

**PERBANDINGAN PEWARNAAN GRAM TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN UMBI  
UWI (*Dioscorea alata*) DAN KRISTAL VIOLET**

**KARYA TULIS ILMIAH**



**Oleh :**

**NURUL MUTMAINNAH**

**E.22.07.031**

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS**

**SEKOLAH TINGGI KESEHATAN (STIKes)**

**PANRITA HUSADA BULUKUMBA**

**2025**

**PERBANDINGAN PEWARNAAN GRAM TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN UMBI  
UWI (*Dioscorea alata*) DAN KRISTAL VIOLET**

**KARYA TULIS ILMIAH**

Untuk Memenuhi Persyaratan Mencapai Gelar Ahli Madya Teknologi  
Laboratorium Medis (A.Md. Kes) Pada Program Studi DIII Teknologi  
Laboratorium Medis Stikes Panrita Husada Bulukumba



Oleh :

**NURUL MUTMAINNAH**

**E.22.07.031**

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN (STIKes)  
PANRITA HUSADA BULUKUMBA  
2025**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

**PERBANDINGAN PEWARNAAN GRAM TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN  
UMBI UWI (*Dioscorea alata*) DAN KRISTAL VIOLET**

**KARYA TULIS ILMIAH**

Disusun Oleh:

Nurul Mutmainnah

NIM. E.22.07.031

KTI ini Telah Disetujui

Tanggal 14 Juli 2025

Pembimbing Utama



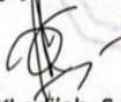
Asriyani Ridwan, S.ST.,M.Biomed  
NIDN. 0905059302

Pembimbing Pendamping



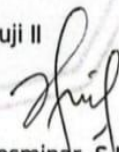
Dzikra Arwie, S.Si.,M.Kes  
NIDN. 0924078805

Penguji I



Siti Khadijah, S.ST.,M.Kes  
NIP. 19740715 199403 2 006

Penguji II



Hj. Rosminar, S.KM.,M.Kes  
NIP. 19740321 199303 2 003

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PERBANDINGAN PEWARNAAN GRAM TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN UMBI UWI  
(*Dioscorea alata*) DAN KRISTAL VIOLET**

Disusun Oleh :

NURUL MUTMAINNAH  
NIM. E.22.07.031

Telah Dipertahankan Di Depan Tim Penguji Pada

Tanggal 31 Juli 2025

Dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat

**MENYETUJUI**

1. Penguji I  
Siti Khadijah, S. ST., M.Kes  
NIP. 19740715 199403 2 006
2. Penguji II  
Hj. Rosminar, S.KM., M.Kes  
NIP.19740321 199303 2 003
3. Pembimbing Utama  
Asriyani Ridwan, S.ST., M.Biomed  
NIDN. 0905059302
4. Pembimbing Pendamping  
Dzikra Arwie, S.Si., M.Kes  
NIDN. 0924078805

(.....)  
(.....)  
(.....)  
(.....)

Mengetahui,  
Ketua STIKES Panrita Husada  
Bulukumba

Dr. Muriyati, S.Kep., Ns., 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 : Nurul Mutmainnah

NIM : E.22.07.032

Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis

Judul KTI : Perbandingan Pewarnaan Gram Terhadap Bakteri

*Staphylococcus aureus* Menggunakan Umbi Uwi

(*Dioscorea alata*) Dan Kristal Violet

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tugas akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa tugas akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Bulukumba, 30 Oktober 2025

Yang membuat pernyataan



NURUL MUTMAINNAH  
NIM.E.22.07.031

v

v

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, atas berkat rahmat dan hidayat-Nya saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul "**Perbandingan Pewarnaan Gram Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Umbi Uwi (*Dioscorea alata*) dan Kristal Violet**". Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Ahli Madya Teknologi Laboratorium Medis (A.Md.Kes) pada program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini tidak lepas dari bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan kali ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. H.Idris Aman, S.Sos, selaku Ketua Yayasan Panrita Husada Bulukumba yang telah menyediakan sarana dan prasana sehingga bisa mendukung kegiatan belajar mengajar berjalan dengan lancar.
2. Dr.Muriyati, S. Kep, M.Kes, selaku Ketua Stikes Panrita Husada Bulukumba yang memberikan dukungan serta semangat kepada penulis sehingga penulis bisa menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini
3. Dr.Asnidar S.Kep, Ns.M.Kes, selaku Wakil Ketua 3 di bidang Akademik yang telah memberikan arahan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

4. Andi Harmawati Novriani HS, S.ST., M.Kes, selaku Ketua Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis yang telah membagi ilmu dan 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. Dzikra Arwie, S.Si., M.Si, sebagai pembimbing pendamping yang meluangkan waktunya dalam memberikan arahan, motivasi dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Siti Khadijah, S. ST. , M. Kes, selaku dosen penguji I, yang telah memberikan kritik, saran, serta masukan yang sangat berharga demi penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Hj. Rosminar, S. KM. , M. Kes, selaku dosen penguji II, atas waktu, perhatian, serta koreksi yang telah diberikan sehingga penulis dapat dapat menyusun dan menyempurnakan Karya Tulis Ilmiah ini.
9. Kepada kedua orangtua yang tercinta dan saudara saya, terima kasih banyak yang sebesar-besarnya atas segala doa, kasih sayang serta dukungan moral dan material yang telah diberikan dengan tulus dan ikhlas.
10. Kepada sahabat dan teman-teman saya, terima kasih telah memberikan semangat, bantuan, dan kerja sama selama proses penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Teruntuk semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini. Mohon maaf atas segala kesalahan dan ketidak sopanan yang mungkin telah saya perbuat, semoga Allah SWT senantiasa memudahkan setiap langkah kita menuju kebaikan dan selalu memberikan kasih sayang-Nya untuk kita semua, Amin.

Bantaeng, Januari 2025

Nurul Mutmainnah

## ABSTRAK

### PERBANDINGAN PEWARNAAN GRAM TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN UMBI UWI (*Dioscorea alata*) DAN KRISTAL VIOLET.

Nurul Mutmainnah<sup>1</sup>, Asriyani Ridwan<sup>2</sup>, Dzikra Arwie<sup>3</sup>.

**Latar Belakang :** Pewarnaan Gram merupakan teknik penting dalam diagnosis mikrobiologi untuk mengidentifikasi karakteristik dan membedakan bakteri. Pewarna kristal violet sering digunakan namun dapat menimbulkan efek samping bagi kesehatan dan lingkungan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pewarna alami yang lebih ramah lingkungan. Umbi uwi (*Dioscorea alata*) mengandung pigmen antosianin yang berpotensi sebagai pewarna alami.

**Tujuan :** Untuk mengetahui efektifitas ekstrak umbi uwi sebagai alternatif pengganti kristal violet pada pewarnaan Gram bakteri *Staphylococcus aureus*.

**Metode :** Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan prosedur maserasi untuk mengekstrak umbi uwi. Variasi konsentrasi (100%, 80%, 60%, 40% dan 20%) diaplikasikan pada sediaan bakteri *Staphylococcus aureus*, kemudian dibandingkan dengan kontrol positif menggunakan kristal violet. Hasil pewarnaan diamati dengan mikroskop pada pembesaran 100x.

**Hasil :** Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontrol positif dengan kristal violet menghasilkan pewarnaan ungu pada bakteri *Staphylococcus aureus* sesuai karakter Gram Positif. Sementara ekstrak umbi uwi pada seluruh konsentrasi hanya memberikan warna merah dengan intensitas berbeda-beda, tidak mampu menghasilkan warna ungu yang diharapkan untuk pewarnaan Gram positif.

**Kesimpulan :** Ekstrak umbi uwi belum efektif menggantikan kristal violet pada pewarnaan Gram bakteri *Staphylococcus aureus*. Diperlukan penelitian lanjutan dengan eksplorasi senyawa aktif dan kestabilan pigmen dalam ekstrak umbi uwi agar dapat mendukung perkembangan pewarna alami yang ramah lingkungan untuk aplikasi laboratorium mikrobiologi.

**Kata Kunci :** *Dioscorea alata*, *Staphylococcus aureus*, pewarnaan Gram, alternative pewarna alami, antosianin.

## ABSTRACT

### COMPARISON OF GRAM STAINING OF *Staphylococcus aureus* BACTERIA USING EXTRACT TUBER (*Dioscorea alata*) AND KRISTAL VIOLET

Nurul Mutmainnah<sup>1</sup>, Asriyani Ridwan<sup>2</sup>, Dzikra Arwie<sup>3</sup>.

**Background:** Gram staining is an important technique in microbiological diagnosis to identify and differentiate bacterial characteristics. Crystal violet is commonly used as a primary stain but may have negative effects on health and the environment. Therefore, an alternative eco-friendly stain is needed. *Dioscorea alata* tuber contains anthocyanin pigments that have potential as a stain.

**Objective:** To determine the effectiveness of *Dioscorea alata* tuber extract as an alternative to crystal violet in Gram staining for *Staphylococcus aureus*.

**Methods:** This study used an experimental laboratory method with maceration extraction of *Dioscorea alata* tubers. Extract were prepared in concentrations of 100%, 80%, 60%, 40%, and 20% applied to specimens of *Staphylococcus aureus*, and compared to a positive control using crystal violet. Gram staining results were observed under a microscope at 100x magnification.

**Results:** The research showed that positive control with crystal violet produced a purple color in *Staphylococcus aureus*, matching the characteristics of Gram-positive bacteria. In contrast, all concentrations of *Dioscorea alata* tuber extract only produced red coloration of varying intensity and were not able to reproduce the expected purple of Gram staining for Gram-positive bacteria.

**Conclusion:** *Dioscorea alata* tuber extract is not yet effective as a substitute for crystal violet in Gram staining of *Staphylococcus aureus*. Further studies exploring active compounds and pigment stability in the tuber extract are required to support the development of eco-friendly natural stains for microbiology laboratory use.

**Keywords:** *Dioscorea alata*, *Staphylococcus aureus*, Gram staining, alternative natural stain, anthocyanin.

## DAFTAR ISI

<b>KARYA TULIS ILMIAH.....</b>	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR KATA SINGKATAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	7
C. Tujuan Penelitian.....	7
1. Tujuan Umum .....	7
2. Tujuan Khusus.....	8
D. Keaslian Penelitian .....	8
E. Manfaat Penelitian.....	10
1. Manfaat Teoritis.....	10
2. Manfaat Aplikatif.....	10
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>11</b>
A. Tinjauan Umum <i>Teori</i> .....	11
1. Umbi Uwi <i>Discorea Alata</i> .....	11
2. <i>Stapylococcus Aureus</i> .....	23
3. Pewarnaan Gram .....	30
B. Kerangka Teori.....	37
C. Kerangka Konsep.....	38
D. Hipotesis Penelitian .....	38
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>39</b>
A. Desain Penelitian .....	39
B. Variabel Penelitian .....	39

C. Definisi Operasional .....	39
D. Waktu Dan Tempat Penelitian.....	40
E. Objek peneitian .....	40
F. Teknik Pengumpulan Data .....	40
G. Instrumen Penelitian.....	42
H. Alur Penelitian .....	49
I. Pengolahan Dan Analisa Data .....	49
J. Etika Dan Izin Penelitian .....	50
K. Jadwal penelitian .....	51
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>52</b>
A. Hasil penelitian.....	52
B. Pembahasan Penelitian .....	55
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>59</b>
A. Kesimpulan .....	59
B. Saran .....	59
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>60</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.1</b> Keaslian Penelitian.....	10
<b>Tabel 2.1</b> Kandungan Gizi Umbi Uwi.....	14
<b>Tabel 3.1</b> Jadwal Penelitian.....	49
<b>Tabel 4.1</b> Hasil Pengamatan .....	52

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> <i>Umbi Uwi</i> .....	11
<b>Gambar 2.2</b> <i>Umbi Dan Dioscorea Alata L</i> .....	15
<b>Gambar 2.3</b> <i>Struktur Seyawa Antosianin</i> .....	16
<b>Gambar 2.5</b> <i>Stapylococcus Aureus</i> .....	24
<b>Gambar 2.6</b> <i>Koloni Stapylococcus Aureus</i> .....	26
<b>Gambar 2.7</b> <i>Bentuk-Bentuk Coccus</i> .....	27
<b>Gambar 2.8</b> <i>Bentuk-Bentuk Basil</i> .....	27
<b>Gambar 2.9</b> <i>Bentuk-Bentuk Spiral</i> .....	28
<b>Gambar 2.10</b> <i>Kerangka Teori</i> .....	32
<b>Gambar 2.11</b> <i>Kerangka Konsep</i> .....	38
<b>Gambar 3.1</b> <i>Alur Penelitian</i> .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Lembar persetujuan judul proposal.....	64
<b>Lampiran 2.</b> Lembar persetujuan acc proposal.....	65
<b>Lampiran 3.</b> Surat Permohonan Izin dari Lembaga UPPM .....	66
<b>Lampiran 4.</b> Surat Izin Penelitian dari DPMPTSP Sul-Sel .....	67
<b>Lampiran 5.</b> Rumus Jumlah Total Sampel.....	68
<b>Lampiran 6.</b> Dokumentasi Pribadi peneliti.....	69

## DAFTAR KATA SINGKATAN

WHO : World Health Organization  
KTI : Karya Tulis Ilmiah  
TLM : Teknologi Laboratorium Medis  
S.aureus : *Staphylococcus aureus*  
NaCl: Natrium Klorida  
ml : Mililiter  
gr : Gram  
 $\mu\text{m}$  : Mikrometer  
HCl : Asam Klorida  
rpm: Rotasi Permenit  
UV : Ultraviolet  
PBS : Phosphate Buffer Saline  
LAF : Laminar Air Flow  
BSC : Biological Safety Cabinet  
Ph : Derajat Keasaman  
CFU : Colony Forming Unit  
APD: Alat Pelindung Diri

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Pewarnaan Gram adalah Teknik pengamatan morfologi serta karakteristik dinding sel bakteri dengan menggunakan mikroskop, sehingga berperan penting dalam identifikasi awal bakteri di laboratorium. Pewarnaan Gram adalah metode krusial dalam proses identifikasi mikroorganisme karena dapat menunjukkan variasi (Wu dan Yang, 2020). Selain itu, teknik ini juga sangat berperan dalam diagnosis klinis, terutama dalam evaluasi cepat dan efektif terhadap sampel sputum dan cairan purulen (Li et al, 2020).

Dasar dari metode terletak pada kemampuan dinding sel bakteri untuk mempertahankan pewarna kristal violet selama perlakuan pelarut (Nishant Tripathi et al, 2025). sehingga ukuran dan bentuk bakteri menjadi lebih jelas, serta memungkinkan pengamatan. Hasilnya, sifat-sifat serta komposisi kimia khas bakteri dapat diidentifikasi dengan zat warna yang digunakan, sekaligus meningkatkan kontras antara mikroorganisme dan lingkungannya. Teknik pewarnaan ini sangat membantu dalam observasi morfologi bakteri di bawah mikroskop, menjadikannya fondasi untuk berbagai analisis dalam mikrobiologi (Aluf Supardi dan Risandiansyah, 2022).

Dalam Salah satu metode untuk pewarnaan dalam mikrobiologi adalah pewarnaan Gram. Metode ini dikembangkan

untuk membedakan bakteri berdasarkan struktur dinding sel mereka terbagi dua kategori utama: bakteri Gram negatif dan Gram positif. Bakteri Gram negatif bisa kehilangan warna ungunya setelah dicuci dengan menggunakan alcohol dan kemudian diberi pewarna tambahan seperti safranin atau fuchsin, sehingga tampak merah muda di bawah mikroskop. Teknik ini telah menjadi standar di laboratorium mikrobiologi berkat kemampuannya mengelompokkan bakteri secara cepat dan tepat (Sari, 2024).

Alasan pemilihan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam penelitian ini adalah karena bakteri ini termasuk dalam golongan Gram positif berbentuk kokus (bulat) yang bergerombol seperti anggur, serta memiliki dinding sel yang tebal dan kaya akan peptidoglikan, membuatnya sangat cocok untuk metode pewarnaan Gram (Wu dan Yang, 2020). Berdasarkan penelitian Juwita et al (2024), isolat *S. aureus* yang diambil dari peternakan sapi perah di Sulawesi Selatan telah terdeteksi mengandung gen blaZ, yang memberikan resistensi terhadap antibiotik jenis beta-laktam. Hal ini menjadikan *S. aureus* sangat penting untuk diidentifikasi dengan cepat di laboratorium mikrobiologi, salah satunya melalui teknik pewarnaan Gram.

Penelitian lain menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* termasuk dalam kelompok bakteri patogen utama yang sering menjadi penyebab infeksi di rumah sakit maupun di masyarakat umum. Bakteri ini dikenal sebagai salah satu anggota kelompok

*EskapePathogens*, yaitu kelompok bakteri dengan resistensi tinggi, yang menjadi perhatian utama dalam bidang medis global (Taylor dan Unakal, 2023). Menurut Alodokter (2023) serta laporan dari Dinas Kesehatan dan jurnal lokal, *Staphylococcus aureus*: infeksi kulit dan jaringan lunak seperti bisul, impetigo, selulitis, folikulitis, dan abses. Keracunan makanan akibat mengonsumsi makanan yang terkontaminasi enterotoksin dari *Staphylococcus aureus*. Infeksi saluran pernapasan, termasuk pneumonia, khususnya pada strain yang memproduksi toksin PVL (*Panton-Valentine leukocidin*) yang dapat menyebabkan pneumonia berat (*necrotizing*). Infeksi pada tulang dan sendi seperti *osteomyelitis* dan *arthritis septic*.

Menurut informasi yang dikumpulkan oleh Juwita et al. (2020), perhatian terhadap kasus *Staphylococcus aureus* di Sulawesi Selatan menjadi semakin penting karena terdeteksi pada sampel hewan dan lingkungan manusia dengan tingkat resistensi yang cukup tinggi, yang menunjukkan adanya potensi zoonosis serta risiko infeksi silang antara hewan dan manusia.

Walaupun pewarnaan gram dengan kristal violet memiliki peranan yang krusial, penggunaannya dapat menyebabkan efek negatif bagi lingkungan dan kesehatan manusia. Kristal violet adalah zat warna kationik yang umum digunakan tidak hanya dalam penelitian mikrobiologi, tetapi juga dalam sektor tekstil. Senyawa ini diketahui bersifat mutagenik dan beracun, serta sulit terurai secara alami, sehingga bisa mencemari lingkungan dalam periode yang

lama. Berbagai penelitian mengungkapkan bahwa limbah dari zat pewarna industri, termasuk kristal violet, dapat mengakibatkan sejumlah masalah kesehatan seperti iritasi kulit, alergi, mutasi genetik, dan bahkan meningkatkan risiko kanker. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengembangkan alternatif pewarna yang lebih aman dan ramah lingkungan sebagai pengganti kristal violet dalam proses pewarnaan bakteri (Dedefwin, 2021).

Beberapa bahan alami yang memiliki potensi sebagai pengantikristal violet yaitu umbi uwi (*Dioscorea sp*). Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati, terutama berbagai jenis umbi yang bisa dijadikan pewarna alami. Umbi uwi terdapat sumber karbohidrat yang banyak ditemukan di wilayah tropis, termasuk Indonesia. Selain berfungsi sebagai sumber makanan, umbi ini juga mengandung bahan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai zat pewarna biologis, sehingga memiliki peluang untuk diterapkan dalam teknik pewarnaan mikrobiologi (Virgianti, 2017).

Antosianin memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, serta sifat biologis lainnya, yang mendukung penggunaannya sebagai alternatif pewarna biologis yang lebih aman dibandingkan dengan pewarna sintetis. Dengan adanya pigmen ini, umbi uwi berpotensi menjadi sumber pewarna alami yang dapat menggantikan kristal violet dalam proses pewarnaan bakteri (Marbun, 2020).

Selain aspek keselamatan bagi lingkungan dan kesehatan, penggunaan umbi uwi sebagai pewarna alami juga menawarkan

manfaat dari segi ekonomi dan keberlanjutan (Marbun,2020). Penelitian sebelumnya telah mengeksplorasi potensi bahan alami sebagai pengganti pewarna sintetik dalam proses pewarnaan gram.Salah satu studi menunjukkan bahwa kulit ubi jalar ungu juga bisa digunakan sebagai alternatif untuk menggantikan kristal violet.Ekstrak kulit ubi jalar ungu mampu memberikan kontras warna yang cukup baik dalam membedakan antara gram positif dan negative dari hasil penelitian.Meskipun intensitas warna yang dihasilkan tidak sekuat kristal violet, ekstrak ini tetap efektif dalam menunjukkan perbedaan karakteristik dinding sel bakteri, dan ini menunjukkan bahwa pewarna alami dari umbi-umbian yang kaya akan antosianin mempunyai hal yang bisa diterapkan dalam pewarnaan mikrobiologi sebagai bahan alternatif yang lebih ramah dalam lingkungan dan berkelanjutan (Sri Nurul Hidayanti et al., 2021).

Pewarna sintetis seperti kristal violet biasanya memiliki harga tinggi dan ketersediaan yang terbatas, sementara pewarna alami yang berasal dari umbi uwi mudah diakses, terjangkau, dan bisa dikembangkan sebagai produk lokal.Para produsen sering memilih pewarna sintetis karena harga yang lebih rendah, ketersediaan yang mencukupi, serta variasi warna yang lebih banyak.Namun, dengan meningkatnya kesadaran mengenai lingkungan dan kesehatan pada pewarna alami yang di gunakan

sebagai pewarna sintesis, pewarna alami semakin dianggap sebagai pilihan yang lebih aman dan berkelanjutan (Marbun, 2020).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas pewarnaan Gram pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*) dan kristal violet, sesuai dengan judul penelitian ini. Dalam pelaksanaannya, ekstrak umbi uwi akan diformulasikan dalam lima variasi konsentrasi, yaitu 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%, untuk menentukan konsentrasi mana yang paling optimal dalam menghasilkan pewarnaan yang jelas dan kontras.

Ekstra umbi uwi menggunakan konsentrasi sesuai dengan perhitungan seperti 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% sesuai dengan penelitian oleh Hidayanti et al.(2021). Hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi 100% menghasilkan warna ungu yang paling mirip dengan kristal violet, sementara konsentrasi yang lebih rendah menunjukkan intensitas yang lebih sedikit terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*).

Di sisi lain, penelitian oleh Nunki et al.(2020) menerapkan ekstrak tanaman pada *Bacillus sp.* Dengan konsentrasi 50%, 60%, dan 75%. Pewarna yang paling optimal ditemukan pada konsentrasi 60% hingga 75%, menunjukkan bahwa ekstrak dengan konsentrasi sedang juga memiliki potensi yang efektif jika formula dan waktu perendaman tepat.

Selain itu, dalam tinjauan sistematis oleh Badar et al.(2022), dijelaskan bahwa konsentrasi ekstrak tanaman sebesar 100% umumnya memberikan hasil terbaik dalam proses pewarnaan diferensial Gram, karena tidak mengandung pengenceran senyawa aktif seperti antosianin atau flavonoid. Beberapa penelitian eksploratif juga telah mencoba konsentrasi rendah seperti 40% dan 20%, tetapi pada umumnya menghasilkan warna yang kurang kuat dan tidak cukup kontras untuk membedakan tipe dinding sel bakteri (Nuraini et al., 2019).

Jika terbukti efektif, penelitian ini dapat memberikan keuntungan yang signifikan yang lebih ramah lingkungan, ekonomis, dan berkelanjutan. Oleh karena itu, diharapkan penelitian ini dapat menjadi acuan dalam pengembangan metode pewarnaan bakteri yang berbasis bahan alami, serta berkontribusi pada pemanfaatan sumber daya lokal yang bernilai dalam dunia sains dan teknologi laboratorium medis.

## **B. Rumusan Masalah**

Penjelasan latar belakang diatas, maka dapat diketahui rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimana perbandingan hasil pewarnaan gram terhadap bakteri yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* menggunakan ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*) dengan kristal violet?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Tujuan Umum

Membandingkan seberapa efektif ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*) jika dibandingkan dengan kristal violet dalam proses pewarnaan Gram pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

## 2. Tujuan Khusus

Menentukan konsentrasi ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*) yang paling optimal untuk mewarnai bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan penggunaan kristal violet.

## D. Keaslian Penelitian

No	Penulis	Judul	Kesamaan	Perbedaan
1.	Andi Sri Nurul Hidayanti, Sulfiani dan Nuramaniyah Taufik (2021)	Pemanfaatan ekstrak kulit ubi jalar ungu sebagai pengganti kristal violet pada pewarnaan Gram. Dengan hasil : Ekstrak ubi jalar ungu mampu memberikan kontras warna yang cukup baik dalam membedakan bakteri Gram negatif, meskipun intensitas warnanya tidak sekuat kristal violet.	Sama-sama meneliti penggunaan sumber pewarna alami yang mengandung antosianin sebagai alternatif pewarna sintetik dalam pewarnaan Gram.	Memanfaatkan ekstrak kulit ubi jalar ungu yang kaya akan antosianin sebagai pengganti kristal violet dalam pewarnaan Gram.

2.	Dedefwi (2021)	Pemanfaatan buah bit ( <i>Beta Vulgaris</i> ) sebagai alternatif pengganti pewarnaan Gram. Dengan hasil : Meskipun ekstrak bit dapat menempel pada dinding bakteri, intensitas warna yang dihasilkan kurang stabil dibandingkan kristal violet. Namun, penelitian ini membuktikan potensi buah bit sebagai alternatif pewarna alami.	Sama-sama mengeksplorasi penggunaan pewarna alami sebagai pengganti pewarna sintetik dalam pewarnaan Gram.	Menggunakan ekstrak buah bit yang mengandung pigmen betasianin sebagai alternatif pewarnaan Gram.
3.	Sofiani Sari, Alya Nur Nabila, Cucu Arum Dwi Cahya, Rahmadan i Sitepu (2024)	Pewarnan alami akar mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> L) sebagai pengganti safranin pada pewarnaan gram negatif. Dengan hasil : Pewarna alami ini dapat menghasilkan warna yang kontras pada bakteri Gram negatif,	Keduanya mengeksplorasi penggunaan pewarna alami sebagai alternatif pengganti pewarna sintetik dalam	Menggunakan ekstrak akar mengkudu sebagai pengganti safranin pada pewarnaan gram

		meskipun ada perbedaan dalam ketahanan warna dibandingkan safranin sintetis.	pewarnaan bakteri.	negatif.
--	--	--	--------------------	----------

**Tabel 1.1:** Keaslian penelitian

## **E. Manfaat Penelitian**

### 1. Manfaat Teoritis

Studi ini diharapkan bisa memperluas pengetahuan dalam bidang mikrobiologi, terutama mengenai pemanfaatan pewarna alami sebagai pengganti pewarna Gram. Dan hasil penelitian dijadikan sebagai sumber referensi ilmiah untuk pengembangan teknologi laboratorium yang memanfaatkan sumber daya lokal dan ramah lingkungan.

### 2. Manfaat Aplikatif

Penelitian ini bisa dimanfaatkan oleh laboratorium pendidikan dan kesehatan sebagai dasar untuk penerapan pewarna alami dalam praktik atau diagnosis, serta dapat menjadi pilihan yang ekonomis dan berkelanjutan dalam menyediakan bahan kimia untuk laboratorium.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tinjauan Teori

##### 1. Umbi Uwi (*Dioscorea alata*)

###### A. Pengertian Umbi Uwi

Ubi uwi (*Dioscorea alata*) berasal dari kawasan Asia. Pertumbuhan tanaman ini pada daerah yang rendah karena daerah yang rendah memiliki kesuburan yang tinggi bagi akar tumbuhan, pada ketinggian di bawah 800 meter dari permukaan laut, namun juga dapat bertahan pada ketinggian hingga 2700 meter dari permukaan laut (Balitbang, 2005). Umbi dari uwi (*Dioscorea alata*) mengandung berbagai manfaat bagi kesehatan tubuh seperti senyawa bioaktif yaitu dioscin, diosgenin, dan polisakarida larut air (Helbron, 2015).



**Gambar 2.1** : Umbi Uwi

Komponen bioaktif dalam umbi ini meliputi steroid, saponin (*diosgenin* dan *dioscin*), protein dari jenis dioscin, serta antosianin. Senyawa bioaktif ini memiliki aktivitas yang bermanfaat untuk kesehatan, termasuk sebagai imunomodulator, antihipertensi, antimikroba, serta memiliki berbagai efek estrogenik dan antitumor (Hapsari, 2014).

Dalam studi ini, ekstrak ubi uwi (*Dioscorea alata*) dijadikan sebagai pewarna alami alternatif untuk kristal violet. Untuk mengevaluasi efektivitas pewarnaan dari ekstrak, dilakukan pengujian dengan lima variasi konsentrasi sesuai dengan perhitungan maksimal konsentrasi 100%. Variasi konsentrasi ini bertujuan untuk menilai intensitas warna dan kemampuan ekstrak dalam mewarnai bakteri *Staphylococcus aureus* pada metode pewarnaan Gram. Pemilihan berbagai tingkat konsentrasi juga bertujuan untuk mengetahui seberapa stabil dan jelas pigmen antosianin yang terdapat dalam umbi uwi saat digunakan sebagai pewarna biologis (Hidayanti, Sulfiani, dan Taufiq, 2021)

## **B. Taksonomi Ubi Uwi**

Ubi uwiungu (*Dioscorea alata*) adalah tanaman yang memproduksi umbi dengan daging berwarna ungu. Berikut adalah taksonomi untuk *Dioscorea alata*:

Divisio : *Spermatophyta*  
Sub Divisi : *Angiospermae*  
Kelas : *Monocotyledoneae*  
Ordo : *Liliales*  
Famili : *Dioscoreaceae*  
Genus : *Dioscorea*  
Spesies : *Dioscorea alata* (Sunarti dan Marfuah, 2023)

### **C. Morfologi**

Tanaman ini disebut ubi kelapa atau uwi. tumbuh dengan cara menjalar dan berputar ke kanan. Batangnya dapat mencapai panjang 10 meter, tidak memiliki duri, meskipun ada beberapa yang memiliki bintik di bagian pangkal, batangnya memiliki empat sayap yang jelas, berwarna hijau atau keunguan, dan sering terdapat umbi di ketiak daun (Tantrayana dan Zubaidah, 2015). Daunnya tunggal, dengan pola pertulangan yang melengkung, memiliki tujuh hingga sembilan tulang daun, berwarna hijau atau keunguan, dan bentuk helaian daun oval dengan pangkal berbentuk hati serta ujung yang meruncing. Sistem akar tanaman ini berupa serabut. *Dioscorea alata* memiliki bunga berbentuk bulir, di mana bunga jantan memiliki bulir yang rapat, sedangkan bunga betina memiliki bulir yang lebih longgar. Perbungaan biasanya terjadi antara bulan Mei

dan Juni, berbentuk pipih dan membulat di sekelilingnya dengan struktur bersayap. Ubi yang tumbuh di bawah tanah memiliki beragam bentuk dan ukuran (Yanto Rahman dan Sulistyowati, 2023).

Tabel 1.2 : Kandungan gizi dalam 100 gram umbi uwi

<b>NO</b>	<b>Zat Gizi</b>	<b>Satuan</b>	<b>Jumlah</b>
1.	Kalori	Kal	101
2.	Protein	G	2,0
3.	Karbohidrat	G	19,8
4.	Lemak	G	0,2
5.	Kalsium	Mg	45
6.	Fosfor	Mg	280
7.	Besi	Mg	1,8
8.	Vitamin B1	Mg	0,10
9.	Vitamin C	Mg	9
10.	Air	G	75,7

**Sumber :** (Lestari, 2020)

Dari perspektif ekologi, tanaman ini termasuk dalam kategori subhumid-humid tropis. Kondisi terbaik untuk pertumbuhan ubi kelapa adalah daerah dengan curah hujan antara 1000-1500 mm per tahun dengan distribusi yang baik, yakni selama 6-7 bulan. Ubi kelapa umumnya ditanam pada ketinggian rendah, tetapi di India bisa tumbuh hingga

ketinggian 2500 meter. Durasi hari yang pendek (kurang dari 12 jam) dapat mendukung proses pembentukan umbi (Yanto Rahman dan Sulistyowati, 2023).



**Gambar 2.2** : Umbi dan *Dioscorea alata*(Virgianti, 2017)

#### **D. Kandungan Kimia**

Umbi uwi ungu mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti polisakarida, diosgenin, dioskorin, dioscin, alatonin, saponin, fenol, flavonoid, tanin, dan alkaloid. Umumnya, polisakarida yang terdapat dalam umbi uwi ungu bersifat larut dalam air (Harijono et al., 2013).

Umbi uwi ungu memiliki pigmen antosianin yang paling banyak dan memberikan warna khas pada daging ubi. Kadar antosianin pada umbi uwi ungu mencapai 37,70-38,12 mg/100 g (Latief et al., 2018).

#### **E. Antosianin**

Antosianin adalah pigmen alami yang dapat ditemukan di bagian umbi, daun, atau buah yang berwarna merah, ungu, biru, atau kuning (Fakhruzy, Kasim, Asben, dan Anwar,

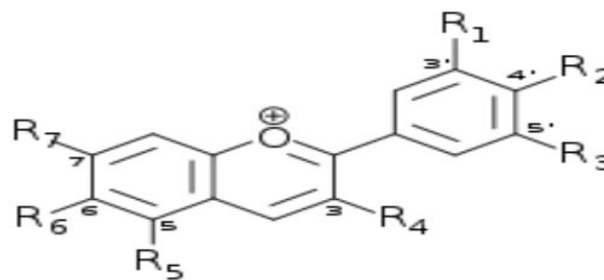
2020). Antosianin termasuk dalam kelompok metabolit sekunder dari tanaman yang berasal dari keluarga polifenol. Struktur antosianin terdiri dari dua cincin aromatik pada kedua posisinya. Kromofor dasar dari senyawa ini adalah ion-7 hidrosiflavilium (antosianidin). Pigmen antosianin terbentuk dari dua atau tiga unit kimia yaitu aglikon atau cincin flavilium (antosianidin), gula, dan mungkin juga mengandung kelompok asilasi (Kurniawati dan Hupitoyo, 2023).

Lingkungan tumbuh dan perbedaan musim dapat menyebabkan variasi kadar antosianin, berfungsi sebagai antioksidan, antihipertensi, dan pencegah gangguan hati (Supriyanto et al., 2021). Pigmen antosianin dalam umbi uwi ungu tersebar di seluruh daging ubi, memberikan warna yang khas. Kadar antosianin pada umbi uwi ungu adalah 37,70-38,12 mg/100 g (Latief et al., 2018; Vishnu et al., 2023).



**Gambar 2.3** :Warna ekstrak antosianin pada pH 1-14 (Sumber data Ai Mahmudatussa'adah et al.2014)

Dalam penelitian yang terbaru dilakukan maka dapat menjelaskan bahwa ubi jalar ungu dapat memberikan pH yang kuat dengan warna kemerahannya yaitu 1-3, warna ungu yaitu terletak pada pH 4-6 dan pH 7 akan mengalami perubahan warna menjadi biru, berwarna hijau Ketika pH basa melemah yaitu 8-9 dan akan mengalami perubahan warna kuning Ketika pH nya berada di angka 10-14 (Marco et al.2011).



**Gambar 2.4.** Struktur senyawa rumus kimia antosianin

(Sumber Data Wikipedia)

Metabolic sekunder pada antosianin dari kelompok flavonoid, yang banyak ditemukan pada buah dan sayuran (Isnaeni, 2012). Antosianin adalah salah satu jenis secara umum senyawa flavonoid dibagi menjadi polifenol tumbuhan. Kategori flavonoid lainnya meliputi flavonol, flavan-3-ol, flavon, dan flavonon, yang berbeda dalam tingkat oksidasi antosianin. Senyawa flavonoid

umumnya tidak memiliki warna atau hanya mempunyai warna kuning pucat (Isnaeni, 2012).

Antosianin akan larut kedalam air yang diberikan pigmen yang terbentuk secara alami, hal ini disimpan dalam sel epidermis dari buah, akar dan daun. Hal ini dapat ditemukan pada buah-buahan seperti anggur, stroberi, ceri, ubi jalar, serta sayuran seperti kol merah dan bayam merah (Javandira, 2021).

Warna serta kestabilan pigmen antosianin dipengaruhi oleh keseluruhan struktur molekulnya. Perubahan yang ada pada struktur antosianin A dan B dapat memengaruhi warna yang dihasilkan. Dalam kondisi asam, warna antosianin dipengaruhi oleh jumlah substitusi di cincin B. Semakin banyak substitusi OH, warna yang dihasilkan bisa cenderung ke biru, sedangkan metoksilasi akan membuat warnanya semakin mendekati merah (Javandira, 2021).

Peranan antosianin sebagai agen antioksidan dalam tubuh membantu mencegah aterosclerosis serta penyakit yang berkaitan dengan tersumbatnya pembuluh darah. Antosianin berkontribusi dalam menghentikan proses aterosclerosis dengan mengoksidasi lemak jahat dalam tubuh, khususnya lipoprotein densitas rendah. Selain itu, antosianin juga menjaga integritas sel

endotel yang melapisi dinding pembuluh darah agar terhindar dari kerusakan (Putri dan Kusdiyantini, 2018).

## **F. Pengertian Ekstrak dan Ekstraksi**

### **1. Ekstrak**

Berdasarkan penjelasan dari Musaid Shiddiq Syafaruddin (2023), ekstrak merupakan formulasi kental yang dihasilkan melalui proses pengambilan senyawa aktif dari bahan nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang tepat. Setelah itu, hampir seluruh pelarut tersebut diuapkan dan sisa massa atau serbuk yang ditentukan dengan memenuhi standar yang sedemikian rupa telah diekstrak (Zulharmitta, Kasypiah, dan Rivai, 2017).

### **2. Ekstraksi**

Menurut Musaid Shiddiq Syafaruddin (2023), ekstraksi merupakan suatu cara untuk memindahkan zat atau solut dari larutan atau bahan padat ke pelarut tertentu. Ekstraksi adalah proses yang memisahkan berdasarkan perbedaan kemampuan dalam melarutkan bagian-bagian dalam campuran (aji, Bahri, dan Tantalia, 2018).

## **G. Tujuan Ekstraksi**

Tujuan yang ingin dicapai melalui ekstraksi adalah untuk memberikan komponen yang kimianya telah diekstrak

terdapat dalam simplisia. Pemisahan melalui ekstraksi didasarkan pada pergerakan massa dari komponen padat ke dalam pelarut, di mana pergerakan ini dimulai di permukaan antara kedua bahan dan kemudian berdifusi ke pada pelarut. Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar serta senyawa non-polar (Lailis, 2010). Metode yang diterapkan adalah metode maserasi (Purwandi, Subagiyo, dan Wibowo, 2018). Dengan merendam yang merupakan prinsip dari sampel pelarut organik yang sesuai pada suhu kamar, di mana akan menembus dinding dengan pelarut dan masuk ke dalam ruang sel yang berisi zat aktif (Cindy Emilia Eka Putri et al., 2024).

#### **H. Metode Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu teknik dengan Kelebihan adalah melakukan ekstraksi untuk mengekstrak senyawa tanpa merusak komponen kimia yang peka terhadap panas, dengan contoh metode dingin seperti maserasi dan perkolasi. Sedangkan ekstraksi panas adalah metode yang memanfaatkan pemanasan untuk mengeluarkan simplisia dengan lebih cepat dan menggunakan pelarut yang lebih sedikit, refluks adalah contohnya dan soxhlet (Anak Agung Gede Rai Yadnya Putra, 2016).

##### **1) Maserasi**

Suhu dapat mempengaruhi proses maserasi, waktu, dan jenis pelarut yang digunakan. Memilih suhu yang tepat dapat meningkatkan kadar ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*), sebaliknya penggunaan tinggi suhu yang akan menghambat durasi yang panjang dapat menurunkan ekstrak yang dihasilkan dengan kualitas yang baik (Mihra et al, 2018). Begitu juga dengan pelarut, penggunaan pelarut yang sesuai dapat meningkatkan kemampuan ekstraksi senyawa aktif dari umbi uwi (Mahkom, 2007). Oleh karena itu, penelitian ini menerapkan metode maserasi karena kesederhanaannya, efektivitasnya, dan kemampuannya dalam mengekstrak senyawa aktif secara optimal dari umbi uwi.

## 2) Perkolasi

Ekstraksi yang dilakukan dengan membiarkan pelaut mengalir dengan melalui simplisia secara terus-menerus pada suhu ruangan disebut dengan perkolasi. Hal ini melibatkan proses dengan menggunakan alat percolator, yang akan terbentuk kerucut yang akan melewati semua simplisia yang menargetkan kejenuhan dalam mencapai pelarut baru (Takaendengan et al., 2021).

## 3) Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi yang menggunakan proses destilasi berulang, diuapkan pelarut, kemudian dikondensasikan kembali dan dialirkan kembali ke dalam labu yang digunakan untuk ekstraksi. Metode ini sangat cocok untuk mengekstraksi senyawa fitokimia yang tahan panas seperti biji-bijian dan kacang-kacangan (Mierza et al., 2023).

#### 4) Soxhlet

Oleh Frans Von Soxhlet pada tahun 1879 adalah teknik ekstraksi berkelanjutan di mana pelarut berputar secara terus-menerus melalui simplisia. Teknik ini digunakan untuk mengekstrak senyawa fitokimia yang stabil terhadap panas seperti alkaloid dan piperin (Pradito et al., 2022).

#### 5) Digesti

Pengadukan yang terus menerus dilakukan pada suhu 40°C yaitu digesti yang menggunakan metode maserasi. Teknik ini akan tahan terhadap panas dengan mengekstrak senyawa aktif (Rahmah et al., 2018). Proses ini seperti pembuatan teh yang sangat efektif yang membutuhkan pemanasan ringan dalam mengekstrak senyawa (Jyoni soni, sristi sinha, 2024)

#### 6) Infusa

Melibatkan perendaman simplisia dalam air panas dengan periode waktu yang singkat adalah infusa dengan menggunakan metode ekstraksi. Bahan-bahan aromatic seperti dengan bunga, daun, batang akan di ekstrak karena kaya dengan senyawa bioaktif (Hakim et al., 2021). Namun untuk senyawa hidrofobik seperti alkaloid, resin dan lipid tidak cocok dengan metode ini (Hanani, 2016).

#### 7) Dekokta

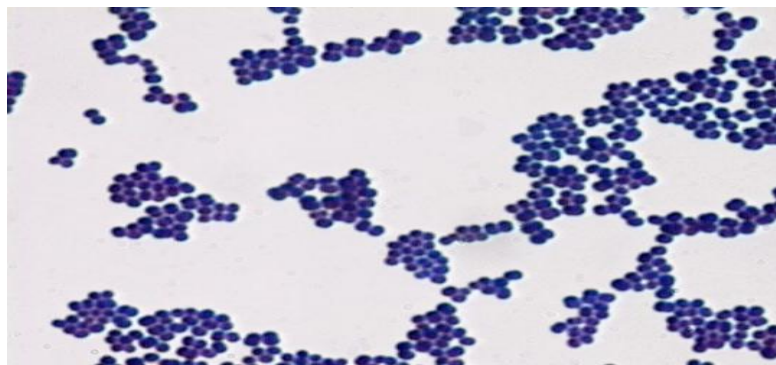
Direbus dengan air yang mempunyai volume yang kurang merupakan teknik ekstraksi yang dimana dengan dekokta simplisia. Teknik ini dengan menggunakan ekstraksi yang keras-keras seperti biji, akar dan kuliit yang tidak mengandung senyawa bioaktif yang bisa mengalami penguapan (Sari dan Meitisa, 2017).

## 2. ***Staphylococcus aureus***

### **a. Definisi *Staphylococcus aureus***

Kata *Stapyle* dan *coccus* merupakan Bahasa Yunani yaitu *Staphylococcus* yang berkelompok seperti dengan anggur dan bulat. Sedangkan *aureus* berasal dari Bahasa latin yang memiliki makna yaitu emas. Bakteri ini Ketika dilakukan kultur dan akan menojolkan koloninya maka akan kelihatan besar dan berwarna kuning. Bakteri ini menyukai membrane hidung dan kulit dan paling umum ditemukan

pada tubuh manusia. Bakteri ini adalah bakteri gram positif yang tidak bisa bergerak namun bisa menginfeksi menjadi patogen (Ningsih, 2017). Adapun penyakit yang bisa disebabkan oleh bakteri ini yaitu pneumonia. Ketika masuk ke dalam pernapasan atas, dan ketika menempel pada bagian kulit akan menimbulkan jerawat yang parah serta bisa merusak makanan yang bisa menginfeksi sistem pencernaan manusia tersebut (Fitriani, 2021).



**Gambar 2.5 :** *Staphylococcus aureus* dengan pewarnaan gram  
(Fitriani, 2021)

#### **b. Klasifikasi *Staphylococcus aureus***

Berdasarkan penjelasan (Fitriani, 2021), klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Domain : *Bacteria*

Kingdom : *Eubacteria*

Phylum : *Firmicutes*

Class : *Bacilli*

Ordo : *Bacilales*

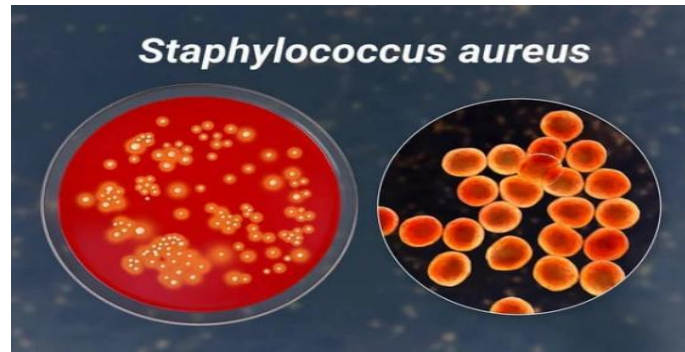
Famili : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

### c. Morfologi dan Identifikasi

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram-positif yang berbentuk bulat dengan diameter sekitar 1  $\mu\text{m}$ . Saat dilihat di bawah mikroskop, bakteri ini tampak menyerupai anggur. Bakteri ini tidak bergerak dan tidak memiliki spora. Koloni dari bakteri ini menghasilkan pigmen berwarna kuning gading atau oranye. Pada pengkulturannya di Blood Agar Plate, koloni *Staphylococcus aureus* terlihat berwarna kuning keabuan dengan ukuran 3-4 mm dan terdapat area jernih di sekeliling koloni yang menandakan adanya hemolisis (Tong, Davis, Eichenberger, Holland, dan Fowler, 2015). *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri anaerob fakultatif yang mampu tumbuh di lingkungan dengan konsentrasi hidrogen. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 35°C dengan rentang suhu pertumbuhan antara 15°C hingga 40°C (Acker et al., 2019). Bakteri ini tahan terhadap panas hingga 50°C selama 30 menit. (Habsah et al., 2020).



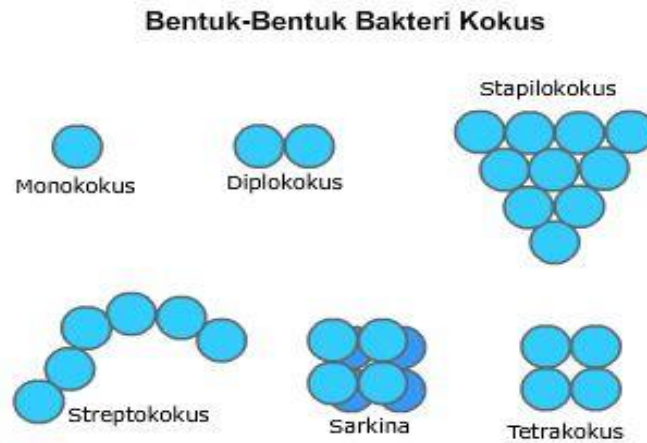
**Gambar 2.6** : Koloni *Staphylococcus aureus* pada pembenihan *Blood Agar Plate* setelah diinkubasi selama 24 jam (Habsah et al., 2020)

#### d. Bentuk Bakteri

Bentuk bakteri adalah klasifikasi bakteri berdasarkan bentuknya yaitu coccus, basil, dan spiral :

##### 1. *Coccus*

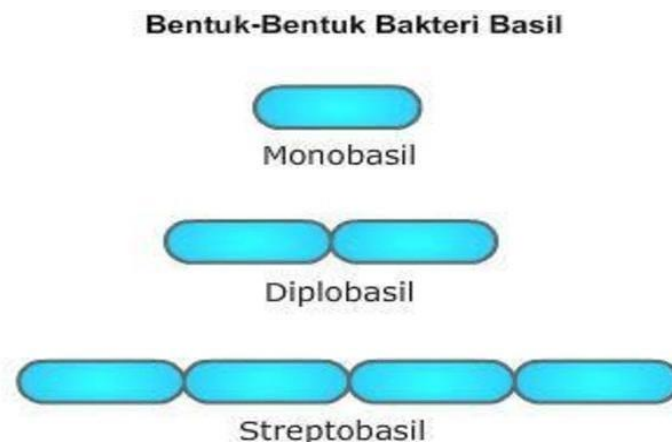
Pada **Gambar 2.7**, bakteri berbentuk bulat (*coccus*). Jika *coccus* berkelompok berpasangan disebut *diplokokus*, bentuk mirip kubus berkelompok empat disebut *tetrad* atau *sarcina*, kokus yang memanjang seperti rantai disebut *streptokokus*, dan yang menyerupai gugus buah anggur disebut *stafilokokus* (Misalnya *Staphylococcus aureus*)



**Gambar 2.7** Bentuk-bentuk kokus (MicrobeNotes, 2023)

## 2. *Basil*

Pada **Gambar 2.8**, bakteri berbentuk batang. Jika batang bergandengan dua disebut *diplobasil*, jika membentuk rantai disebut *streptobasil*, dan jika sangat pendek menyerupai kokus disebut *coccobasil*.

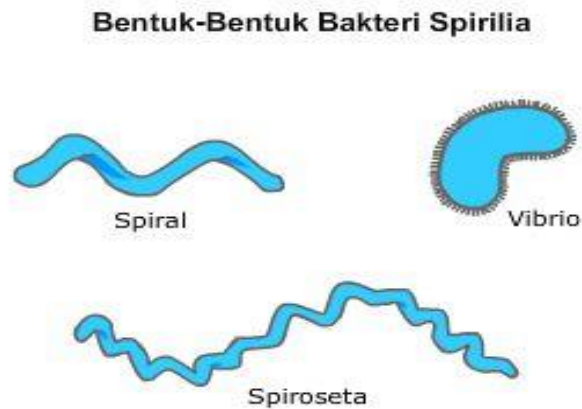


**Gambar 2.8** Bentuk-bentuk basil (MicrobeNotes, 2022)

## 3. *Spiral*

Pada **Gambar 2.9**, golongan bakteri yang bentuk-bentuknya seperti spiral. Bentuk spiral kaku disebut *spirillum*, bentuk spiral fleksibel disebut *spirochete*,

dan bentuk melengkung (tidak penuh spiral) disebut *vibro*.



**Gambar 2.9** Bentuk-bentuk Spiral (MicrobeNotes, 2022)

#### e. Patogenesis

*Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan lesi pada permukaan kulit seperti lepuhan serta furunkulosis, berupa bisul atau abses lokal, serta infeksi kulit di folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Selain itu, *Staphylococcus aureus* dapat merusak jaringan epitel payudara yang disebabkan oleh enzim koagulase, eksotoksin, dan hemolisin. Hemolisin- $\alpha$  umumnya dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari manusia, sementara hemolisin- $\beta$  dihasilkan dari isolasi hewan (Miftahul Khairiyah, 2021).

Selain itu, *Staphylococcus aureus* dapat menjadi penyebab keracunan makanan melalui *enterotoksin* yang dihasilkannya dan juga dapat memicu sindrom syok

toksik akibat produksi sitokin yang berlebihan dalam sirkulasi darah (Marbun, 2020).

#### f. **Pertumbuhan dan Peremajaan Bakteri**

Pertumbuhan bakteri mengikuti empat fase klasik: *lag*, *log* (*eksponensial*), *stasioner*, dan *death*. Pada fase *lag*, sel beradaptasi dengan lingkungan baru sebelum melakukan pembelahan; pada fase *log*, pembelahan berlangsung cepat dengan laju pertumbuhan maksimum; fase *stasioner* terjadi ketika nutrisi terbatas atau akumulasi produk samping menghambat pertumbuhan; sedangkan fase *death* ditandai penurunan jumlah sel hidup. Pemilihan umur kultur sangat penting karena karakter fisiologis sel berbeda antar fase, misalnya permeabilitas dinding sel dan respon terhadap pewarnaan. Vulin et al. (2018) menemukan bahwa perpanjangan lag time pada *S. aureus* menghasilkan varian koloni kecil dan toleransi antibiotik yang lebih tinggi (Nature Communication).

Tutkeltaub et al. (2024) menekankan bahwa dinamika fase *lag* sangat berpengaruh terhadap hasil eksperimen yang bergantung pada kecepatan pertumbuhan bakteri (Frontiers in Microbiology). Selain itu, Jones et al. (2023) melaporkan bahwa perbedaan umur kultur (16-24 jam vs >24 jam) dapat menghasilkan varian hasil pewarnaan

Gram pada *S.aureus*, sehingga konsisten waktu peremajaan menjadi krusial untuk reproduksibilitas hasil (Scientific Reports).

Pada media Nutrient Agar (NA) *Staphylococcus aureus* menunjukkan ciri khas koloni yang berbentuk bulat, halus, cembung, dan berpigmen kuning keemasan setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C (Ningsih, 2017; Fitriani, 2021). Diameter koloni biasanya 2-4 mm dengan permukaan licin dan warna kuning gading hingga oranye, menjadi cincin pembeda utama terhadap bakteri lain yang tumbuh pada media yang sama (Tong, Davis, Eichenberger, Holland, & Fowler, 2015). Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 35-37°C, namun tetap dapat bertahan hingga suhu 50°C selama 30 menit (Acker et al., 2019; Habsah et al., 2020). Karakteristik pertumbuhan ini mendukung penggunaan Nutrient Agar sebagai media standar dalam peremajaan kultur *S.aureus* di laboratorium.

Adapun dalam pembuatan Nutrient Agar, pH yang digunakan biasanya sekitar 7,2-7,4 agar optimal untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (ScienceDirect: *Nutrient Agar- an overview* MedCrave Online, 2020).

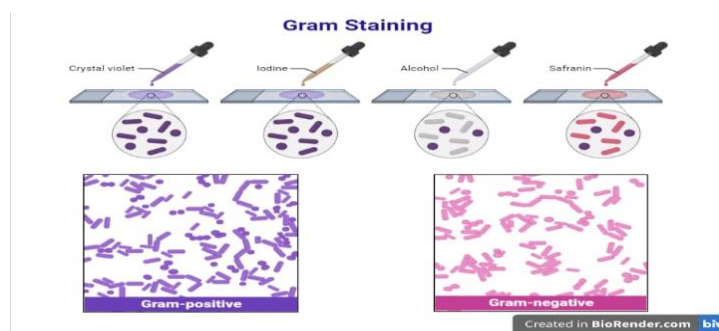
### 3. Pewarnaan Gram

#### a. Pengertian

Pewarnaan gram di laboratorium dilakukan dengan menggunakan larutan kristal violet, di mana semua bakteri menyerap pewarna ini dan menghasilkan warna ungu. Penambahan larutan iodin (lugol) menciptakan kompleks kristal violet-iodin yang memiliki ukuran besar dan stabil di dalam sel. Proses dekolorisasi menggunakan alkohol akan membuat dinding sel yang tebal dan kaya peptidoglikan tetap mempertahankan warna ungu (gram positif). Namun, dinding sel yang tipis dan memiliki membran luar akan menyesuaikan kompleks warna dan mengubahnya menjadi merah muda (gram negatif). Metode ini dinamakan sesuai penemunya, Hans Christian Gram, yang memperkenalkan teknik ini pada tahun 1884 untuk membedakan antara *Pneumococcus* dan *Klebsiella Pneumoniae*. Pewarnaan gram merupakan teknik yang digunakan untuk mengelompokkan bakteri berdasarkan bentuk, ukuran, dan morfologi sel (Acker et al., 2019).

Menurut McKenney et al. (2020), perbedaan dalam pewarnaan gram berasal dari struktur dinding sel bakteri yang berbeda, terutama pada ketebalan lapisan peptidoglikan dan keberadaan membran luar. Bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal serta tidak

memiliki membran luar, sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dan dilengkapi oleh membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS). Selama proses pewarnaan, kompleks kristal violet-iodin tetap ada dalam dinding sel Gram positif, sementara di Gram negatif dapat terbasuh oleh alkohol, sehingga memungkinkan pewarna tambahan untuk masuk.



**Gambar 2.10:** Pewarnaan Gram (Sumber data Infolabmed)

Bakteri gram positif dan negatif akan bereaksi dan akan menjadi perubahan yang sangat signifikan terhadap komposisi dengan struktur dinding sel. Tidak akan terpengaruh oleh alkohol dan akan mempertahankan warna aslinya yaitu ungu tua karena memiliki lapisan peptidoglikan yang mengandung asam teichoic. Disisi lain bakteri negatif hanya memiliki satu lapisan peptidoglikan pada bagian membrane luarnya akan terikat, yang membuat ekstraksi nya mudah larut karena bisa beraksi dengan pewarna tanding (Tong dan Fowler, 2015).

Di samping itu, McKenney et al.(2020) menjelaskan bahwa bakteri gram negatif mengandung sistem porin yang rumit serta enzim-enzim periplasmik yang memengaruhi cara pewarnaan berlangsung. Struktur kimia dari membran luar dan perbedaan tekanan osmotik memainkan peranan penting dalam efektivitas proses pewarnaan ini.

#### **b. Zat Warna pada Pewarnaan Gram**

Dalam pewarnaan Gram diperlukan empat reagen yaitu zat warna utama kristal violet, lugol, alkohol dan zat warna tanding safranin. Larutan lugol berfungsi untuk melunturkan mengintensifkan warna utama. Alkohol berfungsi untuk melunturkan zat warna utama. Selain itu, fungsi alkohol juga dapat menyebabkan ekstraksi lipid yang dapat memperbesar permeabilitas tersebut dapat membuat safranin masuk ke dalam sel yang menjadi warna merah pada bakteri gram negatif, sedangkan gram positif dinding selnya terhidrasi oleh alkohol sehingga membuat pori mengerut dan menurunkan daya rembes dinding sel dan membran sehingga safranin tidak bisa masuk yang membuat sel berwarna ungu (Khairiyah, 2021).

Proses pewarnaan gram dilakukan dalam empat langkah, yaitu pemberian kristal violet selama 1 menit, lalu penerapan diikuti dengan penambahan lugol selama 30

detik, mencuci dengan alkohol hingga warna pudar, dan akhirnya menerapkan zat warna tanding safranin selama 30 detik (Alwie, 2020).

Menurut McKenney et al.(2020), urutan pemberian reagen sangat penting, karena saat dekolorisasi adalah fase kritis untuk membedakan jenis bakteri. Kesalahan kecil dalam tahap alkohol dapat membuat hasil pewarnaan menjadi salah atau tidak akurat.

#### 4. **Media Nutrient Agar**

Nutrient Agar(NA) adalah salah satu media dasar yang paling banyak digunakan dalam mikrobiologi karena bersifat non-selektif, sehingga dapat mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Kandungan utama NA terdiri dari pepton, meat extract/yeast extract, NaCl, dan agar, yang masing-masing berfungsi sebagai sumber nitrogen, vitamin, mineral, pengatur osmotik dan zat pematat (Nurhidayanti, 2022).

Penelitian Anggraheni (2023) membandingkan media NA dengan media berbahan dasar daging sapi, kambing, dan ayam untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dan hasilnya menunjukkan bahwa komposisi nutrisi pada NA memang ideal untuk kebutuhan dasar bakteri.

Selain sebagai media standar, NA juga sering dijadikan pembanding dalam penelitian media alternatif berbahan alami.

Penelitian Foekh & Safitri (2024) menggunakan rebusan biji nangka sebagai substotusi NA untuk pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasilnya menunjukkan media alami mampu mendukung pertumbuhan, namun NA tetap digunakan sebagai kontrol baku. Demikian juga Malik et al. (2023) menggunakan kedelai sebagai pengganti NA untuk *Bacillus subtilis* dan menyatakan bahwa media NA tetap dijadikan sebagai tolak ukur karena kestabilannya yang tinggi.

Dari sisi kualitas media, Rinihapsari et al. (2024) meliputi pengaruh pemanasan berulang pada media NA terhadap hasil uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasilnya menunjukkan bahwa pemanasan ulang dapat menurunkan kualitas media karena merusak kandungan zat hara dan mengubah struktur media. Oleh karena itu, pembuatan dan penyimpanan NA harus dilakukan dengan prosedur yang tepat.

Selain itu, Rahmah et al. (2023) dalam penelitian isolasi bakteri dari udara dan lingkungan laboratorium menemukan bahwa NA sangat efektif digunakan untuk mendapatkan koloni bakteri dengan morfologi yang jelas dan mudah diamati. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun banyak media yang baru dikembangkan, NA masih sangat relevan untuk riset mikrobiologi dasar.

Dengan demikian Nutrient Agar dapat disebut sebagai “gold standar media” karena selain murah, mudah dibuat, dan stabil,

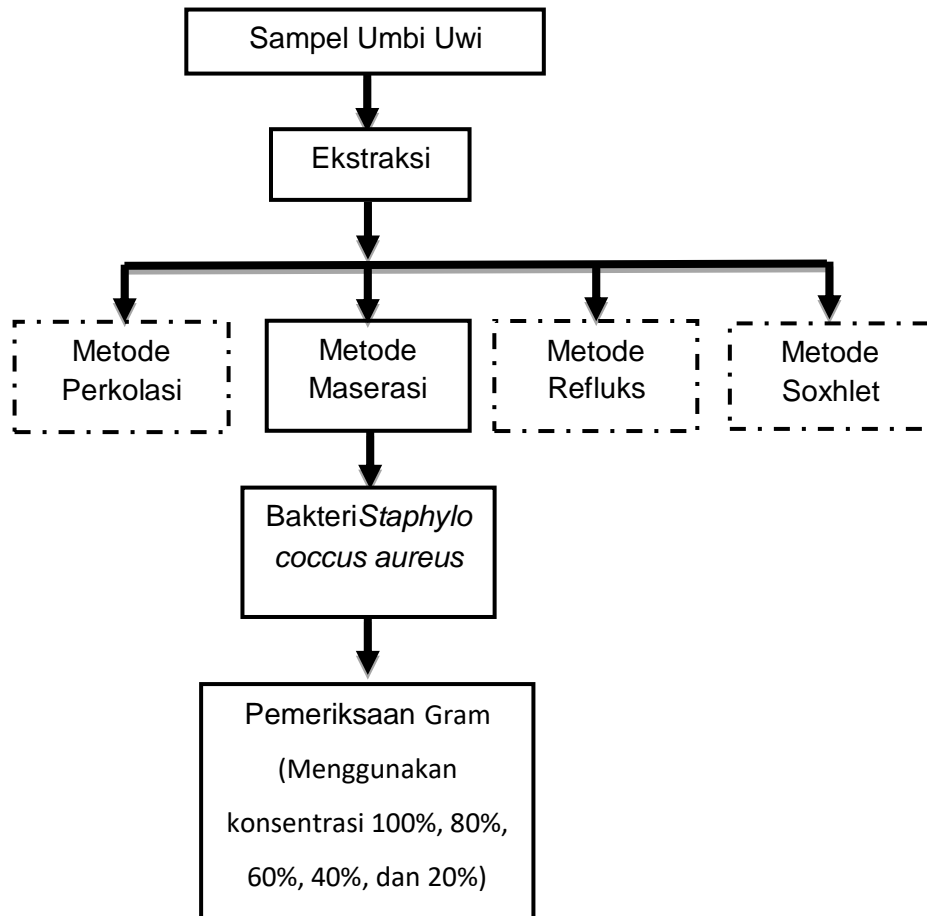
media ini juga memiliki konsistensi tinggi dalam mendukung pertumbuhan mikroba sehingga tetap digunakan sebagai media kontrol dalam berbagai penelitian (Nurhidayah, 2022; (Ayu Anggraheni et al., 2023) Rahmah et al, 2023; Rinihapsari, 2024; (Foekh, 2024); Malik et al, 2023).

Namun, menurut Aji Atmanto, Paramita & Handayani (2022), suatu media kultur dikatakan baik jika memenuhi aspek-aspek berikut: Menyediakan nutrisi lengkap (karbon, nitrogen, fosfat anorganik, sulfur, mineral & vitamin), memiliki ruang atau akses gas (oksigen atau gas lain sesuai mikroorganisme), mempertahankan kelembapan yang sesuai, memiliki pH optimal yang stabil selama proses, serta bebas dari kontaminasi dan gangguan bioburden.

Juga, (Bonnet et al., 2020) menyatakan media kultur ideal harus terdiri dari elemen dasar (air + nutrisi) dan disertai faktor pertumbuhan khusus apabila diperlukan. Media harus mendukung pertumbuhan luas mikroorganisme non-spesialis (nonfastidious).

Tantray, Mansoor, Choh, Wani & Nissa (2023) dalam "Preparation of nutrient agar media" juga menyebutkan bahwa komposisi Nutrient Agar harus diawali dari formulasi standar serta penyesuaian suhu penuangan (sekitar 48°C), dan proses sterilisasi yang tepat agar nutrisi tidak rusak.

## B. Kerangka Teori

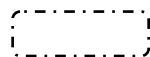


**Tabel 2.7:** Kerangka Teori (Sumber data pribadi, 2025)

Keterangan :



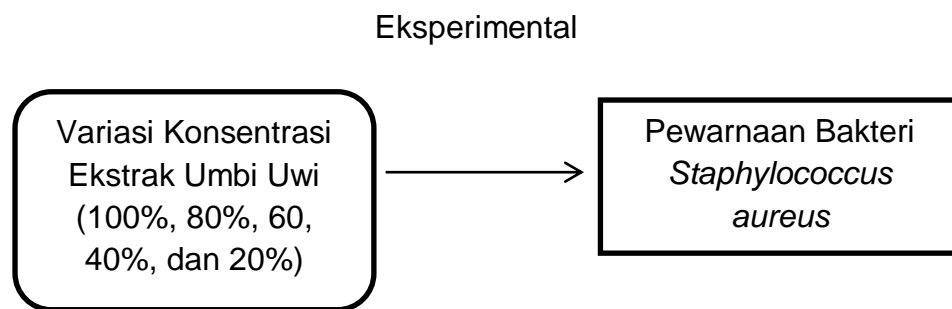
: Diteliti



: Tidak diteliti

### C. Kerangka Konsep

Berdasarkan dasar teori yang telah dijelaskan, termasuk latar belakang dan tinjauan literatur, maka struktur konsep dari penelitian ini adalah sebagai berikut:



**Gambar 2.11** : Kerangka Konsep

Keterangan :

Variabel dependen :

Variabel independen :

Metode yang digunakan :

### D. Hipotesis Penelitian

1. Hipotesis Alternatif (H1): Ekstrak dari umbi uwi bisa digunakan sebagai warna pengganti untuk kristal violet dalam proses pewarnaan gram.
2. Hipotesis Nol (H0): Ekstrak umbi uwi tidak dapat dijadikan pembanding dengan kristal violet dalam pewarnaan gram.

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah kualitatif dengan menggunakan desain penelitian eksperimental yang bertujuan untuk menilai efektivitas umbi uwi (*Dioscorea alata*) sebagai alternatif yang menjadi pewarna violet dengan teknik pewarnaan gram.

#### B. Variabel Penelitian

Variabel yang diteliti dalam riset ini adalah ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*) serta *Staphylococcus aureus*.

#### C. Definisi Operasional

1. Umbi uwi (*Dioscorea alata*) adalah bahan alami yang telah diekstrak menggunakan metode maserasi, menghasilkan antosianin untuk pewarnaan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Kristal violet merupakan pewarna sintetis berwarna ungu dengan konsentrasi 2% (b/v) yang digunakan sebagai tolak ukur dalam pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus*.
3. Pewarnaan bakteri adalah proses dalam teknik laboratorium untuk memberi warna pada bakteri agar lebih terlihat ketika diamati dengan mikroskop.
4. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri dengan gram positif dengan mempunyai bentuk bulat yang dijadikan sebagai subjek penelitian dalam pewarnaan dengan menggunakan

ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*) yang dijadikan sebagai bahan pewarnaan yang dijadikan seperti kristal violet

#### **D. Waktu Dan Tempat Penelitian**

##### 1. Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan juli 2025

##### 2. Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi di Sekolah Tinggi Kesehatan Panrita Husada Bulukumba.

#### **E. Objek Penelitian**

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang dijadikan sebagai objek penelitian, yang akan melalui proses pewarnaan Gram menggunakan dua jenis pewarna: pewarna alami dari umbi uwi (*Dioscorea alata*) dan pewarna sintetis kristal violet. Fokus penelitian terletak pada perbandingan efektivitas serta pengamatan hasil pewarnaan melalui mikroskop untuk membandingkan intensitas dan kejernihan warna.

#### **F. Teknik Pengumpulan Data**

##### 1. Data Primer

Pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini dengan menggunakan data primer yaitu dengan menggunakan data dan hasil yang ditemukan di lapangan sebagai data langsung yang ditemukan oleh penulis. Data ini dikumpulkan melalui pemilihan sampel dari populasi yang dilakukan oleh

peneliti, diikuti dengan pengambilan sampel, proses penelitian, dan pendokumentasian hasil penelitian. (Sugiyono, 2019).

Dalam menentukan jumlah total sampel dengan menggunakan perhitungan yaitu dengan rumus Federer

Rumus Federer yang digunakan untuk dapat menentukan jumlah pengulangan data yang dapat diperoleh data yang valid dengan uji eksperimen yaitu:

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

Keterangan :

t :total jumlah kelompok perlakuan = 6

n :total jumlah yang dilakukan pengulangan

15 : Derajat kebebasan minimal

Dengan demikian, perhitungan sampel dilakukan sebagai

berikut :

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

$$(6 - 1) (n - 1) \geq 15$$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 15 + 5$$

$$5n = 20$$

$$n = \frac{20}{5}$$

$$n = 4$$

Dari hasil perhitungan tersebut, terdapat 6 kelompok perlakuan yaitu kontrol dengan persentase 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, di mana setiap kelompok diulang sebanyak 4 kali.

## 2. Data Sekunder

Data yang digunakan dari hasil penelitian orang lain atau menggunakan media seperti jurnal, artikel, buku dan acuan dalam penelitian untuk mendukung penelitian ini disebut sebagai data sekunder (Sugiyono, 2019).

## G. Instrumen Penelitian

### 1. Alat

Peralatan yang dipakai dalam penelitian ini terdiri dari neraca analitik, ose cincin, mikroskop, objek glass, lampu spirtus, kaca arloji, tabung reaksi, beaker glass, gelas ukur, kertas saring, tapis, kapas, aluminium foil, kertas HVS, spatula, pipet tetes, inkubator, oven, dan autoclave.

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan mencakup aquades, kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin, Media NA, ekstrak umbi uwi, dan kultur bakteri *Staphylococcus aureus*.

### 3. Prosedur Penelitian

#### a. Pra Analitik

##### a) Sterilisasi alat

- a) Semua alat yang terbuat dari gelas atau kaca dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan.
- b) Setelah kering, alat tersebut dibungkus dengan kertas HVS yang bersih dan tanpa tulisan.
- c) Sterilisasi alat dengan menggunakan kertas atau menggunakan aluminium foil dengan cara dibungkus, dan dimasukkan kedalam oven dengan suhu 171°C selama 2 jam.
- d) Setelah itu, biarkan alat dingin sebelum dikeluarkan.

b) Pembuatan Ekstrak Umbi Uwi

Proses pembuatan ekstrak ini menggunakan metode maserasi.

- a) Kupas umbi uwi.
  - b) Umbi uwi dicuci hingga bersih.
  - c) Dimasukkan 200 gram umbi uwi ke dalam gelas kimia.
  - d) Ditambahkan aquades sebanyak 400 ml.
  - e) Dipanaskan selama 30 menit, setelah itu dinginkan dan saring menggunakan tapis.
  - f) Saring kembali menggunakan kertas saring.
- c) Pembuatan Media NA (Peremajaan Bakteri)

- a) Timbang *Nutrient Agar/NA* sebanyak 2,8 gram dan larutkan dalam 100 ml aquades menggunakan gelas kimia.
  - b) Panaskan media tersebut hingga larut sempurna.
  - c) Tutup bagian atas gelas kimia dengan aluminium foil.
  - d) Dimasukkan kedalam autoclaveselama 15 menit dalam proses sterilisasi dengan suhu yang digunakan 121°C
  - e) Tuangkan 10 ml media NA ke masing-masing tabung reaksi yang sudah disterilkan lalu tutup tabung dengan kapas.
  - f) Di lakukan inkubasi dengan menggunakan suhu ruangan selama 30 menit dengan kemiringan sekitar 30° dengan tujuan dapat mengeras
  - g) Terakhir, inkubasi selama 24 jam.
4. Peremajaan Bakteri
- a) Sterilkan alat dan bahan dengan api bunsen.
  - b) Ambil isolat bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ose bulat.
  - c) Tanamkan bakteri pada media NA dengan cara menggores secara zig-zag, kemudian tutup media dengan kapas.

d) Inkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

e) Amati perubahan koloni yang terjadi pada media.

➤ Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Umbi Uwi

Proses pembuatan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dilakukan dengan rumus berikut (Permatasari et al., 2013):

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Keterangan:

N1 = Konsentrasi awal

V1 = Volume yang dicari

N2 = Konsentrasi yang diinginkan

V2 = Volume yang diinginkan

a) Konsentrasi 100%

1. Ambil 10 ml ekstrak umbi uwi dan masukkan ke dalam gelas ukur.
2. Pindahkan ke tabung reaksi.

b) Konsentrasi 80%

1. Ambil 8 ml ekstrak umbi uwi dan masukkan ke dalam gelas ukur 10 ml.
2. Tambahkan aquades sebanyak 2 ml untuk mencapai volume yang diinginkan.
3. Pindahkan ke tabung reaksi.

## c) Konsentrasi 60%

1. Ambil 6 ml ekstrak umbi uwi dan masukkan ke dalam gelas ukur 10 ml.
2. Tambahkan aquades sebanyak 4 ml untuk mencukupi volume.
3. Campurkan hingga homogen.
4. Pindahkan ke tabung reaksi.

## d) Konsentrasi 40%

1. Ambil 4 ml ekstrak umbi uwi dan masukkan ke dalam gelas ukur 10 ml.
2. Tambahkan aquades sebanyak 6 ml untuk memenuhi volume.
3. Campurkan hingga merata.
4. Pindahkan ke tabung reaksi.

## e) Konsentrasi 20%

1. Ambil 2 ml ekstrak umbi uwi dan masukkan ke dalam gelas ukur 10 ml.
2. Tambahkan aquades sebanyak 8 ml untuk mencukupi volume.
3. Campurkan hingga homogen.
4. Pindahkan ke tabung reaksi.

## 1. Analitik

## a. Kontrol Positif

- 1) Siapkan preparat pada objek kaca berbentuk lingkaran dengan diameter 2-3 cm.
  - 2) Fiksasi di atas bunsen hingga kering.
  - 3) Rendam dalam larutan kristal violet selama 1 menit, lalu cuci dengan aquades.
  - 4) Rendam dalam larutan lugol selama 1 menit, cuci dengan aquades.
  - 5) Rendam dalam larutan alkohol selama 30 detik, bilas dengan aquades.
  - 6) Rendam dalam larutan safranin selama 1 menit, lalu cuci dengan aquades.
  - 7) Observasi preparat menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x dan oil emersi.
- b. Pewarnaan Gram (Eksperimen)
- 1) Siapkan preparat pada objek kaca dalam bentuk lingkaran dengan diameter 2-3 cm.
  - 2) Fiksasi di atas bunsen hingga kering.
  - 3) Rendam ekstrak umbi uwidengan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% selama 1 menit, lalu bilas dengan aquades.
  - 4) Rendam dalam larutan lugol selama 1 menit, kemudian cuci dengan aquades.
  - 5) Rendam dalam larutan alkohol selama 30 detik, kemudian bilas dengan aquades.

6) Rendam dalam safranin selama 1 menit, lalu bilas dengan aquades.

7) Amati preparat menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x.

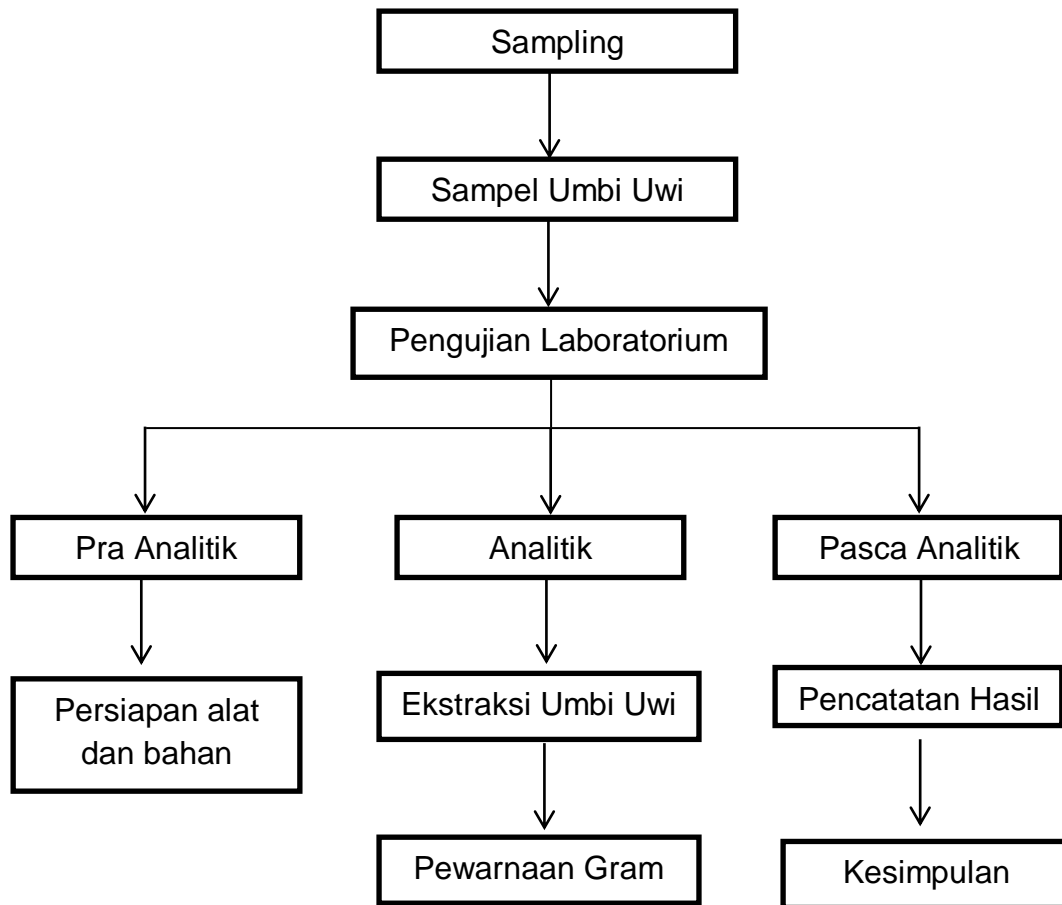
## 2. Pasca Analitik

Interpretasi hasil:

Pewarnaan Gram bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kristal violet (sebagai kontrol positif) menunjukkan warna ungu pekat pada sel berbentuk kokus yang tersusun bergerombol seperti anggur, sesuai ciri khas bakteri Gram positif.

Namun, saat dilakukan pewarnaan dengan ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*), semua konsentrasi (100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%) menghasilkan warna merah dengan intensitas yang berbeda-beda. Sel bakteri tetap tampak berbentuk kokus bergerombol, tetapi tidak menunjukkan warna ungu seperti yang diharapkan pada Gram positif. Dengan demikian, ekstrak umbi uwi tidak mampu mempertahankan karakteristik pewarnaan Gram positif pada *Staphylococcus aureus*.

## H. Alur Penelitian



**Gambar 3.1** : Alur Penelitian

## I. Pengolahan dan Analisa Data

### 1. Pengolahan Data

- a. Pengeditan data adalah proses memeriksa kelengkapan dan konsistensi dari data yang sudah dikumpulkan.
- b. Pengkodean data adalah tahap dimana data diberi kode untuk memperlancar analisis dan mempercepat proses entri data.

c. Tabulasi merupakan langkah berikutnya setelah pengkodean, yang melibatkan penyusunan data ke dalam tabel agar lebih mudah untuk dianalisis.

## 2. Analisis Data

Analisis dilakukan dengan mengumpulkan data eksperimental yang relevan, termasuk waktu inkubasi, konsentrasi pewarna dari ekstrak umbi uwi, dan respon bakteri. Setelah itu, data akan dianalisis secara deskriptif.

## J. Etika dan Ijin Penelitian

Penelitian ini terlebih dahulu dengan memohon izin kepada program studi DIII Teknologi Laboratorium Medis Stikes Panrita Husada Bulukumba. Setelah peneliti mendapatkan responden untuk penelitian, baru kemudian penelitian dilaksanakan dengan memperhatikan aspek etika yang terdiri dari:

1. Kejujuran, yaitu berkomitmen untuk jujur dalam pengumpulan data, pengumpulan bahan, serta pelaksanaan metode dan prosedur penelitian.
2. Keadilan, peneliti harus bersikap adil dalam pelaksanaan penelitian, dengan integritas dan profesionalisme.
3. Manfaat, diharapkan penelitian ini dapat memberikan keuntungan bagi orang lain serta meminimalkan kesalahan dalam desain eksperimen.

4. Ketelitian, berupaya untuk meminimalkan kesalahan dalam prosedur dan secara sistematis mencatat hasil penelitian dengan akurat.

#### K. Jadwal Penelitian

Jenis Kegiatan	Tahun 2024-2025								
	NOV	DES	JAN	FEB	MAR	APR	MEI	JUN	JUL
Screening Judul dan ACC									
Penyusunan Proposal									
Pembimbingan Proposal									
Ujian Proposal									

**Tabel 3.1 : Jadwal Penelitian**

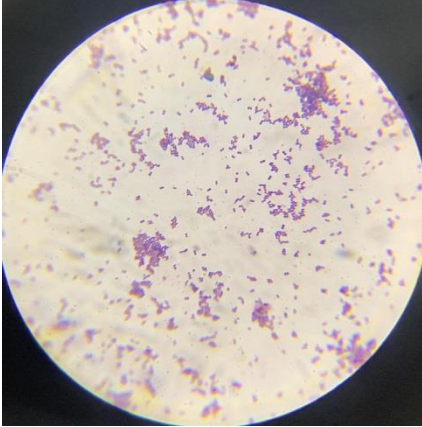
## BAB IV


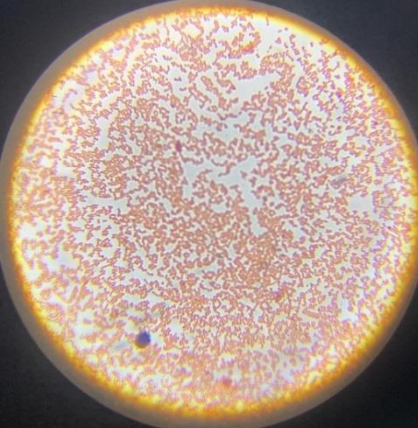
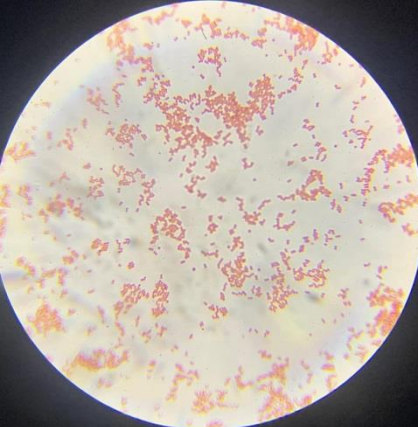
### HASIL PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Penelitian yang digunakan dengan ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*) sebagai pewarna alami pengganti kristal violet pada pewarnaan gram yang dilaksanakan pada Laboratorium Mikrobiologi Prodi Analis Kesehatan Stikes Panrita Husada Bulukumba pada bulan Juli 2025 dengan tujuan melihat hasil pewarnaan yang menggunakan ekstrak umbi uwi. Adapun hasil penelitian sebagai berikut.

**Tabel 4.1** Hasil pewarnaan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ekstrak umbi uwi dan kontrol positif

No	Konsentrasi	Gambar	Hasil Identifikasi
1.	Kontrol Positif		Sel bakteri menunjukkan warna ungu yang dalam, mengindikasikan hasil Gram positif dengan pewarnaan yang sangat efektif dan merata.

2.	Ekstrak 100%		Sel bakteri tampak berwarna merah cerah, dengan distribusi warna yang merata, tingkat kecerahannya mencapai(9/10), meskipun tidak berwarna ungu.
3.	Ekstrak 80%		Sel bakteri tampak berwarna merah, meskipun tidak secerah ekstrak 100%, kecerahannya berada di angka (8/10), tetap tidak menunjukkan warna ungu.
4.	Ekstrak 60%		Sel bakteri tampak merah stabil. Kecerahan berada di kisaran (7/10), tetapi tidak menunjukkan warna ungu.

5.	Ekstrak 40%		Pewarnaan menghasilkan rona merah muda yang relatif pudar. Tingkat kecerahan hanya sekitar (6/10), tetapi tidak menunjukkan tanda-tanda warna ungu.
6.	Ekstrak 20%		Hasil pewarnaan sangat lemah, sel bakteri hanya menunjukkan warna pucat atau hampr tidak tampak dengan intensitas rendah (2/10), sehingga kontras pengamatan menjadi kurang optimal dan tidak menunjukkan warna ungu seperti yang diharapkan.

Dalam penelitian ini bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* yang dilakukan pewarnaan menggunakan ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*) sebagai alternatif kristal violet menghasilkan warna merah pada bakteri. Sebagai perbandingan, kontrol positif menunjukkan warna ungu pada bakteri. Pengamatan dilakukan di bawah

mikroskop dengan empat kali pengulangan dan tiga kontrol positif.

## **B. Pembahasan**

Penelitian ini bertujuan untuk menilai kemampuan perbandingan teknik pewarnaan gram pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan ekstrak umbi uwi (*Dioscorea alata*) dan kristal violet. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif yang ketika diberi pewarna dengan metode Gram menggunakan kristal violet, akan mempertahankan warna ungu atau biru keunguan karena kompleks kristal violet-iodin terperangkap dalam dinding sel yang kaya akan peptidoglikan.

Namun, dari pengamatan mikroskopis terhadap preparat yang diwarnai dengan ekstrak umbi uwi, terlihat bahwa tidak ada sel bakteri yang mampu menyerap warna ungu seperti diharapkan. Sebaliknya, semua sel *Staphylococcus aureus* yang mendapatkan perlakuan dengan ekstrak umbi uwi menunjukkan warna merah atau pink setelah ditambahkan safranin sebagai pewarna tambahan. Ini menunjukkan bahwa ekstrak umbi uwi tidak memiliki daya adhesi atau interaksi yang memadai dengan struktur dinding sel Gram positif, sehingga warnanya mudah terhapus saat proses dekolorisasi dengan alkohol.

Fenomena ini menunjukkan bahwa ekstrak umbi uwi tidak dapat membentuk kompleks yang stabil dengan iodine, atau

tidak memiliki muatan serta komposisi kimia yang mendukung penetrasi dan penahanan di dalam dinding sel Gram positif. Ketika pewarna alami ini hilang, bakteri menyerap safranin dan menjadi tampak berwarna merah, menyerupai bakteri Gram negatif (Ramadani, Rahayu, Nasution, dan Yuniarti, 2023).

Umbi uwi diketahui mengandung antosianin, yaitu pigmen alami dari kelompok flavonoid yang biasanya berwarna ungu hingga biru pada pH netral atau basa. Sayangnya, antosianin sangat rentan terhadap perubahan pH, di mana dalam kondisi pH asam, ia berubah menjadi bentuk *flavylium kation* yang berwarna merah. Oleh sebab itu, sangat mungkin ekstrak yang digunakan berada dalam keadaan pH asam, sehingga tidak menunjukkan warna ungu seperti yang diinginkan, dan secara visual tampak menyerupai safranin (Hamidah, Rianingsih, dan Romadhon, 2019).

Konsentrasi ekstrak juga berperan dalam memengaruhi kekuatan warna, di mana semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak (seperti 100%), maka warna yang dihasilkan cenderung lebih intens. Namun, hal ini tidak mengubah sifat mendasar warnanya, yang tetap merah. Tidak ada konsentrasi ekstrak umbi uwi yang dapat mendekati atau menyerupai warna ungu yang dihasilkan oleh pewarnaan menggunakan kristal violet.

Temuan ini semakin mengkonfirmasi bahwa senyawa aktif dalam umbi uwi tidak memiliki afinitas kimia yang cukup tinggi terhadap dinding sel peptidoglikan seperti kristal violet. Kristal violet, sebagai pewarna dasar, mampu membuat kompleks yang tidak larut dengan iodium (mordan) di dalam sitoplasma bakteri Gram positif. Kompleks tersebut akan terperangkap dalam dinding sel dan tetap ada setelah proses dekolorisasi. Sementara itu, pigmen dalam umbi uwi mungkin tidak memiliki muatan, ukuran molekul, atau stabilitas yang mendukung proses ini.

Hasil dari penelitian sebelumnya yang sejalan dengan studi ini, (Widyasari dan Azizah, 2024) dalam penelitiannya mengenai "Pemanfaatan ekstrak daun bayam merah (*Alternanthera amoena voss*) sebagai pewarna alami pada pewarnaan bakteri *Klebsiella Pneumoniae*", menemukan bahwa pewarnaan dengan pigmen alami tersebut juga menghasilkan warna merah muda, bukan ungu, sehingga tidak dapat menggantikan peran kristal violet. Sedangkan penelitian oleh (Hidayanti et al., 2021) dan (Shafa, 2025) juga menunjukkan bahwa pewarna alami seperti bayam merah dan kol ungu bersifat tidak stabil, sangat dipengaruhi oleh pH, dan belum memiliki kemampuan diferensiasi Gram yang setara dengan pewarna sintesis.

Dari sudut pandang kimia, antosianin adalah senyawa alami yang cukup aman, tidak beracun, dan ramah lingkungan. Namun, senyawa ini memiliki masalah signifikan terkait kestabilan warna, terutama terhadap paparan cahaya, suhu, lama penyimpanan, dan tingkat pH. Di sisi lain, kristal violet menunjukkan keterikatan dan ketahanan warna yang sangat baik, sehingga tetap menjadi pilihan utama untuk aplikasi dalam diagnostik mikrobiologi.

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk secara rinci mengidentifikasi senyawa kimia dalam ekstrak umbi wui yang mungkin memiliki kemampuan sebagai pewarna, serta untuk memahami cara kerjanya saat berinteraksi dengan sel bakteri. Variasi dalam tingkat konsentrasi ekstrak, pH larutan, atau durasi inkubasi mungkin juga perlu diteliti untuk menentukan apakah ada kondisi yang ideal yang bisa mendukung proses pewarnaan. Meskipun demikian, berdasarkan temuan saat ini, umbi wui tidak dapat disarankan sebagai pengganti kristal violet untuk proses pewarnaan *Staphylococcus aureus* dalam metode pewarnaan Gram standar (Safira et al., 2021).

## BAB V

### PENUTUP

#### A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai perbandingan teknik pewarnaan Gram pada bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan umbi uwi (*Dioscorea alata*) serta kristal violet, dapat dipahami bahwa ekstrak umbi uwi tidak dapat menggantikan peran kristal violet sebagai pewarna utama dalam proses pewarnaan Gram.

#### B. Saran

1. Para peneliti di masa yang akan datang sebaiknya mempertimbangkan faktor pH, kestabilan pigmen dalam ekstrak umbi uwi, metode pewarnaan, dan waktu pencelupan dalam tahap pewarnaan.
2. Penelitian juga bisa diperluas untuk mengeksplorasi senyawa aktif yang dominan dalam ekstrak umbi uwi yang mungkin memiliki kemampuan sebagai pewarna, baik dalam kondisi asam maupun basa.

## DAFTAR PUSTAKA

- Acker, K.P., Wong Fok Lung, T., West, E., Craft, J., Narechania, A., Smith, H., ... Prince, A.(2019).Staphylococcus aureus bakteri yang memiliki mutase pada gen metabolic.IScience, 19, 281–290.<https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.07.037>
- Aluf Supardi, Q., Rina Bintari, Y., dan Risandiansyah, R.(2022).Potensi pewarnaan dengan ekstrak methanol dengan menggunakan daun jati (*Tectona grandis*) sebagai pewarnaan sederhana untuk bakteri staphylococcus aureus dan Escherichia coli.Journal of Community Medicine, 10(1), 1–8.
- Ayu Anggraheni, D., Pestariati, & Arifin, S. (2023). Perbandingan Media Nutrient Agar Dengan Bahan Daging Sapi, Daging Kambing Dan Daging Ayam Sebagai Media Pertumbuhan Staphylococcus aureus. *Analisis Kesehatan Sains*, 12(1), 1–4. <https://doi.org/10.36568/anakes.v12i1.71>
- Bonnet, M., Lagier, J. C., Raoult, D., & Khelaifia, S. (2020). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes and New Infections*, 34. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>
- Dedefwin.(2021).Penggunaan buh bit (*beta vulgaris*) sebagai opsi yang diganti dalam pewarnaan gram.Universitas Perintis Indonesia.
- Fakhrzy, Kasim, A., Asben, A., dan Anwar, A.(2020).Metode maserasi dengan optimisasi untuk mendapatkan tannin dan hasil yang tinggi. *Menara Ilmu*, XIV(2), 38–41.
- Febriani, A., Umoro, S.A., Nursa'adah, E., dan Firdaus, M.L.(2022).Malachite green dengan melakukan penyerapan dengan menggunakan kapasitas violet Dye dalam metal organic Organic Frameworks (Fe-BDC).*Jurnal Kependidikan Kimia*, 10(2), 61–72.Diambil dari
- Fitriani, N. (2021). Disertasi Ekstrak Komponen Umbi Uwi Ungu (*Dioscorea Alata L*) Sebagai Antimikroba Extract Of Yam Purple (*Dioscorea Alata L*) Components As An Antimicrobia. *Doctoral Dissertation*.
- Foekh, N. P. (2024). Menggunakan Rebusan Biji Nangka Sebagai Substitusi Media Nutrient agar. *An-Najat: Jurnal Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 2(3), 126–134.
- Habsah, M., M.Amran, M.M.M., Lajis, N.H., Kikuzaki, H., Nakatani, N., Rahman, A.A., dan Ghafar, A.M.A.(2020).Skrining Ekstrak Zingiberaceae untuk Aktivitas Antimikroba dan Antioksidan.Journal of Ethnopharmacology, 72(03), 403–416.Diambil dari

- Hamidah, M.N., Rianingsih, L., dan Romadhon, R.(2019).Kegiatan Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Peda Dengan Variety Ikan Berbeda Terhadap E.Coli Dan S.Aureus.Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan, 1(2), 11–21.
- Hapsari, T.R.(2014).Prospek Uwi Sebagai Makanan Fungsional dan Sumber Diversifikasi Pangan.Buletin Palawija, 0(27), 26–38.
- Helbron, H.(2015).Penggunaan Hemasitometer Untuk Analisis Bakteri Di Laboratorium Universitas Jambi.Ophthalmologica, 15(2), 155–162.
- Hidayanti, A.S.N., Sulfiani, S., dan Taufiq, N.(2021).Pemanfaatan Ekstrak Kulit Ubi Jalar Ungu sebagai Pengganti Crystal Violet dalam Pewarnaan Gram.Jurnal Sehat Mandiri, 16(2), 46–56.<https://doi.org/10.33761/jsm.v16i2.364>
- Isnaeni, P.Ana, Iriantom, A.dan A.(2012).Morfologi Bakteri Staphylococcus Aureus.Jurnal Kesehatan, 6(6), 9–33.Diambil dari
- Javandira, C.(2021).Potensi Umbi Uwi (*Dioscorea alata* L) terhadap Mortalitas Tikus Mencit Putih, 11(21), 16–26.
- Jyoni soni, sristi sinha, and rajesh pandey. (2024). Understanding bacterial panthogenicity: a closer look at the journey of harmful microbes. *Fronties in Mikrobiology*, Figure 1. <https://doi.org/10.3389/fmicb2024.1370818>
- Kurniawati, A., Hariyanto, T., dan Hupitoyo, H.(2023).Potensi Bunga Telang (*Clitorea ternatea* L.) sebagai Pewarna Bakteri Sederhana yang Berbasis Bahan Alam Ramah Lingkungan.Indonesian Journal of Laboratory, 4887(3), 153.
- Lailiyah, M.(2021).Uji Potensi Isolat Jamur *Phanerochaete chrysosporium* dalam Proses Biodegradasi Beberapa Pewarna Sintetik.Skripsi, 1–79.
- Lestari, I.(2020).Pengembangan Bahan Ajar Berdasarkan Kompetensi, 10–27.
- Marbun, R.W.S.(2020).Pemanfaatan Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* Poiret) Sebagai Warna Untuk Pewarnaan Gram Pada Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*.Klinikal Sains: Jurnal Analis Kesehatan, 8(2), 82–89. [https://Doi.Org/10.36341/Klinikal\\_Sains.V8i2.1400](https://Doi.Org/10.36341/Klinikal_Sains.V8i2.1400)
- Ningsih, P.(2017).Penelitian Potensi Pati Umbi Ubi Kelapa (*Dioscorea alata* L) Sebagai Bahan Penghancur Tablet, 11(1), 92–105.
- Nurhidayanti, N. (2022). Perbandingan Media Alternatif Kacang Kedelai dan Media Nutrient Agar Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Indobiosains*, 4(2), 47.

<https://doi.org/10.31851/indobiosains.v4i2.7997>

- Permatasari, N.D., Naisali, H., Ramadhani, P.A., dan Witoyo, J.E.(2025).Tinjauan Pustaka tentang Potensi Tepung Umbi Uwi Ungu (*Dioscorea alata*) dari Kalimantan Barat sebagai Bahan Baku untuk Produksi Bioplastik.Jurnal Ilmiah Pangan Halal, 7(1), 1–18.Diambil dari <https://doi.org/10.30997/jiph.v7i1.16099>
- Putri, A.L., dan Kusdiyantini, E.(2018).Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Produk Fermentasi Berbasis Ikan (Inasua) yang Dijual di Maluku-Indonesia.Jurnal Biologi Tropika, 1(2), 6.<https://doi.org/10.14710/jbt.1.2.6-12>
- Ramadani, A., Rahayu, Y.P., Nasution, M.P., dan Yuniarti, R.(2023).Kajian tentang kontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada ayam krispy yang dijual di pinggir jalan serta di restoran cepat saji di lokasi Teladan Medan.Jurnal Farmasi dan Ilmu Pengetahuan, 6(3), 1265–1272.<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i3.205>
- Safira, F., Munira, dan Rasidah.(2021).Efektivitas antibakteri jus umbi gadung ungu (*Dioscorea alata*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.Jifs, 1(2), 89–97.
- Sari, S.(2024).Penggunaan Pewarna Alami Dari Akar Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L) Sebagai Pengganti Safranin Dalam Pewarnaan Gram Negatif.Jurnal Kesehatan dan Ilmu Medis Deli, 1(2), 17–23.<https://doi.org/10.36656/jdmhc.v1i2.1790>
- Shafa, F.A.(2025).Penerapan metode pewarnaan gram pada *Staphylococcus aureus* dan *E.coli*, (Juni).
- Sunarti, -, Utami, L.B., Bintanah, S., Wardana, A.S., dan Marfuah, D.(2023).Penilaian kandungan antosianin dalam uwi ungu berdasarkan teknik pengolahan seperti mengukus, merebus, dan pemanasan.Jurnal Gizi, 12(2), 64.<https://doi.org/10.26714/jg.12.2.2023.64-71>
- Supriyanto, R., Puteri Anggraini, S., Bahri, S., dan Rilyanti, M.(2021).Fotodegradasi Pewarna Tekstil Kristal Violet Menggunakan Katalis  $ZnO$ /Zeolit Y Melalui Spektrofotometri Uv-Vis.Analit: Kimia Analitik dan Lingkungan, 6(01), 33–45.
- Tantrayana, P.B., dan Zubaidah, E.(2015).Ciri-ciri fisik dan kimia dari ekstrak salak gula pasir menggunakan teknik maserasi.Jurnal Pangan dan Agroindustri, 3(4), 1608–1619.
- Tong, S.Y.C., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L., dan Fowler, V.G.(2015).Infeksi *Staphylococcus aureus*: Epidemiologi, patofisiologi, gejala klinis, dan penanganannya.Tinjauan Mikrobiologi Klinik, 28(3), 603–661.

- Virgianti, D.P.(2017).Pemakaian ekstrak gabungan angkak dan daun jati sebagai pewarna pada prosedur pewarnaan gram.Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan, dan Farmasi, 17(1), 66.
- Widyasari, Y.E., dan Azizah, N.(2024).Uji efektivitas pemanfaatan udara panas buatan dalam proses pembuatan preparat bakteri dengan metode pewarnaan gram.Jurnal Manajemen Laboratorium Pendidikan, 7(1), 49–56.
- Yanto Rahman, D., dan Sulistyowati, R.(2023).Pemanfaatan fotokatalis TiO<sub>2</sub> dan alternatifnya dalam penguraian pewarna sintetik dari limbah cair.Jurnal Ilmu Lingkungan (ESJo), 1(2), 89–105.

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Lembar Persetujuan Judul Proposal

---

### LEMBAR PERSETUJUAN

PEMANFAATAN UMBI UWI SEBAGAI ALTERNATIF PENGGANTI KRISTAL  
VIOLET UNTUK PEWARNAAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

### PROPOSAL KTI

Disusun Oleh :

NURUL MUTMINNAH

NIM. E.22.07.031

Judul proposal KTI ini Telah Disetujui Tanggal

23 Januari 2025

Pembimbing Utama



**ASRIYANI RIDWAN, S.ST., M. BIOMED**  
NIDN.0905059302

Pembimbing Pendamping



**DZIKRA ARWIE, S.Si., M.KES**  
NIDN.0924078805

Lampiran 2. Lembar Persetujuan Acc Proposal

**LEMBAR PERSETUJUAN**

**PERBANDINGAN PEWARNAAN GRAM TERHADAP  
BAKTERI Staphylococcus aureus MENGGUNAKAN  
UMBI UWI (Dioscorea alata) DAN KRISTAL VIOLET**

**KARYA TULIS ILMIAH**

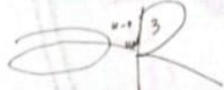
Disusun Oleh:

Nurul Mutmainnah  
NIM. E.22.07.031

KTI ini Telah Disetujui

Tanggal 14 Juli 2025

Pembimbing Utama



Asriyani Ridwan, S.ST.,M.Biomed  
NIDN. 0905059302

Pembimbing Pendamping



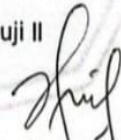
Dzikra Arwie, S.Si.,M.Kes  
NIDN. 0924078805

Penguji I



Siti Khadijah, S.ST.,M.Kes  
NIP. 19740715 199403 2 006

Penguji II



Hj. Rosminar, S.KM.,M.Kes  
NIP. 19740321 199303 2 003

### Lampiran 3. Surat Permohonan Izin Dari Lembaga UPPM



**PEMERINTAH KABUPATEN BULUKUMBA  
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU  
SATU PINTU**

Jl. Ahmad Yani, Kelurahan Caile No. Hp. 082348675757, Kode Pos 92512

**SURAT IZIN PENELITIAN  
NOMOR : 532/DPMTSP/IP/IX/2025**

Berdasarkan Surat Rekomendasi Teknis dari BAKESBANGPOL dengan Nomor: 074/0546/Bakesbangpol/IX/2025 tanggal 25 September 2025, Perihal Rekomendasi Izin Penelitian maka yang tersebut dibawah ini :

Nama Lengkap : **Nurul Mutmainnah**  
Nomor Pokok : **E2207031**  
Program Studi : **DIII Teknologi Laboratorium Medis**  
Jenjang : **D3**  
Institusi : **STIKES Panrita Husada Bulukumba**  
Tempat/Tanggal Lahir : **Bulukumba / 2003-09-07**  
Alamat : **Dusun Moti, Desa Bajiminasa, Kec. Ganratang keke, Kab. Bulukumba**

Jenis Penelitian : **Kualitatif**  
Judul Penelitian : **Perbandingan pewarnaan gram terhadap bakteri Staphylococcus aureus menggunakan umbi uwi (Dioscorea alata) dan kristal violet**

Lokasi Penelitian : **Laboratorium Mimrobiologi Stikes panrita husada bulukumba**

Pendamping/Pembimbing : **Dzikra Arwie/Asriyani Ridwan**  
Instansi Penelitian : **Stikes Panrita Husada Bulukumba**  
Lama Penelitian : **tanggal 17 Juli 2025 s/d 31 Juli 2025**

Jenis Kelamin : **Perempuan**  
No. Hp : **081524768119**

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) eksampelar 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 : 25 September 2025



 Ptt. Kepala DPMTSP  
ANDI ASHADI, SE, MM  
Pangkat : Pembina Tk.I / IV.b  
Nip : 19810705 200501 1 008



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

## Lampiran 4. Surat Izin Penelitian Dari DPMTSP Provinsi Sulawesi Selatan



**PEMERINTAH KABUPATEN BULUKUMBA  
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU  
SATU PINTU**

Jl. Ahmad Yani, Kelurahan Caile No. Hp. 082348675757, Kode Pos 92512

**SURAT IZIN PENELITIAN  
NOMOR : 532/DPMTSP/IP/IX/2025**

Berdasarkan Surat Rekomendasi Teknis dari BAKESBANGPOL dengan Nomor: 074/0546/Bakesbangpol/IX/2025 tanggal 25 September 2025, Perihal Rekomendasi Izin Penelitian maka yang tersebut dibawah ini :

Nama Lengkap : **Nurul Mutmainnah**  
Nomor Pokok : **E2207031**  
Program Studi : **DIII Teknologi Laboratorium Medis**  
Jenjang : **D3**  
Institusi : **STIKES Panrita Husada Bulukumba**  
Tempat/Tanggal Lahir : **Bulukumba / 2003-09-07**  
Alamat : **Dusun Moti, Desa Bajiminasa, Kec. Ganratang keke, Kab. Bulukumba**

Jenis Penelitian : **Kualitatif**  
Judul Penelitian : **Perbandingan pewarnaan gram terhadap bakteri Staphylococcus aureus menggunakan umbi uwi (Dioscorea alata) dan kristal violet**

Lokasi Penelitian : **Laboratorium Mimrobiologi Stikes panrita husada bulukumba**

Pendamping/Pembimbing : **Dzikra Arwie/Asriyani Ridwan**  
Instansi Penelitian : **Stikes Panrita Husada Bulukumba**  
Lama Penelitian : **tanggal 17 Juli 2025 s/d 31 Juli 2025**

Jenis Kelamin : **Perempuan**  
No. Hp : **081524768119**

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 : 25 September 2025



 Ptt. Kepala DPMTSP  
ANDI ASHADI, SE, MM  
Pangkat : Pembina Tk.I / IV.b  
Nip : 19810705 200501 1 008



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

## Lampiran 5. Rumus Jumlah Total Sampel

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

### Keterangan :

t : total jumlah kelompok perlakuan = 6

n : total jumlah yang dilakukan pengulangan

15 : Derajat kebebasan minimal

Dengan demikian, perhitungan sampel dilakukan sebagai berikut :

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

$$(6 - 1)(n - 1) \geq 15$$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n - 5 + 5 \geq 15 + 5$$

$$5n = 20$$

$$n = \frac{20}{5}$$

## Lampiran 6. Dokumentasi Pribadi Penelitian

### ➤ Sterilisasi Alat



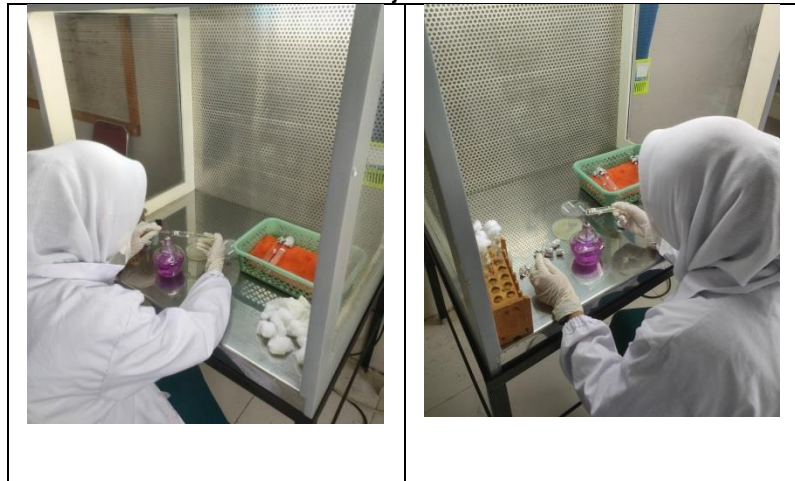
### ➤ Pembuatan Ekstrak Umbi Uwi



➤ Pembuatan Media NA



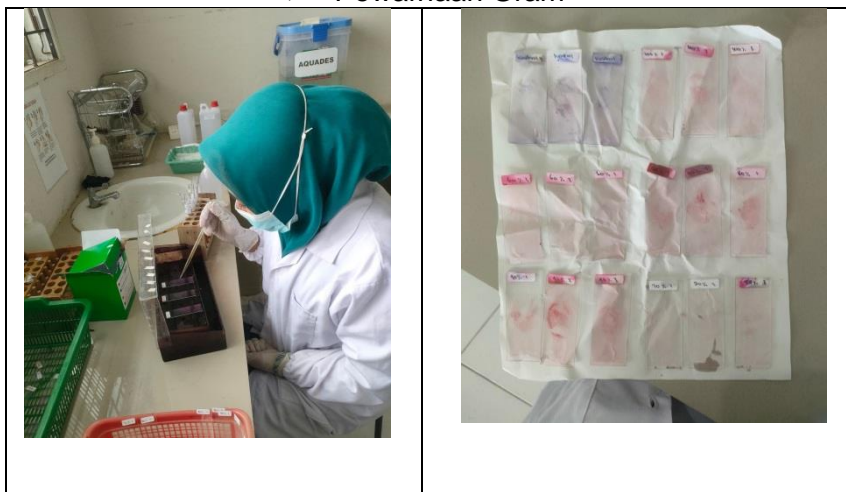
➤ Peremajaan Bakteri



➤ Pembuatan Preparat



➤ Pewarnaan Gram



➤ Pengamatan Di Mikroskop

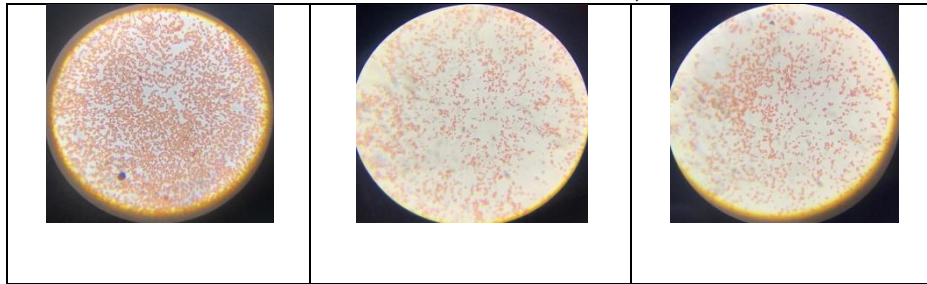


➤ Hasil Pengamatan Eksperimen

Konsentrasi 100% : slide 1,2,3.



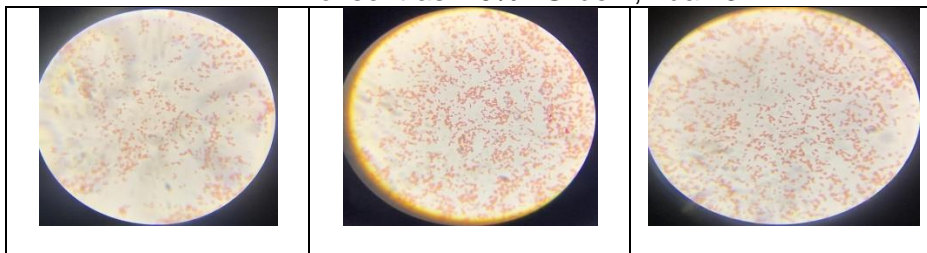
Konsentrasi 80% : Slide 1,2 dan 3



Konsentrasi 60% : Slide 1,2 dan 3



Konsentrasi 40% : Slide 1,2 dan 3

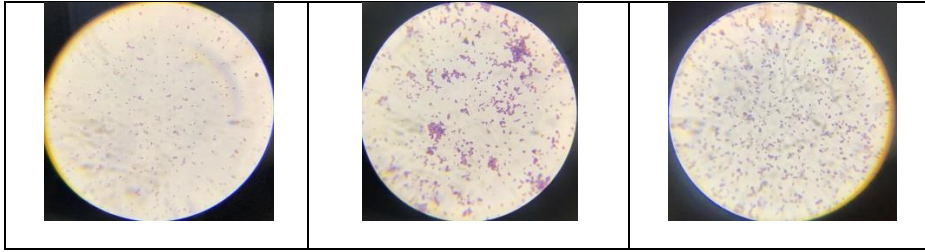


Konsentrasi 20% : Slide 1,2 dan 3



➤ Hasil Pengamatan Kontrol Positif

Kontrol Positif 1,2 dan 3



## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



### A. Identitas Pribadi

Nama : Nurul Mutmainnah

Tempat, Tanggal Lahir : Bulukumba, 07 September 2003

Agama : Islam

Nama Ayah : Jamaluddin

Nama Ibu : Nuraimah

Alamat : Dusun Moti, Kelurahan Bajiminasa, Kec. Gantarang keke, Kab. Bantaeng, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia.

### B. Pendidikan

SD : Tahun 2010-2016 SD Negeri 31 Bontoraja

SMP : Tahun 2017-2019 SMP Negeri 7 Bulukumba

SMA : Tahun 2020-2022 SMA Negeri 3 Bantaeng

Kuliah: Tahun 2023-2025 Stikes Panrita Husada Bulukumba

Demikian daftar riwayat hidup ini dibuat sesungguhnya.

Bantaeng, Agustus 2025

Nurul Mutmainnah