

**POTENSI KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* L.) SEBAGAI PENGANTI
SAFRANIN PADA PEWARNAAN GRAM DAN EOSIN
PADA PEMERIKSAAN TELUR CACING**

The potential of secang wood (*Caesalpinia sappan* L.) as a substitute for safranin in
gram and eosin staining in the examination of worm eggs

Andi Farahdiba Fachsyar

**Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes
Kemenkes**

Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

andi_farahdiba_tlm_20@poltekkes-mks.ac.id/085342213644

ABSTRACT

Sappan wood (Caesalpinia sappan) has benefits, one of which is that it has natural pigments in the form of anthocyanins. This pigment gives red color to secang wood. The purpose of this study was to determine whether secang wood extract can be used as an alternative to gram staining, which replaces safranin as a covering dye and eosin in the examination of worm eggs. Gram staining is done to see or distinguish gram-positive and gram-negative bacteria based on the chemical and physical properties of bacterial cell walls. The bacteria used in this study are gram-positive bacteria and gram-negative bacteria, gram-positive bacteria, namely Staphylococcus aureus and gram-negative bacteria, namely Escherichia coli, and using the concentration of secang wood extract, namely 50%, 60%, 70%, 80%, 90% carried out with 5 trials at each concentration. The method used in this research is experimental with descriptive data processing. The results showed that the dye content in secang wood extract cannot bind to gram-positive bacteria, namely Escherichia coli, which can be concluded that secang wood extract (Caesalpinia sappan L) cannot be used as a substitute for safranin in bacterial Gram staining. While the examination of worm eggs shows that the content of sappan wood extract can be used in the examination of worm eggs with the discovery of Trichuris trichiura worm eggs clearly.

Keywords: *Sappan wood (Caesalpinia sappan L), Gram staining, worm egg examination.*

ABSTRAK

Kayu secang (*Caesalpinia sappan*) mempunyai manfaat, salah satunya adalah mempunyai pigmen alami yang berupa antosianin. Pigmen ini yang memberikan merah pada kayu secang. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah ekstrak kayu secang dapat dijadikan sebagai alternatif pada pewarnaan gram yaitu menggantikan safranin sebagai zat warna penutup dan eosin pada pemeriksaan telur cacing. Pewarnaan gram dilakukan untuk melihat atau membedakan bakteri gram positif dan gram negatif berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel bakteri. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, bakteri gram positif

yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli*, dan menggunakan konsentrasi ekstrak kayu secang yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dilakukan dengan 5 kali percobaan pada setiap konsentrasinya. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental dengan pengolahan data secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan zat warna pada ekstrak kayu secang tidak dapat berikatan dengan bakteri gram positif yaitu *Escherichia coli* yang dapat disimpulkan bahwa ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L*) tidak dapat digunakan sebagai pengganti safranin pada pewarnaan Gram bakteri. Sedangkan pada pemeriksaan telur cacing menunjukkan bahwa kandungan ekstrak kayu secang dapat digunakan dalam pemeriksaan telur cacing dengan ditemukannya telur cacing *Trichuris trichiura* dengan jelas.

Kata Kunci : Kayu secang (*Caesalpinia sappan L*), Pewarnaan gram, Pemeriksaan telur cacing

PENDAHULUAN

Di Indonesia, terdapat beragam jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai bahan dasar untuk obat-obatan, termasuk ramuan tradisional atau minuman herbal yang dikenal sebagai jamu. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai minuman bermanfaat oleh sebagian masyarakat adalah kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*). Tanaman ini, khususnya kayunya, telah menjadi komoditas rempah-rempah yang populer dan diminati oleh banyak orang. (R. Sari & Suhartati, 2016)

Hasil uji fitokimia pada kayu secang menunjukkan keberadaan sejumlah senyawa aktif seperti flavonoid, fenolik, brazilin, tannin, homoisoflavonoid, terpenoid, brazilin, triterpenoid, seskuiterpen, alkaloid, saponin, antrakuinon, polifenol, steroid, monoterpen, chalcones, dibenzoxocins, campesterol, xanthone, dan coumarin. (Hadi et al., 2023). Satu dari senyawa flavonoid yang terdapat dalam kayu secang adalah antosianin. Antosianin merupakan bentuk glikosidik dari senyawa antosianidin dan termasuk dalam kategori flavonoid sebagai bagian dari metabolisme sekunder. Antosianin memiliki efek positif terhadap kesehatan karena memiliki sifat

antibakteri, anti-inflamasi, antioksidan, antikanker, serta menghambat peroksidasi lipid. Hasil ekstraksi kayu secang menunjukkan kandungan antosianin yang sangat tinggi, mencapai 2,43% (Nomer et al., 2019) dibandingkan total antosianin bunga telang kering yang ditunjukkan pada penelitian (Purwaniati et al., 2020) yaitu berkisar antara 0,1080 – 0,1487% dan pada penelitian (Sompong et al., 2011) menunjukkan bahwa beras merah memiliki kadar antosianin kurang lebih 0,33 – 1,39 mg/100 g.

Senyawa antosianin adalah zat yang memberikan warna merah terang yang sering terlihat pada berbagai jenis buah, bunga, dan makanan. Antosianin merupakan pigmen yang larut dalam air dan dapat menampilkan warna merah, biru, atau ungu, tergantung pada tingkat keasaman (pH) lingkungan di mana mereka berada. (Priska et al., 2018). Karenanya, kayu secang yang mengandung antosianin memiliki potensi sebagai alternatif pewarna alami yang dapat menggantikan pewarna sintetis. Salah satu penggunaan pewarna sintetis yang dapat digantikan oleh pewarna alami adalah penggunaan safranin dalam pewarnaan gram bakteri dan eosin dalam pemeriksaan telur cacing.

Pewarnaan Gram adalah teknik yang digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding selnya. Empat reagen digunakan dalam prosedur ini: gentian violet sebagai pewarna dasar, Lugol untuk mengikat pewarna dasar, alkohol 95% untuk menghilangkan pewarna dari sel bakteri, dan safranin sebagai pewarna balasan. Gentian ungu berperan dalam mengikat bakteri gram positif sehingga memberi warna ungu pada bakteri tersebut. Lugol digunakan untuk mempertegas warna dasar dan mengintensifkan warna utama. Alkohol 95% digunakan untuk menghilangkan pewarna dari sel bakteri, sedangkan safranin memberi warna merah jambu pada bakteri gram negatif. (Tripathi & Sapra, 2023).

Safranin merupakan pewarna buatan yang seringkali dipakai dalam proses pewarnaan gram untuk memberikan warna merah pada sampel yang diberi pewarna. Kandungan antosianin dalam safranin bertanggung jawab atas pewarnaan merah yang terjadi pada saat penggunaan safranin sebagai zat pewarna (Priska et al., 2018). Namun, keterbatasan safranin terkait dengan ketersediaannya yang terbatas karena harganya yang tinggi, serta dampak negatifnya pada lingkungan karena sulit diuraikan oleh tanah, mendorong upaya pengembangan alternatif pewarna dari bahan alami yang memiliki sifat dan senyawa serupa dengan safranin. Salah satu alternatif tersebut adalah kayu secang yang mengandung senyawa antosianin. Kayu secang dianggap sebagai pengganti safranin yang efektif karena harganya yang lebih terjangkau, ketersediaannya yang lebih mudah, dan keamanannya yang terjamin saat digunakan dalam proses pewarnaan (Lestari et al., n.d.)

Pada penelitian ekstrak daun bayam merah yang mengandung

antosianin efektif mewarnai bakteri gram negatif (Jannah et al., 2023). Dan pada penelitian (Rizky et al., 2023) yang meneliti sari daun pacar kuku yang mengandung antosianin dapat juga digunakan sebagai alternatif pewarnaan pengganti safranin pada pewarnaan gram.

Selain itu, penelitian ini akan memperluas penggunaan kayu secang dengan memasukkannya dalam proses pemeriksaan telur cacing. Dalam teknik pengamatan telur cacing di bawah mikroskop, agar telur tersebut dapat terlihat dengan jelas, sampel perlu diwarnai. Penggunaan larutan Eosin 2% merupakan salah satu metode sederhana dalam pengamatan telur cacing umumnya digunakan dalam bidang medis dan penelitian. Eosin adalah pewarna yang memiliki sifat asam dan muatannya negatif. Eosin akan berinteraksi dengan struktur basa yang ada dalam sel dan memberikannya warna merah atau merah jambu. (Peckham, 2011).

Pada penelitian sari buah binahong yang juga mengandung antosianin menghasilkan warna merah dan dapat dijadikan sebagai alternatif untuk mewarnai telur cacing. Sifat antosianin sebagai pewarna alami yang menghasilkan warna merah pada telur cacing nematoda usus (Sulaeman et al., 2023). Selain itu, pada penelitian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa*) dengan konsentrasi 5% dapat digunakan sebagai alternatif pengganti dari eosin 2% karena dapat memberikan latar belakang merah pada telur cacing serta memiliki lapangan pandang kontras, telur cacing menyerap warna, dan bagian telur cacing jelas (Abdurrahman et al., 2023).

Perbedaan warna dalam preparat juga dipengaruhi oleh proses ekstraksi. Teknik ekstraksi yang mudah dan sederhana ialah maserasi. Maserasi

merupakan ekstraksi yang sampelnya mengalami perendaman dalam pelarut yang sesuai pada suhu ruang, sehingga zat yang dianalisis dapat larut dalam sampel tersebut. Menurut penelitian (Salsabila & Fuadi, 2023) tentang pengaruh durasi maserasi terhadap kandungan antioksidan yang terdapat dalam zat, termasuk antosianin yang berfungsi sebagai pewarna alami dari kayu secang. Terlihat bahwa semakin lama waktu ekstraksi, semakin tinggi konsentrasi antioksidan yang berhasil diekstraksi.

Pelarut yang umumnya dipakai dalam proses maserasi zat warna mencakup etanol, metanol, dan aquades. Ketiganya memiliki sifat polar yang cocok untuk melarutkan antosianin. (El Husna et al., 2013) menyatakan bahwa etanol adalah pelarut yang efektif untuk mengekstraksi flavonoid, terutama antosianin, karena sifat polaritasnya. Antosianin, sebagai zat warna, cenderung tidak stabil dalam larutan dengan pH netral atau basa, oleh karena itu, ekstraksi dilakukan dalam kondisi asam. Berdasarkan penelitian (Hermawati et al., 2015), menunjukkan pengaruh asam sitrat terhadap sifat antosianin tanaman dan penambahan antosianin daun teh memberikan pengaruh positif terhadap warna es krim.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini dilakukan menggunakan ekstrak kayu secang sebagai substitusi safranin dan eosin yang masih memiliki harga yang relatif tinggi, serta menghindari penggunaan safranin dan eosin yang bersifat toksik dan berpotensi merusak lingkungan. Oleh karena itu, diharapkan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.), yang kaya akan antosianin, dapat menjadi opsi alternatif yang aman sebagai pewarna alami pengganti safranin dan eosin.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian ini bersifat eksperimental yaitu untuk mengetahui apakah ekstrak kayu secang dapat digunakan sebagai pengganti safranin dalam pewarnaan gram terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan pengganti eosin dalam pemeriksaan telur cacing. Tempat penelitian di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar. Waktu penelitian ini pada tanggal 26 April s/d 16 Mei 2024.

Jumlah dan Cara Pengambilan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90%, biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta feses yang infeksi.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah gelas objek, bunsen, ose, rak pewarnaan, mikroskop, gelas kimia, pipet tetes, neraca analitik, rotary evaporator, botol meserat. Bahan penelitian yang digunakan ialah ekstrak kayu secang, biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, feses yang terinfeksi telur cacing, etanol 96%, alkohol 70% kertas saring, larutan karbol gentian violet, lugol, alkohol, safranin, label, dan kertas pH.

Langkah–Langkah Penelitian

a. Pembuatan Larutan Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.)

Sampel kayu secang dibersihkan terlebih dahulu kemudian kayu secang dipotong kecil. Sampel

diambil sebanyak 1 kg dimasukkan ke dalam toples kaca. Tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 9 liter, direndam pada suhu kamar selama 4 × 24 sambil sesekali diaduk, disaring menggunakan kain flannel dan kertas. Filtrat ditampung dalam labu Erlenmeyer, dan sisa simplisia diinkubasi kembali dengan cara yang sama selama 24 jam sampai diperoleh filtrat kedua. Proses maserasi dilakukan sebanyak dua kali hingga seluruh komponen penyusun kayu secang terlarut sempurna. Kedua filtrat tersebut kemudian dicampur dan diuapkan dalam rotatory evaporator pada suhu 50°C hingga mengental. Ekstrak kental yang dihasilkan ditimbang dan disimpan dalam desikator sebelum digunakan pada pengujian selanjutnya.

b. Pengenceran Larutan Ekstrak (*Caesalpinia sappan L.*)

Setelah ekstrak disaring dan dicampur dengan etanol, kemudian dipindahkan ke Erlenmeyer dengan corong menggunakan kertas saring kemudian dilakukan pengenceran ekstrak kayu secang. Pengenceran ekstrak kayu secang dilakukan untuk memperoleh konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%. Menggunakan rumus pengenceran:

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

Keterangan:

V1 = Volume awal

V2 = Volume setelah pelarutan

N1 = Konsentrasi awal (100%)

N2 = Konsentrasi setelah pelarutan (50%, 60%, 70%, 80%, 90%)

c. Proses Pewarnaan Gram Bakteri Menggunakan Ekstrak Kayu Secang (Eksperimen)

Hal pertama yang dilakukan adalah membersihkan kaca objek dengan alkohol, pijarkan jarum ose dan tunggu hingga dingin, lalu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil dari media lalu diratakan di kaca objek dengan jarum ose, kemudian preparat dipijarkan atau diawetkan di atas api Bunsen hingga kering. Kemudian sediaan ditetaskan larutan karbol gentian violet dan didiamkan selama 1 menit, dicuci sediaan dengan air mengalir dan dikeringkan, setelah itu ditetaskan larutan Lugol dan didiamkan selama 1 menit lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan, kemudian ditetaskan larutan alkohol selama 30 detik. dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan, Kemudian sediaan ditetaskan larutan ekstrak kayu secang 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% selama 3 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Sediaan siap diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100x dengan menggunakan oil imersi.

d. Proses Pewarnaan Gram (kontrol)

Membersihkan kaca objek dengan alkohol, pijarkan jarum ose dan tunggu hingga dingin, lalu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil dari media lalu diratakan di kaca objek dengan jarum ose, kemudian preparat dipijarkan atau diawetkan di atas api Bunsen hingga kering. Setelah itu, sediaan ditetaskan larutan karbol gentian violet dan didiamkan selama satu menit sebelum dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Kemudian, sediaan ditetaskan larutan Lugol dan didiamkan selama satu menit sebelum dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.

Selanjutnya, sediaan ditetaskan larutan alkohol selama 30 detik sebelum dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Sediaan siap diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan minyak imersi dengan perbesaran lensa objektif 100 kali.

e. Proses Pemeriksaan Telur Cacing Menggunakan Ekstrak Kayu Secang (Eksperimen)

Membersihkan objek glass terlebih dahulu dengan alcohol, lalu letakkan kurang lebih 1 tetes larutan ekstrak kayu secang pada konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% di atas kaca objek, kemudian diambil sedikit feses dengan menggunakan lidi, lalu dihomogenkan hingga terbentuk suspensi yang homogen (keluarkan bahan-bahan yang kasar), setelah itu tutup dengan deck glass. Kemudian lakukan pemeriksaan dengan menggunakan mikroskop perbesaran lemah (objektif 10x) dan untuk memperjelas morfologi dapat digunakan perbesaran lensa objektif 40x.

f. Proses Pemeriksaan Telur Cacing (kontrol)

Membersihkan objek glass terlebih dahulu dengan alcohol, lalu letakkan kurang lebih 1 tetes larutan ekstrak kayu secang pada konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% di atas kaca objek, kemudian diambil sedikit feses dengan menggunakan lidi, lalu dihomogenkan hingga terbentuk suspensi yang homogen (keluarkan bahan-bahan yang kasar), setelah itu tutup dengan deck glass. Kemudian lakukan pemeriksaan dengan menggunakan mikroskop perbesaran

lemah (objektif 10x) dan untuk memperjelas morfologi dapat digunakan perbesaran lensa objektif 40x.

Pengolahan dan analisis data

Hasil yang telah diperoleh dari pewarnaan gram dan pemeriksaan telur cacing menggunakan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% dianalisis secara deskriptif dengan menyajikan dalam bentuk tabel dari hasil yang diperoleh. Selanjutnya hasil tersebut dibahas dalam bentuk narasi dengan melihat perlakuan konsentrasi yang berbeda dengan kontrol.

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan pewarnaan yang telah dilakukan dari berbagai konsentrasi ekstrak kayu secang yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, hasil pewarnaan dengan konsentrasi ekstrak 50%, 60%, 70%, 80%, 90% didapatkan hasil pewarnaan yang bagus. Pewarnaan dengan cat karbol gentian violet juga dilakukan guna sebagai pembanding memberikan hasil kontras yang bagus. Pada preparat sel bakteri *Escherichia coli* yang diwarnai dengan ekstrak kayu secang memberikan hasil yang tidak bagus dibandingkan dengan cat safranin. Pewarnaan yang dilakukan terhadap biakan bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan ekstrak kayu secang yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90% didapatkan hasil pewarnaan yang tidak bagus, karena tidak mampu memberikan warna pada bakteri, sehingga dapat dikatakan tidak dapat mewarnai bakteri *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif. Pewarnaan dengan cat safranin juga dilakukan guna sebagai pembanding namun memberikan hasil kontras yang bagus.

Sedangkan pada preparat telur cacing yang diperiksa dengan ekstrak kayu secang memberikan hasil yang bagus dibandingkan dengan eosin. Pemeriksaan yang dilakukan terhadap feses infektif dengan menggunakan ekstrak kayu secang dengan berbagai konsentrasi ekstrak kayu secang yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90% didapatkan hasil pemeriksaan yang bagus, terlihat dari pengamatan secara mikroskopis dijumpai morfologi telur cacing *Trichuris trichiura* dapat terlihat jelas.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini bagian kayu secang yang digunakan adalah kayu secang yang telah diserut. Kayu secang belum pernah dimanfaatkan sebagai zat warna pada pemeriksaan laboratorium. Kayu secang memiliki kandungan antosianin yang dapat dijadikan sebagai pewarna, pada penelitian ini dibuat ekstrak kayu secang menggunakan beberapa konsentrasi yaitu konsentrasi pertama mengandung 50% ekstrak kayu secang, ekstrak kedua 60% kayu secang, ekstrak ketiga 70% ekstrak kayu secang, ekstrak keempat 80% ekstrak kayu secang, ekstrak kelima 90% kayu secang. Untuk kontrol menggunakan pewarna utama safranin dalam pewarnaan gram dan eosin dalam pemeriksaan telur cacing. Kemudian dilakukan uji pewarnaan dengan menggunakan ekstrak kayu secang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai gram positif, *Escherichia coli* sebagai gram negatif, dan feses infektif sebagai telur cacing.

Pertama-tama yang dilakukan pada penelitian ini adalah melakukan pengambilan sampel. Sampel diperoleh dari pasar Cekkeng Kabupaten Bulukumba. Kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) yang diperoleh, dibersihkan terlebih dahulu kemudian kayu secang diserut dengan tipis. Sampel yang

diambil sebanyak 1 kilo ditambah sedikit demi sedikit etanol 96% sampai seluruh kayu secang terendam. Adapun alasan pemilihan pelarut etanol 96% yaitu menurut Sari (2021) etanol adalah pelarut yang bersifat polar, universal dan mudah didapat, etanol 96% cocok dijadikan sebagai pelarut karena sifatnya yang mudah menguap dan bersifat polar. Kemudian campuran dimaserasi selama 4 x 24 jam pada suhu ruang, sambil dilakukan pengadukan setiap hari satu kali pengadukan

Berdasarkan Puspita S (2007) semakin lama waktu maserasi maka semakin besar kemungkinan terjadinya kontak antara bahan dengan pelarut, sehingga hasilnya akan terus meningkat hingga pelarut jenuh.. Filtrat disaring dengan menggunakan penyaring dan corong. Filtrat ditampung dalam toples kaca. Selanjutnya filtrat diambil pelarutnya menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair ini nantinya yang kemudian akan diuapkan kembali hingga mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan disimpan di dalam wadah ekstrak.

Hasil ekstrak kental kemudian dibuat konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%. Setelah itu dilakukan pewarnaan dengan menggunakan ekstrak kayu secang dengan berbagai konsentrasi yang telah ditentukan dan dilakukan pula pewarnaan dengan menggunakan reagen kontrol yaitu Safranin. Dan dilakukan juga pewarnaan gram pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai pembandingan dan pembeda bakteri gram positif dan gram negatif, bakteri gram positif akan mengikat zat warna karbol gentian violet yang akan memberikan warna biru atau ungu pada bakteri.

Hal yang pertama yang dilakukan adalah membuat sediaan

bakteri dengan cara mengambil biakan bakteri pada media dengan menggunakan ose bulat kemudian diletakan pada objek glass yang steril dan ditambahkan NaCl 1 tetes kemudian diratakan dan di tunggu hingga kering setelah itu sediaan difiksasi dengan cara sediaan dilewatkan di atas api yang bertujuan untuk melekatkan bakteri pada objek glass, kemudian dilakukan pewarnaan gram dengan menggunakan ekstrak kayu secang sebagai zat warna penutup pengganti Safranin, kemudian dilakukan juga pewarnaan Gram dengan menggunakan Safranin sebagai zat warna penutup. Pada pewarnaan gram diperlukan 4 reagen. Empat reagen tersebut merupakan pewarna utama yaitu karbol gentian violet, mordan (larutan Lugol), pewarna dan alkohol serta bahan penutup yaitu safranin.

Pada hasil pewarnaan Gram yang dilakukan dengan menggunakan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ditemukan bakteri berbentuk basil, berwarna pucat tidak berwarna, latar belakang pucat. Berdasarkan ciri-ciri yang ditemukan bakteri tidak berwarna merah dan tidak dapat diidentifikasi yang artinya ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90% tidak dapat mengikat bakteri gram negatif atau bakteri *Escherichia coli*.

Hasil pewarnaan menggunakan kayu secang tidak efektif dibandingkan menggunakan safranin dikarenakan pembuatan Safranin sudah menggunakan teknologi modern, jika kita bandingkan dengan pembuatan ekstrak kayu secang yang masih menggunakan teknologi sederhana. Berat molekul zat warna tanaman secang yang terlarut dengan baik dapat bervariasi antara berat molekul rendah dan tinggi dibandingkan dengan berat

molekul safranin, sehingga bakteri tidak dapat menyerap warna ekstrak kayu secang sebaik jika menggunakan safranin atau pewarna lain yang berat yang dapat melewati sel, melalui pori-pori sel agar dapat berfungsi dengan baik.

Bergantung pada kondisi pH, antosianin dapat berupa lima bentuk berbeda: kation flavium, basa karbinol, kalkon, basa kuinonoidal, dan basa anionik kuinonoidal. Pada pH asam (1-2), kation flavirium adalah bentuk utama antosianin, yang stabil dan berwarna. Dengan meningkatkan pH, akan terbentuk antosianin kuning (kalkon), senyawa biru (kuinoid), atau senyawa tidak berwarna (karbinol). Oleh karena itu, pigmen ini tidak berubah pada pH asam. (Surianti, dkk,2019).

Selain itu, faktor yang mempengaruhi ekstrak kayu secang tidak dapat mewarnai bakteri yaitu adanya paparan sinar matahari saat proses pengambilan hasil ekstraksi dan suhu penyimpanan yang tidak stabil yang menyebabkan ekstrak kayu secang tidak stabil. Sebuah penelitian (Kurniati dkk., 2012) menemukan bahwa paparan sinar matahari menyebabkan kerusakan pada pigmen yang disebabkan oleh penurunan penyerapan air. Absorbansi perubahan pigmen menjadi bening, sehingga warna merah tidak dapat dilihat. Lama paparan sinar matahari juga menyebabkan penurunan absorbansi. Hal ini mungkin karena energi tinggi sinar ultraviolet matahari dapat menyebabkan reaksi fotokimia, yang menghasilkan radikal bebas yang membuat produk tidak stabil.

Pada penelitian (Hayati dkk, 2013) Antiosianin sangat sensitif terhadap proses termal, yang dapat menyebabkan peningkatan warna coklat, kehilangan warna merah, dan polimerasi dan degradasi pigmen.

Mekanisme pasti dari degradasi termal pada antosianin belum sepenuhnya dapat dijelaskan. Namun, perubahan kation favilium merah menjadi basa karbinol dan akhirnya menjadi kalkon tak berwarna, yang menghasilkan produk dekomposisi berwarna coklat, dapat menyebabkan kerusakan warna dan antosianin. Menurut Elbe dan Schwartz (1996), suhu mengubah kesetimbangan kalkon yang tidak berwarna. Brouillard (1982) juga mengatakan bahwa kation flavilium menjadi kalkon karena suhu tinggi. Setelah cincin dibuka, proses degradasi berlanjut sampai produk berwarna coklat.

Sedangkan pada hasil pemeriksaan telur cacing yang dilakukan dengan menggunakan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ditemukan telur cacing *Trichuris trichiura* dengan morfologi yang jelas, dan latar belakang kuning. Berdasarkan ciri-ciri yang ditemukan telur cacing dapat diidentifikasi yang artinya ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90% menghasilkan lapangan pandang kontras dan telur cacing menyerap warna. Pewarnaan menggunakan Eosin 2% sebagai kontrol menghasilkan lapangan pandang yang kontras. Jadi, pigmen alami ekstrak kayu secang dapat digunakan sebagai pengganti pigmen sintetik yang berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan manusia.

Perbedaan pH antara eosin dan perbandingan konsentrasi perlakuan pewarnaan dapat menyebabkan perbedaan kualitas pewarnaan yang dihasilkan salah satunya (Oktari dan Mutamir, 2017). Ekstrak kayu secang dapat digunakan sebagai pewarnaan alami pada pemeriksaan telur cacing *Soil transmitted Helminths* (STH)

karena memberikan hasil pewarnaan yang baik dengan ditemukannya morfologi telur cacing yang jelas berlatar belakang warna kuning, walaupun tidak berwarna merah seperti eosin 2%. Warna kuning yang dihasilkan, karena adanya perubahan pH pada ekstrak kayu secang, yang memengaruhi kandungan zat merah dari antosianin. Antosianin merupakan senyawa yang bersifat mudah larut dalam air dan mempunyai pigmen berwarna merah.

Dalam penelitian (Oktari et al., 2022), tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dapat digunakan sebagai pewarna alternatif untuk pemeriksaan telur cacing. Peneliti lain juga telah melakukan penelitian dengan menggunakan bahan alami yang juga mengandung zat antosianin sebagai pengganti pewarna eosin 2%, seperti batang pohon jati (Sari et al., 2020), kulit buah manggis (Caniago, 2020), buah bit (Pangindra, 2020), Juhana, 2021, Antosianin menghasilkan berbagai warna, termasuk merah, oranye, biru, dan ungu. Beberapa tanaman menghasilkan antosianin berwarna merah yang terang, yang dapat digunakan sebagai pengganti pewarna telur cacing (Maulina M, 2023)

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada tanggal 26 April s/d 16 Mei 2024 di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar terhadap pewarna alami dari ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90% yang digunakan sebagai pengganti reagen safranin diperoleh hasil pewarnaan bakteri menggunakan ekstrak kayu secang tidak dapat mewarnai bakteri sehingga tidak efektif

dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan pada pemeriksaan telur cacing ekstrak kayu secang dapat digunakan sebagai pewarna alternatif dalam pemeriksaan telur cacing.

SARAN

Berdasarkan kesimpulan di atas maka disarankan :

1. Kayu secang yang digunakan pada proses maserasi dalam bentuk bubuk atau serbuk, agar pigmen merah antosianin yang dihasilkan lebih tinggi.
2. Untuk pemisahan maserat kayu secang dengan pelarutnya dibuat dengan cara fraksinasi supaya zat tidak tercampur dengan bahan aktif lain dalam kayu secang yang dapat mengganggu proses pewarnaan.
3. Ekstrak kayu secang yang didapatkan harus segera dibuat konsentrasi zat warnanya agar antosianin tetap stabil dan tidak mengalami perubahan pH, yang menimbulkan perubahan warna.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih terutama ditujukan kepada orang tua, keluarga, dan kerabat yang telah berkontribusi dalam penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar dan Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis serta civitas akademika yang telah mendukung peneliti dalam melaksanakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abdurrahman, S., Intan, W. O. N., & Amraeni, Y. (2023). Pemanfaatan Limbah Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa*) Sebagai Alternatif Pengganti Eosin 2% Pada Pemeriksaan Telur Cacing Soil Transmitted

Helminth. Jurnal Medilab Mandala Waluya, 7(2), 182–194.

El Husna, N., Novita, M., Rohaya Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, S., Pertanian, F., Syiah Kuala, U., Tgk Hasan Krueng Kalee No, J., & Aceh, B. (2013). Kandungan Antosianin Dan Aktivitas Antioksidan Ubi Jalar Ungu Segar Dan Produk Olahannya Anthocyanins Content And Antioxidant Activity Of Fresh Purple Fleshed Sweet Potato And Selected Products. In Agritech (Vol. 33, Issue 3).

Hadi, K., Setiami, C., Azizah, W., Hidayah, W., & Fatisa, Y. (2023). Kajian Aktivitas Antioksidan Dari Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*). Photon: Jurnal Sain Dan Kesehatan, 13(2), 48–59. <https://doi.org/10.37859/Jp.V13i2.4552>

Hayati, E., Budi, U., & Hermawan, R. (2013). Konsentrasi Total Senyawa Antosianin Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*) : Pengaruh Temperatur Dan Ph. Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry), . Retrieved From <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jchem/article/view/5969>

Hermawati, Y., Rofieq, A., & Wahyono, P. (2015). Peran Biologi Dan Pendidikan Biologi Dalam Menyiapkan Generasi Unggul Dan Berdaya Saing Global.

Jannah, Y. N., Islawati, I., & Asriyani, A. (2023). Pemanfaatan Ekstrak Daun Bayam Merah (*Altherrnantera Amoena Voss*) Sebagai Pewarna Alami Pada

- Pewarnaan Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*. Nuhela Journal Of Injury, 2(2), 154–162.
- Lestari, E., Zuhairroh, Z., & Mufidah, M. (N.D.). Understanding The Kaunyah Verse Through Learning Ecoprint Production And Mordanting With Natural Dyes. Social, Humanities, And Educational Studies (Shes): Conference Series, 6(4).
- Maulina, M. (2023). Optimasi Perasan Bunga Pacar Air (*Impatiens Balsamina L*) Sebagai Pewarna Alternatif Pada Pemeriksaan Telur Cacing Soil Transmitted Helminths (Doctoral dissertation, Universitas Perintis Indonesia).
- Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio Cholerae*. Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (Itepa), 8(2), 216. <https://doi.org/10.24843/Itepa.2019.V08.I02.P12>
- Peckham, M. (2011). Histology At A Glance. John Wiley & Sons.
- Priska, M., Peni, N., Carvallo, L., & Ngapa, Y. D. (2018). Antosianin Dan Pemanfaatannya. Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry), 6(2), 79–97.
- Purwaniati, P., Arif, A. R., & Yuliantini, A. (2020). Analisis Kadar Antosianin Total Pada Sediaan Bunga Telang (*Clitoria Ternatea*) Dengan Metode Ph Diferensial Menggunakan Spektrofotometri Visible. Jurnal Farmagazine, 7(1), 18. <https://doi.org/10.47653/Farm.V7i1.157>
- Salsabila, A. F., & Fuadi, A. M. (2023). Pengaruh Waktu Maserasi Dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Kayu Secang. Jurnal Teknik Indonesia, 2(2), 87–100.
- Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G., & Berghofer, E. (2011). Physicochemical And Antioxidative Properties Of Red And Black Rice Varieties From Thailand, China And Sri Lanka. *Food Chemistry*, 124(1), 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.115>
- Sulaeman, S., Amtaran, N. P. Y., Mulia, Y. S., & Wahyuni, Y. (2023). Pemanfaatan Sari Buah Binahong (*Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis*) Sebagai Pewarna Pada Pemeriksaan Telur Cacing Soil-Transmitted Helminth Pengganti Eosin 2%. Jurnal Kesehatan Siliwangi, 4(1), 381–389.
- Surianti, S., Husain, H., & Sulfikar, S. (2019). Uji Stabilitas Pigmen Merah Antosianin dari Daun Jati Muda (*Tectona grandis Linn f*) terhadap pH sebagai Pewarna Alami. *Chemica: Jurnal Ilmiah Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 20(1), 94-101.
- Tripathi, N., & Sapra, A. (2023). Gram Staining.

Tabel 1
Hasil Pewarnaan Gram Menggunakan Kayu Secang Pada
Bakteri *Staphylococcus aureus* :

No.	Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang	Hasil Pewarnaan
		Ciri-ciri
1.	50%	Bakteri berbentuk coccus, berwarna ungu dan bergerombol seperti anggur, latar baik
2.	60%	Bakteri berbentuk coccus, berwarna ungu dan bergerombol seperti anggur, latar baik
3.	70%	Bakteri berbentuk coccus, berwarna ungu dan bergerombol seperti anggur, latar baik
4.	80%	Bakteri berbentuk coccus, berwarna ungu dan bergerombol seperti anggur, latar baik
5.	90%	Bakteri berbentuk coccus, berwarna ungu dan bergerombol seperti anggur, latar baik
6.	Kontrol	Bakteri berbentuk coccus, berwarna ungu dan bergerombol seperti anggur, latar baik

Tabel 2
Hasil Pewarnaan Gram Menggunakan Kayu Secang Pada Bakteri *Escherichia coli*

No.	Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang	Hasil Pewarnaan
		Ciri-ciri
1.	50%	Bakteri berbentuk basil tidak berwarna, latar belakang pucat.
2.	60%	Bakteri berbentuk basil tidak berwarna, latar belakang pucat.
3.	70%	Bakteri berbentuk basil tidak berwarna, latar belakang pucat.
4.	80%	Bakteri berbentuk basil tidak berwarna, latar belakang pucat.
5.	90%	Bakteri berbentuk basil tidak berwarna, latar belakang pucat.
6.	Kontrol	Bakteri berbentuk, basil berwarna merah, latar baik.

Tabel 3
Hasil Pemeriksaan Telur Cacing Menggunakan Kayu Secang

No.	Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang	Hasil Pewarnaan
		Ciri-ciri
1.	50%	Ditemukan telur cacing <i>Trichuris trichiura</i> , latar belakang berwarna kuning.
2.	60%	Ditemukan telur cacing <i>Trichuris trichiura</i> , latar belakang berwarna kuning.
3.	70%	Ditemukan telur cacing <i>Trichuris trichiura</i> , latar belakang berwarna kuning.
4.	80%	Ditemukan telur cacing <i>Trichuris trichiura</i> , latar belakang berwarna kuning.
5.	90%	Ditemukan telur cacing <i>Trichuris trichiura</i> , latar belakang berwarna kuning.
6.	Kontrol	Ditemukan telur cacing <i>Trichuris trichiura</i> , latar belakang berwarna putih.

Sumber : data primer 2024