <br>100X<br>(c) 50%  | Bentuk dan warna bakteri tidak jelas   |
| 4 | <br>100X<br>(d) 25% | Bentuk dan warna bakteri tidak jelas   |

|   |   |  |
|---|---|--|
| 5 | <br>100X<br><br>(e) control+ | Berbentuk batang (basil), berwarna merah dan tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti rantai |
|---|---|--|

Gambar 2.3 Hasil pengamatan

Berdasarkan Gambar 2.3 hasil pengamatan pewarnaan bakteri *Eschrichia coli* yang menggunakan ekstrak daun pacar kuku sebagai pewarna alami pengganti safranin dan dilihat di mikroskop dengan pengulangan 5 kali dan 5 kontrol positif didapatkan hasil bakteri berwarna merah.

## B. Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan sampel ekstrak daun pacar kuku dan diawali dengan melakukan sterilisasi alat yang akan digunakan, menggunakan oven, tujuan dilakukannya sterilisasi alat yaitu agar bakteri yang ada pada alat mati dan tidak menyebabkan kontaminasi pada saat penelitian, kemudian dilanjutkan dengan melakukan pembuatan ekstrak daun pacar kuku.

Pembuatan ekstrak daun pacar kuku diawali dengan penimbangan daun pacar kuku, cuci dengan air dan dianginkan hingga kering, kemudian diblender hingga halus lalu direndam selama 24 jam menggunakan etanol dan melakukan proses penyaringan, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan ekstrak daun pacar kuku.

Pembuatan ektrak daun pacar kuku diawali dengan menyiapkan 4 tabung reaksi, pada konsentrasi 100% ditambahkan ektrak daun pacar kuku sebanyak 10ml, konsentrasi 75% ditambahkan 7,5ml ekstrak daun pacar kuku kemudian di tambahkan aquades sebanyak 2,5ml, pada konsentrasi 50% ditambahkan 5ml ekstrak daun pacar kuku kemudian ditambahkan aquades 5ml, pada konsentrasi 25% ditambahkan ektrak daun pacar kuku 2,5ml kemudian ditambahkan 8,5 ml aquades.

Pada pewarnaan gram kali ini menggunakan cristal violet, lugol, alkohol, ekstrak daun pacar kuku yang berperan sebagai pemeran utama pada penelitian ini, dan safranin sebagai control positif. Pewarnaan gram diawali dengan pembuatan pereparat secara melingkar pada ojek glass yang sudah difiksasi di atas api Bunsen, dengan jumlah 30 objek glas, 5 kontrol positif, dan 25 objek glas untuk konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25% dengan pengulangan sebanyak 5 kali, tujuan dilakukannya pengulangan yaitu untuk memberikan hasil yang lebih akurat.

Pewarnaan bakteri *Escherichia coli* kemudian dilakukan menggunakan ekstrak daun pacar kuku sebagai pewarna alami pengganti safranin. Prosesnya meliputi pemberian kristal violet, diikuti pencucian dengan akuades. Selanjutnya, lugol ditambahkan, dicuci kembali, dan dilanjutkan dengan alkohol hingga warna pada preparat luntur. Tahap terakhir adalah pemberian ekstrak daun pacar kuku, diikuti pencucian dengan akuades, dan pengeringan. Untuk kontrol positif, prosedur pewarnaan standar dengan safranin digunakan pada tahap akhir. Semua preparat kemudian diamati pada mikroskop dengan perbesaran 100x.

Karakteristik *Escherichia coli* dalam pewarnaan Gram adalah berbentuk batang (basil) dan bersifat Gram negatif. Ini berarti bakteri akan mengikat zat warna terakhir (safranin), sehingga tampak berwarna merah. Hasil pengamatan pada Gambar 2.3 menunjukkan bahwa pewarnaan *E. coli* menggunakan ekstrak daun pacar kuku menghasilkan bakteri berbentuk batang dan berwarna merah, konsisten dengan hasil pada kontrol positif yang menggunakan safranin. Dengan demikian, ekstrak daun pacar kuku terbukti mampu mewarnai bakteri dengan intensitas warna merah yang serupa.

Ekstrak daun pacar kuku menunjukkan kemampuan pewarnaan bakteri yang baik pada konsentrasi 100% dan 75%. Pada konsentrasi ini, warna yang dihasilkan tampak jelas di bawah mikroskop, memungkinkan morfologi bakteri untuk diamati dengan tegas. Hal ini mengindikasikan bahwa kadar lawson sebagai zat aktif cukup kuat untuk berinteraksi dan menempel pada dinding sel *E. coli*, yang merupakan bakteri Gram negatif, sehingga ekstrak efektif sebagai pewarna alami. Sebaliknya, pada konsentrasi 50% dan 25%, kualitas pewarnaan menurun signifikan, mengakibatkan warna dan bentuk bakteri menjadi tidak jelas. Kondisi ini menunjukkan bahwa ekstrak pada konsentrasi rendah belum mampu berfungsi secara optimal sebagai pewarna kontras. Melemahnya daya pewarnaan dapat diatribusikan pada jumlah *lawsone* yang tidak mencukupi untuk berinteraksi secara efektif dengan dinding sel bakteri.

Dalam proses ekstrasi daun pacar kuku, lama perendaman perlu di perhatikan secara cermat. Hal ini dikarenakan perendaman yang terlalu

singkat atau terlalu lama dapat berdampak langsung terhadap kestabilan senyawa aktif yang terkandung di dalam daun tersebut, terutama senyawa lawsone yang menjadi komponen utama pewarna alami. Jika daun pacar kuku direndam terlalu singkat, maka proses penarikan senyawa bioaktif menjadi tidak maksimal. Akibatnya, hasil ekstrak akan memiliki kadar senyawa yang rendah dan berpotensi mengurangi efektivitas baik sebagai pewarna alami maupun sebagai anti bakteri.

Kondisi lingkungan seperti suhu, Ph, jenis pelarut, dan cahaya turut mempengaruhi stabilitas ekstrak. Penggunaan pelarut seperti etanol dapat membantu menjaga kestabilan senyawa aktif dibandingkan pelarut air karena memiliki sifat anti mikroba alami dan mampu melindungi senyawa dari degradasi oksidatif. Selain itu, menyimpan bahan selama perendaman dalam wadah gelap dan tertutup dapat membantu memperlambat proses kerusakan senyawa. Untuk menjaga kualitas dan efektivitas ekstrak daun pacar kuku, maka penting untuk menentukan durasi perendaman yang tepat serta memperhatikan lingkungan. Dengan memperhatikan faktor – faktor ini, ekstrak yang dihasilkan dapat mempertahankan kandungan senyawa aktif secara optimal.

Lama pewarnaan merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan pewarnaan Gram, terutama ketika menggunakan pewarna alami seperti ekstrak daun pacar kuku. Dalam prosedur pewarnaan Gram, pewarna penutup (counterstain) seperti safranin berfungsi untuk mewarnai bakteri Gram negatif, seperti Escherichia coli, agar tampak jelas di bawah mikroskop. Penggantian safranin dengan bahan alami seperti ekstrak daun

pacar kuku membutuhkan perhatian lebih terhadap durasi kontak antara pewarna dengan preparat, karena daya serap dan intensitas warnanya berbeda dengan pewarna sintetis.

Pewarnaan bakteri *Escherichia coli* menggunakan ekstrak daun pacar kuku menghasilkan warna merah pada sel bakteri dengan morfologi batang yang terlihat jelas. Namun, perlu dicatat bahwa intensitas warna merah yang dihasilkan ekstrak daun pacar kuku cenderung lebih pudar atau kurang pekat dibandingkan dengan warna merah cerah yang diperoleh dari control positif menggunakan safranin. Selain itu, terdapat kemungkinan adanya sedikit perbedaan dalam keseragaman pewarnaan antar sel bakteri. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan lawsone dalam ekstrak yang lebih rendah dibandingkan safranin murni, atau oleh keberadaan senyawa lain dalam ekstrak yang memengaruhi proses penyerapan warna. Meskipun demikian, warna yang dihasilkan masih cukup memberikan kontras visual untuk mengamati bentuk sel bakteri.

Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh niken. (2023) dengan judul “Inovasi ekstrak (*Lawsonia inermis L*) sebagai pewarna alternatif untuk pewarnaan bakteri *Escherichia Coli*” penelitian ini sama – sama menggunakan bakteri *Escherichia Coli* dan menggunakan konsentrasi 75%, 100% hasil menunjukkan ekstrak cukup efektif untuk mewarnai bakteri *Escherichia Coli* dengan visual field yang jelas, bentuk bakteri terjaga dan perbandingan warna yang masih layak dibandingkan control, sedangkan pada konsentrasi 25%, dan 50% bakteri tidak dapat terwarnai. Penelitian tersebut memiliki kesamaan dengan penelitian yang saya lakukan, pada

konsentrasi 25% dan 50% bakteri *Escherichia Coli* tidak dapat terwarnai ini biasa disebabkan oleh faktor seperti kandungan pigmen lawsone rendah dan stabilitas pigmen rendah pada larutan encer.

Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sunita Damayanti *et al.* (2024) dengan judul “Pengaruh pH Terhadap Stabilitas Daun Pacar Kuku sebagai Counterstain Alternatif pada Pewarnaan Gram” menunjukkan bahwa ekstrak daun pacar kuku pada pH 7 tidak stabil dalam mewarnai bakteri *Escherichia coli*. Penelitian tersebut memiliki kesamaan dengan penelitian yang saya lakukan, yaitu sama-sama menggunakan ekstrak daun pacar kuku sebagai pewarna alternatif. Namun, terdapat perbedaan pada pH yang digunakan. Dalam penelitian saya, penggunaan pH 4 terbukti lebih stabil dan mampu mewarnai bakteri *Escherichia Coli* dengan lebih baik dibandingkan pH 7 yang digunakan oleh Sunita Damayanti *et al.*

Hasil penelitian Yasmin nurul Jannah 2023 dengan penelitian yang saya lakukan juga sama – sama menggunakan bakteri gram negative, hanya saja pada hasil penelitiannya ada sedikit perbedaan. Ini bisa saja dipengaruhi oleh faktor Ph larutan ektrak yang digunakan dan kandungan antosianin dari masing – masing daun tersebut kandungan daun pacar kuku dan daun bayam merah pastinya berbeda. Hal ini tidak menutup kemungkinan menjadi salah satu faktor perbedaan antara penelitian yang saya lakukan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yasmin Nurul Jannah 2023.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pacar kuku berpotensi digunakan sebagai alternatif pewarna alami pengganti zat pewarna sintetis (safranin) dalam proses pewarnaan Gram terhadap bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi 100% dan 75% mampu memberikan pewarnaan yang jelas pada dinding sel bakteri *E. coli*, sedangkan konsentrasi 50% dan 25% tidak menunjukkan hasil pewarnaan yang memadai.

#### **B. Saran**

1. Untuk peneliti selanjutnya diharapkan analisis fitokimia lanjutan pada ekstrak daun pacar kuku. Hal ini krusial untuk mengidentifikasi secara spesifik pigmen atau senyawa aktif yang berperan dalam efek pewarnaan.
2. Diharapkan untuk peneliti selanjutnya dapat mengeksplorasi berbagai metode ekstraksi (misalnya, maserasi, soxhlet, ultrasonik) dan jenis pelarut.
3. Untuk menjamin kualitas dan keandalan ekstrak daun pacar kuku sebagai pewarna alami, penting untuk menginvestigasi stabilitasnya terhadap berbagai faktor lingkungan, seperti cahaya, suhu, dan waktu penyimpanan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agusphamita, C. (2020). *UJI DAYA HAMBAT HAND SANITIZER DARI DAUN SIRI piper betle L TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Escherichia coli.*
- Amin, Ghozali, Z., Rusdiana, M., & Efendi, S. (2023). Identifikasi Bakteri dari Telapak Tangan dengan Pewarnaan Gram Identification of Bacteria from Palms with GramStain. *CHEMVIRO:Jurnal Kimia dan Ilmu Lingkungan*, 1 (1), 30–35. <https://doi.org/10.56071/chemviro.v1i1.563>
- Amin, J. (2021). Pengaruh Kualitas Produk, Harga, dan Promosi terhadap Keputusan Pembelian Indomie di Kecamatan Tarumajaya. *Stie*, 1(3), 41–52. <https://www.ejournal.stitpn.ac.id/index.php/bintang/article/view/716> / 476
- Anggraeni, defi lusi. (2022). No EFEKTIVITAS TANAMAN INAI (*Lawsonia inermis* L) SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI. *Braz Dent J.*, 33(1), 1–12.
- Asfiya, N. A., Novalina, D., & Astuti, T. D. (2024). Potensi Dan Uji Stabilitas Ekstrak *Lawsonia Inermis* Sebagai Cat Penutup Pada Gram Staining Dengan Variasi Suhu Potency and Stability Test of *Lawsonia inermis* Extract as Counterstain on Gram Staining with Temperature Variation. *Borneo Journal Of Medical Laboratory Technology*, 6(2), 540–546. <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt>
- Damayanti, S., Novalina, D., & Hadi, W. S. (2024). Pengaruh pH Terhadap Stabilitas Daun Pacar Kuku Sebagai Counterstain Alternatif pada Pewarnaan Gram The effect of pH on the stability of henna nail leaves as an alternative counterstain to gram staining. *Jurnal Analis Kesehatan*, 13(63), 1–7.
- Dillasaloma. (2023). (D. Dillasamola (ed.)). penerbit adab. [https://repository.ar-raniry.ac.id/id/eprint/27603/1/Nurul Safwati\\_170703004\\_FST\\_BIO.pdf](https://repository.ar-raniry.ac.id/id/eprint/27603/1/Nurul_Safwati_170703004_FST_BIO.pdf)
- Edyani, J. S. (2020). Systematic Review: Pemanfaatan Bahan Alami Sebagai Pewarna Alternatif Pengganti Safranin Pada Pewarnaan Gram. *Jurnal Mipa*, 21(11), `43.
- Fauznah, W., Hasibuan, Y. H., Nasution, Y. S. S., & Batubara, M. S. (2019). PEMANFAATAN DAUN PACAR (*Lawsonia inermis* L.) SEBAGAI ANTI JAMUR PADA KUKU. *Eksakta : Jurnal Penelitian Dan Pembelajaran MIPA*, 4(2), 110. <https://doi.org/10.31604/eksakta.v4i2.110-119>
- Hilmi, R. Z., Hurriyati, R., & Lisnawati. (2018). *EKSTRASI ZAT WARNA*

**ALAMI DARI DAUN PACAR KUKU (*LAWSAONIA INERMIS*) dan DAUNTARUM (*indigofera tinctoria*) DENGAN METODE ULTRA SOUND ASSISTED EXSTRACTION (Vol. 3, Issue 2).**

- Inadjo, I. M., Mokalu, B. J., & Kandowangko, N. (2023). Adaptasi Sosial SDN 1 Pineleng Menghadapi Dampak Covid-19 Di Desa Pineleng 1 Kecamatan Pineleng Kabupaten Minahasa. *Journal Ilmiah Society*, 3(1), 1–7. <https://journal.unpas.ac.id/index.php/pendas/article/view/8077>
- ir syamsul hidayat, R. (2015). *KITAB TUMBUHAN OBAT* (F. nurohman Ai (ed.)). Agriflo. [https://www.google.co.id/books/edition/Kitab\\_Tumbuhan\\_Obat/vQLLCgAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=morfologi+daun+pacar+kuku&pg=PA292&printsec=frontcover](https://www.google.co.id/books/edition/Kitab_Tumbuhan_Obat/vQLLCgAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=morfologi+daun+pacar+kuku&pg=PA292&printsec=frontcover)
- Irawan, B. (2010). Peningkatan Mutu Minyak Nilam Dengan Ekstraksi Dan Destilasi Pada Berbagai Komposisi Pelarut. *Universitas Diponegoro. Semarang.*, 13.
- James, J. (2008). *PRINSIP-PRINSIP SAINS UNTUK KEPERAWATAN* (rina astika wati amalia safitri (ed.); copyright). penerbit erlangga. <https://books.google.co.id/books>
- Jannah, Y. N. (2023). *Ekstrak, Pemanfaatan Bayam, Daun Alami, Pewarna Pewarnaan, Pada Studi, Program Analis, Dili Bulukumba, Panrita Husada.*
- Nunung Hasanah. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam. *Jurnal Pena Medika*, 5(1), 55–59.
- Nurmaila, F., Muawanah, I. A. U., & Widyatara, A. B. (2024). *EFEKTIVITAS BUAH DELIMA SEBAGAI ALTERNATIF SAFRANIN*. 5, 11501–11507.
- Putri, A. (2023). *Prevalensi Escherichia coli pada feses sapi simmental di pasar ternak kota payakumbuh.*
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko*. IPB Press, 1–151.
- Safnawati, N. (2022). *KUKU (Lawsonia inermis Linn.) TERHADAP BAKTERI Salmonella typhi DAN Staphylococcus aureus UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ETANOL DAUN PACAR KUKU (Lawsonia inermis Linn.) TERHADAP BAKTERI Salmonella typhi DAN Staphylococcus aureus.*
- Salsabila, Z. N., Lanny Mulqie, & Umi Yuniarni. (2023). Pewarnaan Gram Bakteri Isolat Klinis pada Pasien ISK di RSUD Karawang. *Bandung*

*Conference Series: Pharmacy*, 195–202. <https://doi.org/10.29313/bcsp.v3i2.8468>

## Lampiran 1. Surat Izin Penelitian Dari DPMPTSP Provinsi Sulsel



### PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU

Jl. Bougenville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936  
Website : <http://simap-new.sulselprov.go.id> Email : [ptsp@sulselprov.go.id](mailto:ptsp@sulselprov.go.id)  
Makassar 90231

---

|          |   |                        |                  |
|----------|---|------------------------|------------------|
| Nomor    | : | 14677/S.01/PTSP/2025   | Kepada Yth.      |
| Lampiran | : | -                      | Bupati Bulukumba |
| Perihal  | : | <u>Izin penelitian</u> |                  |

---

di-  
Tempat

Berdasarkan surat Ketua Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKES Panrita Husada Bulukumba Nomor : 725/STIKES-PHB/SPm/05/VII/2025 tanggal 01 Juli 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a : RISKA AYU ANDINI  
Nomor Pokok : E2207034  
Program Studi : Teknologi Laboratorium Medis  
Pekerjaan/Lembaga : Mahasiswa (D3)  
Alamat : Jl. Pend. Desa Taccorong Kec. Gantarang, Bulukumba



Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara , dengan judul :

" PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN PACAR KUKU (Lawsonia inermis L) SEBAGAI PENGGANTI SAFRANIN DALAM PEWARNAAN GRAM BAKTERI Escherichia coli "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. **02 Juli s/d 02 Agustus 2025**

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami **menyetujui** kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar  
Pada Tanggal 02 Juli 2025

KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU  
SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN



**ASRUL SANI, S.H., M.Si.**

Pangkat : PEMBINA UTAMA MUDA (IV/c)

Nip : 19750321 200312 1 008

Tembusan Yth

1. Ketua Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKES Panrita Husada Bulukumba;
2. Pertinggal.

## Lampiran 2. Surat Izin Penelitian Dari Dpmptsp Kabupaten bulukumba



### SURAT IZIN PENELITIAN NOMOR : 408/DPMPTSP/IP/VII/2025

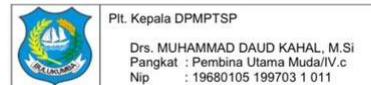
Berdasarkan Surat Rekomendasi Teknis dari BAKESBANGPOL dengan Nomor: 074/0409/Bakesbangpol/VII/2025 tanggal 9 Juli 2025, Perihal Rekomendasi Izin Penelitian maka yang tersebut dibawah ini :

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Nama Lengkap          | : Riska Ayu Andini  |
| Nomor Pokok           | : E.22.07.034   |
| Program Studi         | : D3 Teknologi Laboratorium Medis   |
| Jenjang               | : D3 Teknologi Laboratorium Medis   |
| Institusi             | : STIKes Panrita Husada Bulukumba   |
| Tempat/Tanggal Lahir  | : Bulukumba / 2003-12-14  |
| Alamat                | : jl cendana  |
| Jenis Penelitian      | : kualitatif  |
| Judul Penelitian      | : PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN PACAR KUKU (Lawsonia inermis L) SEBAGAI PENGGANTI SAFRANIN DALAM PEWARNAAN GRAM BAKTERI Escherichia coli |
| Lokasi Penelitian     | : bulukumba   |
| Pendamping/Pembimbing | : Asriyani Ridwan, S.ST., M.Biomed, Dr. Muriyati, S. Kep, Ns, M. Kes  |
| Instansi Penelitian   | : Stikes panrita Husada Bulukumba   |
| Lama Penelitian       | : tanggal 01/07/2025 s/d 31/07/2025   |
| Jenis Kelamin         | : Perempuan   |
| No. Hp                | : 085820354162  |

Sehubungan dengan hal tersebut di atas, pada prinsipnya kami mengizinkan yang bersangkutan untuk melaksanakan kegiatan tersebut dengan ketentuan sebagai berikut :

1. Mematuhi semua Peraturan Perundang - Undangan yang berlaku dan mengindahkan adat - istiadat yang berlaku pada masyarakat setempat;
2. Tidak mengganggu keamanan/ketertiban masyarakat setempat
3. Melaporkan hasil pelaksanaan penelitian/pengambilan data serta menyerahkan 1(satu) eksamplar hasilnya kepada Bupati Bulukumba Cq. Kepala Badan Kesatuan Bangsa dan Politik Kab.Bulukumba;
4. Surat izin ini akan dicabut atau dianggap tidak berlaku apabila yang bersangkutan tidak memenuhi ketentuan sebagaimana tersebut di atas, atau sampai dengan batas waktu yang telah ditentukan kegiatan penelitian/pengumpulan data dimaksud belum selesai.

Dikeluarkan di : Bulukumba  
Pada Tanggal : 10 Juli 2025



Dokumen ini telah ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat elektronik yang diterbitkan oleh Balai Sertifikasi Elektronik (BSrE), BSN

### Lampiran 3. Keterangan Bebas Lab

 **YAYASAN PANRITA HUSADA BULUKUMBA**  
**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN**  
**PANRITA HUSADA BULUKUMBA**  
**TERAKREDITASI BAN-PT** 

*Jln. Pendidikan Desa Taccorong Kec. Gantarang Kab. Bulukumba Telp. (0413), Email: www.stikespanritahusadabulukumba.ac.id*

**SURAT KETERANGAN**

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Fani Dia Lestari, S.Tr. A.K  
Jabatan : Laboran DIII TLM

Dengan ini menerapkan bahwa :

Nama : Riska Ayu Andini  
Nim : E.22.07.034

Judul Penelitian : Pemanfaatan Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia Inermis L*) Sebagai Pengganti Safranin Dalam Pewarnaan Gram Bakteri *Escherichia Coli*

Dengan ini menyatakan bahwa telah melakukan penelitian sejak tanggal 01 Juli – 31 Juli 2025.  
Demikian surat keterangan ini untuk dipergunakan sebagaimana semestinya.

Bulukumba, 28 Juli 2025

  
(Fani Dia Lestari)

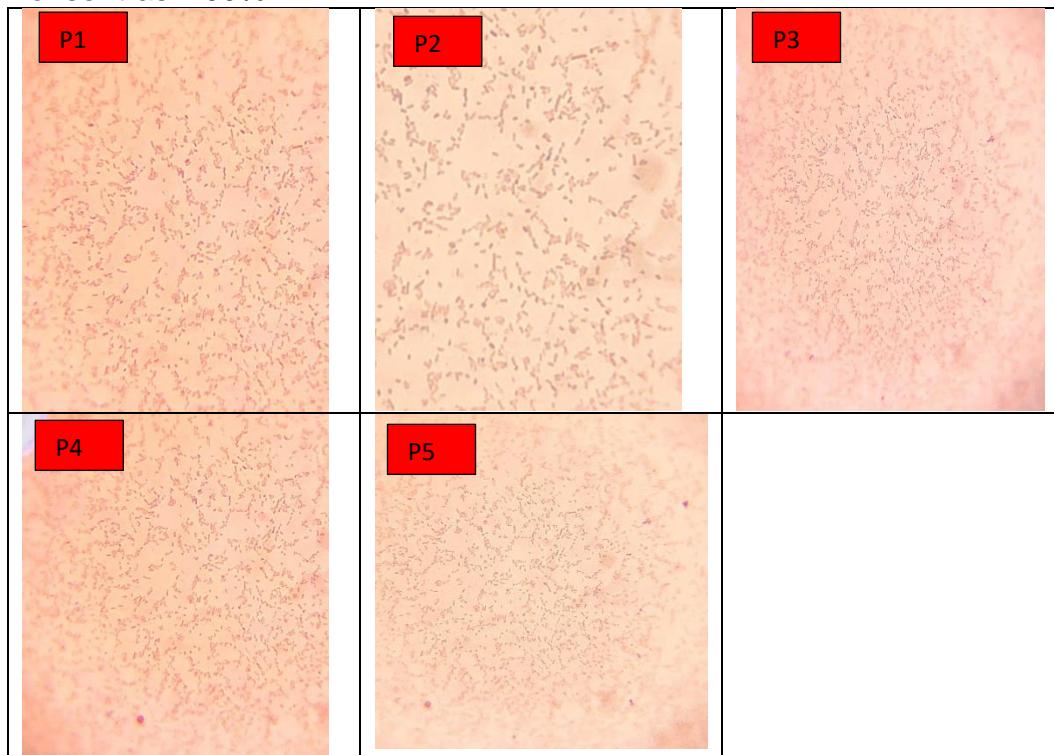
#### Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian



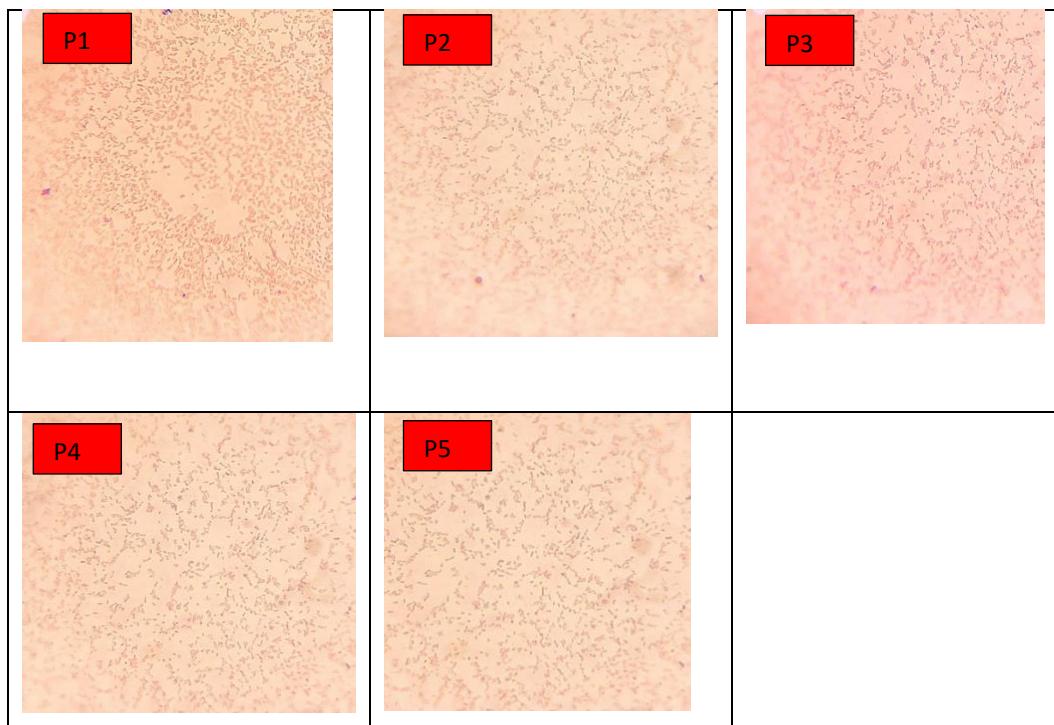


### Lampiran 5. Hasil Pengamatan

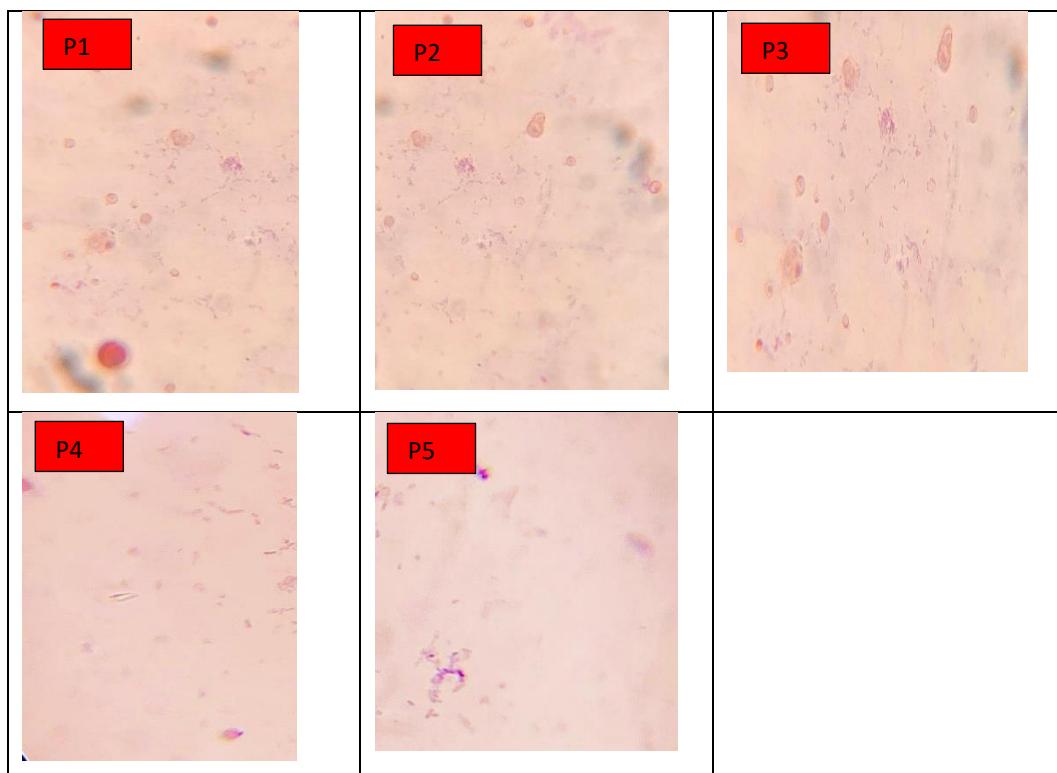
Konsentrasi 100%



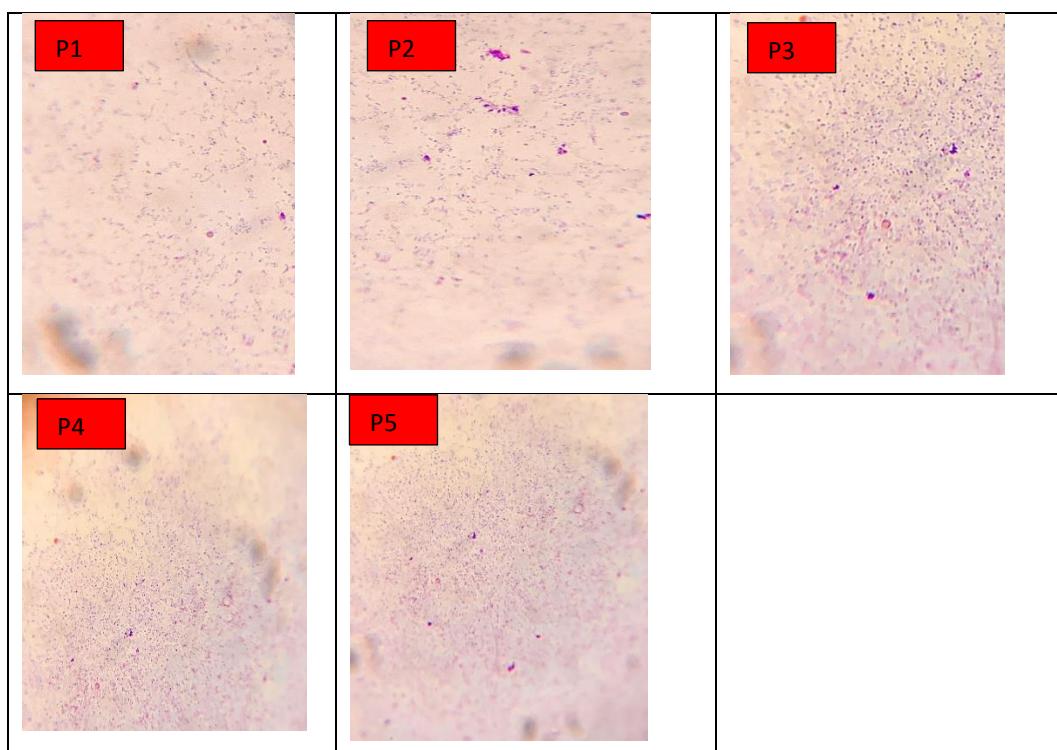
Konsentrasi 75%



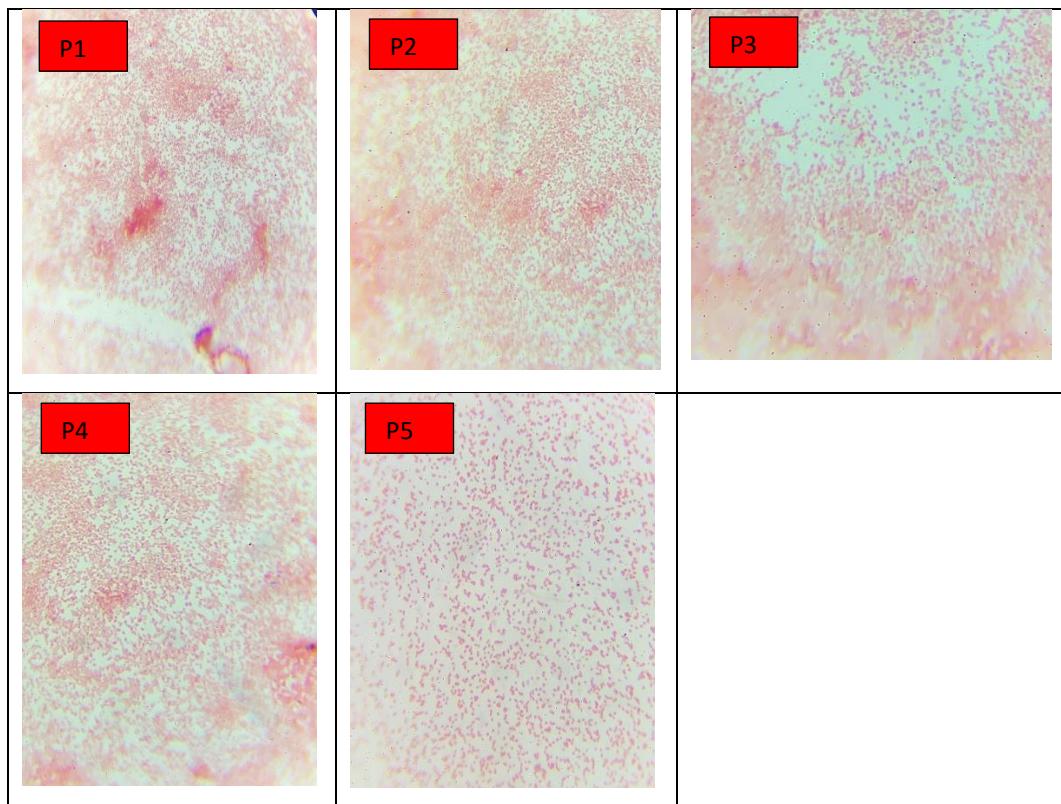
Konsentrasi 50%



Konsentrasi 25%



**Kontrol Positif (+)**



**Lampiran 6.** Rumus Pembuatan Konsentrasi

- a. Pembuatan konsentrasi 100% dalam 10ml pada konsentrasi 100%

Dik : N1=100%

N2=100%

V2=10mL

Dit : V1.....?

Penyelesaian:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 100$$

$$V_1 \times 100 = 1000$$

$$V_1 = 1000/100$$

$$V_1 = 10$$

Jadi dalam membuat konsentrasi 100% dalam 10ml Ekstrak  
digunakan sebanyak 10 ml.

- b. Pembuatan konsentrasi 75%

Dik : N1=100%

N2=75%

V2=10 mL

Dit : V1.....?

Penyelesaian:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 75$$

$$V_1 \times 100 = 750$$

$$V_1 = 750/100$$

$$V_1 = 7,5$$

Jadi dalam membuat konsentrasi 100% dalam 10ml Ekstrak  
digunakan sebanyak 7,5 ml.

- c. Pembuatan konsentrasi 50%

Dik : N1=100%

N2=50%

V2=10 mL

Dit : V1.....?

Penyelesaian:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 50$$

$$V_1 \times 100 = 500$$

$$V_1 = 500/100$$

$$V_1 = 5$$

Jadi dalam membuat konsentrasi 100% dalam 10ml Ekstrak  
digunakan sebanyak 5 ml.

- d. Pembuatan konsentrasi 25% dalam 10ml pada konsentrasi 100%

Dik :  $N_1=100\%$

$N_2=25\%$

$V_2=10 \text{ mL}$

Dit :  $V_1 \dots ?$

Penyelesaian:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 = 10 \times 25$$

$$V_1 \times 100 = 250$$

$$V_1 = 250/100$$

$$V_1 = 2,5$$

Jadi dalam membuat konsentrasi 100% dalam 10ml Ekstrak  
digunakan sebanyak 2,5 ml.

## **DAFTAR RIWAYAT HIDUP**



Nama : Riska Ayu Andini  
Nim : E.22.07.034  
Tempat/Tanggal Lahir : Bulukumba, 14 Desember 2003  
Alamat : Jl.Cendana, Kel. Caile, Kec. Ujung Bulu, Kab. Bulukumba  
Institusi : STIKes Panrita Husada Bulukumba  
Angkatan : Ketujuh (2022/2025)  
Biografi : - SDN 3 Kasimpureng Tahun Lulus 2015  
- SMPN 1 Bulukumba Tahun Lulus 2018  
- SMK Teknologi Informatika Bulukumba  
Tahun Lulus 2021