

BUAH BIT (*Beta vulgaris L.*) SEBAGAI ALTERNATIF SAFRANIN PADA PEWARNAAN GRAM

Dian Adhe Bianggo NauE¹⁾, Karneli²⁾, Anton Syailendra³⁾,
Indriyani Syafitri⁴⁾, Syafira Wulandari⁵⁾ Widiah Julianti⁶⁾

^{1,2,3,4,5,6}Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Palembang, Jalan Sukabangun 1 No1159, Sukabangun, Kec.Sukarami, Palembang, 30151
E-mail: anggonau@poltekkespalembang.ac.id

Abstract

Crystal violet and Safranin are carcinogenic dyes in the Gram stain. Safe alternative materials are needed to minimize the use of carcinogenic properties. Betalain is a pigment of Beetroot (*Beta vulgaris L.*). The purpose of this study was to determine Beetroot (*Beta vulgaris L.*) as an alternative of Safranin in bacterial Gram staining. It was an experimental research, where to determine the effectiveness of natural dyes, beetroot was made with concentrations of 75%, 90% and 100% with the addition of HCL. The data in this study using the researcher's observation by looking at the existence of bacterial color in Gram staining with beetroot extract substitute the Safranin. *Klebsiella pneumonia* was used as the Gram negative bacteria. Neither beetroot juice nor beetroot extract stained the *Klebsiella pneumonia*. However the *Klebsiella pneumoniae* stained by 100% concentration of beetroot maceration. It can be concluded that Beetroot is less effective for an alternative of Safranin in bacterial Gram staining.

Keywords: *Beetroot, Safranin, Gram stain*

Abstrak

Crystal violet dan Safranin merupakan pewarna dalam pewarnaan Gram yang bersifat karsinogenik. Bahan alternatif yang aman diperlukan untuk meminimalkan penggunaan bahan karsinogenik. Betalain merupakan pigmen yang mempengaruhi warna merah pada umbi bit (*Beta vulgaris L.*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan Bit (*Beta vulgaris L.*) sebagai alternatif pengganti Safranin dalam pewarnaan Gram bakteri. Penelitian ini merupakan eksperimental, dimana untuk mengetahui efektifitas dari pewarna alami Bit dibuat Konsentrasi 75%,90% dan 100% dengan penambahan HCL. Data pada penelitian ini didapat dari observasi peneliti dengan melihat ada tidaknya warna bakteri pada pewarnaan Gram dengan ekstrak buah bit menggantikan Safranin. *Klebsiella pneumonia* digunakan dalam penelitian ini sebagai bakteri Gram negatif. Preparat *Klebsiella pneumonia* tidak terwarnai dengan Air Perasan Bit maupun Ekstrak Bit. Namun *Klebsiella pneumonia* dapat terwarnai dengan Maserasi Bit konsentrasi 100%. Dapat disimpulkan bahwa Bit kurang efektif digunakan sebagai alternatif pengganti Safranin dalam pewarnaan Gram bakteri.

Kata Kunci: *Buah Bit, Safranin, Pewarnaan Gram*

PENDAHULUAN

Mikrobiologi merupakan suatu ilmu yang mempelajari tentang kehidupan mikroorganisme meliputi morfologi, struktur, fungsi serta metabolisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Dibutuhkan pewarnaan yang baik bagi agar bisa melihat morfologi dari bakteri yang akan diteliti. Bakteri mempunyai morfologi, struktur dan sifat-sifat yang khas. Bakteri merupakan mikroorganisme yang berukuran mikroskopik. Selain mikroskopik, bakteri juga hampir tidak berwarna atau transparan dan kontras dengan air. Sehingga melihat dan mengamati bakteri dalam keadaan hidup sangat sulit. Untuk mengatasi hal tersebut maka dikembangkan suatu teknik pewarnaan sel bakteri. Ini merupakan salah satu cara yang paling utama dalam penelitianpenelitian mikrobiologi. Hal itu untuk mempermudah proses identifikasi bakteri. Untuk lebih mudah dilihat sebaiknya bakteri diwarnai dengan zat warna, beberapa zat yang digunakan untuk mewarnai bakteri juga dapat digunakan untuk mengamati struktur bagian dalam sel. Dengan adanya pewarnaan terutama bakteri yang mempunyai sel dengan ukuran yang relatif kecil akan lebih mudah terlihat di bawah mikroskop dengan menggunakan lensa objektif minyak imersi yang mempunyai tingkat pembesaran yang relatif tinggi. Untuk mengidentifikasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi mulamula diamati morfologi sel secara mikroskopik melalui pengecatan atau pewarnaan, salah satunya adalah dengan pewarnaan gram.

Pewarnaan gram merupakan salah satu prosedur yang paling banyak digunakan untuk mencirikan banyak bakteri. Dari pewarnaan gram dapat diketahui morfologi sel antara lain sifat gram, bentuk sel, dan penataan sel. Pewarnaan gram atau metode gram adalah suatu metode empiris untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, Gram positif dan gram negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisika dinding sel mereka, metode ini diberi nama berdasarkan penemunya, ilmuwan Denmark Hans Christian gram 1884. Pewarnaan Gram dibagi menjadi dua yaitu pewarnaan majemuk karena menggunakan lebih dari satu macam zat warna. Dan pewarnaan diferensial karena pewarnaan ini mampu mendiferensiasi atau membedakan bakteri, sehingga bakteri dapat digolongkan menjadi dua yaitu Gram negatif dan Gram positif.

Bit merupakan salah satu bahan pangan yang sangat bermanfaat. Salah satu manfaatnya adalah memberikan warna alami dalam pembuatan produk pangan. Pigmen yang terdapat pada bit merah adalah betalain. Betalain merupakan golongan

antioksidan. Pigmen betalain sangat jarang digunakan dalam produk pangan dibandingkan dengan antosianin dan betakaroten (Putri, 2016). Kandungan vitamin dan mineral yang ada dalam bit merah seperti vitamin B dan kalsium, fosfor, nutrisi, besi merupakan nilai lebih dari penggunaan bit merah. Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang memiliki radikal bebas. Antioksidan akan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Antioksidan banyak terdapat pada buah-buahan dan sayur-sayuran (Putri, 2016). Antioksidan dari bit merah juga dipengaruhi oleh suhu dan pH (Setiawan et al., 2016). Oleh karena itu peneliti bermaksud untuk membuat pewarnaan gram modifikasi dengan bahan alami untuk mendapatkan alternatif penggunaan pewarnaan pengganti pabrikan yang terlampau mahal, dengan melimpahnya sumber daya alam yang dapat digunakan sebagai pengganti pada pewarnaan gram dikarenakan bahan-bahan tersebut mudah didapat dan harganya relatif murah sehingga bisa mendapatkan alternatif penggunaan pewarnaan gram bakteri pengganti Safranin.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen. Buah Bit diolah menjadi 3 bentuk yaitu perasan, maserasi dan ekstraksi. Setiap bentuk itu dibuat pengenceran dengan konsentrasi 75%, 90% dan 100%. Biakan bakteri *Klebsiella sp* dalam inokulan dijadikan kontrol dalam penelitian ini karena *Klebsiella sp* merupakan bakteri Gram negatif yang akan menyerap warna merah Safranin pada pewarnaan Gram. Setiap konsentrasi olahan Bit dijadikan pengganti Safranin pada beberapa kali percobaan kemudian dinilai gambaran bakteri *Klebsiella sp* dari hasil pewarnaan menggunakan olahan Bit dibandingkan dengan *Klebsiella sp* yang diwarnai dengan Safranin. Data ditampilkan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASANTabel 1. Hasil Pewarnaan *Klebsiella pneumonia* Menggunakan Safranin (Pewarnaan Gram)

Konsentrasi	Waktu Penggunaan Safranin		
	2 Menit	3 Menit	5 Menit
1%	Terwarnai	Terwarnai	Terwarnai

Tabel 2. Hasil Pewarnaan *Klebsiella pneumonia* Menggunakan Air Perasan Buah Bit

Konsentrasi	Waktu Penggunaan Air Perasan Daging		
	2 Menit	3 Menit	5 Menit
75%	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai
90%	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai
100%	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai

Tabel 3. Hasil Pewarnaan *Klebsiella pneumonia* Menggunakan Maserasi Buah Bit

Konsentrasi	Waktu Penggunaan Maserasi Daging Buah Bit		
	2 Menit	3 Menit	5 Menit
75%	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai
90%	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai
100%	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Terwarnai

Tabel 4. Hasil Pewarnaan *Klebsiella pneumonia* Menggunakan Ekstrak Buah Bit

Konsentrasi	Waktu Penggunaan Ekstrak Daging Buah Bit		
	2 Menit	3 Menit	5 Menit
75%	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai
90%	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai
100%	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai

Tabel 2 dan 4 menunjukkan bahwa *Klebsiella pneumonia* tidak menyerap warna merah ketika diwarnai dengan air perasan maupun ekstrak Bit pada semua tingkat

konsentrasi. *Klebsiella pneumonia* dapat menyerap warna merah ketika diwarnai dengan hasil maserasi Bit pada konsentrasi 100% seperti terlihat pada table 3.

Betasianin adalah pigmen tumbuhan yang memberi warna kuning, jingga, merah dan ungu pada bagian daun dan buah. Dimana yang memberikan warna merah keunguan adalah betasianin dan yang memberikan warna kuning adalah betaxantin merupakan bagian dari pigmen betalain (Sharan, 2017). Larutan buah bit terdapat kandungan betasianin yang lebih banyak dibandingkan dengan larutan buah naga merah (Nunki et al., 2020) Betasianin akan stabil pada pH 4-4,5 dan pada temperature dibawah 40°C (Castellar et al., 2008). Betasianin yang kemudian akan menghasilkan warna merah atau merah muda/pink Banyak faktor yang dapat mempengaruhi warna pada betasianin selama proses penyimpanan, salah satunya yaitu suhu. Pigmen betalain dalam bentuk betanin dapat terdegradasi karena isomerisasi dan dekarboksilasi atau arah coklat muda. Larutan buah bit dan larutan buah naga yang di diamkan pada suhu ruangan selama 3 hari maka akan menjadi asam dan berubah warna menjadi kuning, hal ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan dehidrogenasi betanin menyebabkan pembentukan neobetainin, yaitu pergeseran warna ke arah kuning. Pemecahan struktur betanin dan isobetainin dapat menghasilkan komponen asam betalamik yang berwarna kuning terang (Tamansari et al., 2019).

Karakteristik betasianin ini yang mungkin mempengaruhi pewarnaan pada bakteri *Klebsiella pneumonia* dimana pada proses ekstraksi betasianin terpaapr suasana asam dan suhu yang tinggi sehingga merusak pigmen tersebut. Hal berbeda terjadi pada maserasi dimana konsentrasi 100% dapat mewarnai *Klebsiella pneumonia* karena pada proses maserasi tidak merusak zat pigmen betasianin tersebut.

SIMPULAN

Buah Bit dapat dipertimbangkan untuk menjadi alternatif Safranin pada pewarnaan Gram namun pengolahannya hanya dengan maserasi saja. Penelitian lanjutan dapat dilakukan dengan kontrol bakteri Gram negatif yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami haturkan kepada Bapak Muhamad Taswin, S.Si,Apt, MM, M.Kes., Selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Palembang

DAFTAR PUSTAKA

- Castellar, M. R., Obón, J. M., Alacid, M., & Fernández-López, J. A. (2008). Fermentation of *Opuntia stricta* (Haw.) fruits for betalains concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(11), 4253–4257. <https://doi.org/10.1021/jf703699c>
- Nunki, N., Titik Mutiarawati, D., & Prayekti, E. (2020). PURPLE SWEET POTATO (*Ipomoea batatas* L.) PEELS EXTRACT AS AN ALTERNATIVE DYE FOR BACTERIA GRAM STAINING. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*, 2(2), 76–84. <https://doi.org/10.33086/ijmlst.v2i2.1655>
- Putri, S. M. N. P. (2016). IDENTIFIKASI DAN UJI ANTIOKSIDAN SENYAWA BETASIANIN DARI EKSTRAK BUAH BIT MERAH (*Beta vulgaris* L.). *Skripsi. FMIPA UNNES, Semarang*.
- Setiawan, M. A. W., Nugroho, E. K., & Lestario, L. N. (2016). EKSTRAKSI BETASIANIN DARI KULIT UMBI BIT (*Beta vulgaris*) SEBAGAI PEWARNA ALAMI. *Agric*, 27(1), 38. <https://doi.org/10.24246/agric.2015.v27.i1.p38-43>
- Sharan. (2017). Ekstrak etanol buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memperbaiki profil lipid tikus (*Rattus Norvegicus*) wistar jantan dislipidemia sama aktif dengan statin. *Intisari Sains Medis*, 8(2), 102–109. <https://doi.org/10.1556/ism.v8i2.117>
- Tamansari, J., No, G., Tamansari, K., & Tasikmalaya, K. (2019). *ARSA (Actual Research Science Academic)*. 4(3), 24–30.