

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Escherichia coli, juga dikenal sebagai *E. coli*, adalah bakteri *coliform* dalam keluarga *Enterobacteriaceae*. Di mana ia memiliki bakteri anaerob fakultatif *Gram-negatif* yang tidak menghasilkan spora. *E. coli* banyak ditemukan di saluran pencernaan mamalia dan dianggap sebagai *flora* alami di usus. Sementara sebagian besar strain *E. coli* dikenal tidak berbahaya, namun beberapa dapat menyebabkan penyakit pada manusia, terutama diare. *E. coli* adalah penyebab utama diare pada manusia (Parashar *et al.* 2003). Dalam beberapa kasus, *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS) dapat menyebabkan gagal ginjal yang disebabkan oleh infeksi *E. coli*. Pada kenyataannya, infeksi ini menimbulkan risiko kematian (FDA 2012).

Pewarnaan Gram adalah prosedur yang digunakan untuk mengkategorikan organisme menjadi dua kelompok, yaitu gram positif dan gram negatif yang merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk mendukung bakteri. Berdasarkan komposisi kimia dan integritas struktural dinding sel bakteri, diferensiasi ini dilakukan oleh kelompok organisme. Respon dinding sel bakteri terhadap safranin atau kristal violet dapat menentukan hasil pewarnaan gram. Karena adanya lipid dalam dinding sel mereka, beberapa bakteri tidak dapat diwarnai menggunakan metode pewarnaan Gram. Bakteri ini memerlukan pewarna tahan asam agar dinding sel mereka dapat diwarnai dengan baik. Pewarna yang digunakan dalam proses pewarnaan ini dapat bersifat alkalin atau asam. Sebuah kromofor, yaitu pewarna basa dan bermuatan positif, bertanggung jawab dalam memberikan warna. Sebaliknya, pewarna negatif, yang bermuatan negatif, memberikan warna karena muatan yang berlawanan (Dwidjoseputro, 2005). Bakteri gram negatif memberikan warna sekunder untuk memberi warna merah pada bakteri gram negatif. Setiap larutan yang dilakukan melalui fiksasi dan

pembilasan dengan akuades. Salah satu pewarnaan yang sering digunakan di laboratorium untuk membedakan bakteri berdasarkan susunannya adalah pewarnaan gram berdasarkan komposisinya. Bakteri gram positif umumnya memiliki ketebalan antara 20 hingga 80 nm dan sebagian besar terdiri dari peptidoglikan dengan ketebalan 2 hingga 7 nm. Bentuknya dapat berupa bola, batang, atau filamen. Beberapa mikroba yang termasuk dalam kategori gram positif adalah *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*, sementara bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak dapat mempertahankan warna kristal violet dalam proses pewarnaan gram sehingga mikroba pada preparat kaca akan berubah menjadi warna merah. Bakteri gram negatif memiliki bentuk batang bulat, oval, lurus, atau melingkar. Lapisan luar pada bakteri gram negatif memiliki ketebalan 7-8 nm dan terdiri dari lipid, protein, dan lipopolisakarida seluler. Contoh mikroba yang termasuk dalam kategori gram negatif adalah *Escherichia coli* (Goyal *et al.*, 2019).

Safranin merupakan pigmen yang dapat digunakan untuk mewarnai dinding sel bakteri pada pewarnaan gram negatif salah satunya bakteri *Escherichia coli*. Pewarna safranin merupakan salah satu pewarna dalam pewarnaan preparate dan juga memberikan warna merah pada preparate. Kandungan di dalam safranin adalah antosianin yang memberi warna merah pada pewarna safranin. Antosianin merupakan senyawa yang berasal dari polifenol dan banyak terdapat pada berbagai tumbuhan. Senyawa ini bertanggung jawab atas warna merah cerah yang terlihat pada banyak buah, bunga, dan makanan. Antosianin adalah pigmen yang larut dalam air yang dapat muncul sebagai warna merah, biru, atau ungu, bergantung pada kondisi pH (Priska *et al.*, 2018).

Namun, harga dari pewarnaan safranin cukup mahal dan cara penyimpanan safranin cukup sulit serta mudah rusak. Safranin juga memiliki kelemahan yaitu bersifat karsinogenik dan pada preparat tertentu safranin sulit terserap. Berdasarkan kelemahan tersebut, maka perlu dicari alternatif pewarna alami dari beberapa tumbuhan yang ada di Indonesia dengan potensi pewarnaan seperti safranin (Sunarmin, 2007).

Bayam merah merupakan salah satu bahan alami yang memiliki potensi sebagai pewarna alami. Bahan ini mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, karotenoid, kantrakuinon, steroid, kumarin, dan fenol. Secara tradisional, bayam merah juga digunakan untuk mencegah osteoporosis, mengobati penyakit kuning (*jaundice*), alergi, serta membantu dalam penyembuhan luka bakar dan mengatasi sengatan ulat bulu atau lipan. Pewarna alami dari bayam merah dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi, termasuk dalam pembuatan krim tabir surya, yoghurt, dan preparat jaringan batang tanaman (Lingga, 2010).

Bayam merah mengandung pigmen antosianin yang tidak ditemukan pada bayam hijau. Antosianin adalah senyawa alami yang terakumulasi di dalam vakuola dan bertanggung jawab atas warna merah, biru, dan ungu pada buah, sayur, bunga, dan tumbuhan. Pigmen antosianin memiliki peran utama sebagai antioksidan dan dapat memberikan manfaat kesehatan. Selain itu, bayam merah juga telah digunakan secara tradisional untuk mencegah penyakit kuning, alergi terhadap cat, osteoporosis, serta mengobati luka bakar dan sengatan ulat bulu atau lipan. Pewarna alami dari bayam merah, termasuk antosianin, sering digunakan dalam berbagai aplikasi, seperti dalam pembuatan krim tabir surya. Zat pewarna yang digunakan dalam pewarnaan gram antara lain Crystal Violet, Lugol's, alkohol, dan safranin. Bakteri gram negatif, seperti *Escherichia coli*, menyerap warna sekunder (safranin), sedangkan bakteri gram positif (*gentian violet*) menyerap warna primer (Priska *et al.*, 2018).

Bakteri *Escherichia coli* dapat didiagnosa dengan pemeriksaan sediaan langsung yang memiliki tahap pemeriksaan. Tujuannya untuk mengetahui apakah pewarnaan pada Bakteri *Escherichia coli* berhasil atau tidak secara langsung dengan menggunakan larutan Safranin 2% memudahkan dalam Pemeriksaan Bakteri *Escherichia coli* dengan adanya warna kemerah-merahan. Bayam merah adalah salah satu varietas bayam yang dapat ditanam dengan mudah. Varian ini termasuk dalam kategori tanaman herbal tahunan yang tumbuh tegak atau sedikit condong dengan tinggi antara 0,4 hingga 1

meter dan memiliki cabang-cabang. Bayam merah dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis dan sub-tropis di seluruh dunia. Tanaman ini memiliki populasi yang tersebar luas di wilayah-wilayah tersebut. (Emelia, Afghani Jayuska, 2020).

Beberapa penelitian telah menunjukkan keefektifan penggunaan pewarna alami bayam merah sebagai alternatif pewarna sintetis, termasuk penelitian yang dilakukan dengan menggunakan daun bayam merah dan diekstraksi dengan pelarut etanol 96%, peneliti melakukan penelitian untuk menentukan waktu perendaman yang optimal untuk pembuatan indikator asam basa alami. Waktu perendaman bervariasi dari 16 jam hingga 26 jam, termasuk 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam, dan 26 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu perendaman yang ideal untuk ekstraksi antosianin maksimal adalah 24 jam (Yulfriansyah & Novitriani, 2016).

Adapun penelitian lain yang dilakukan oleh Ayu Iestari (2017), tentang potensi ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) Ekstrak daun bayam merah dapat digunakan sebagai pewarna alami dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning pada prosedur pengujian stabilitas warna dengan berbagai kadar pH. Waktu optimum untuk memperoleh ekstrak daun bayam merah adalah perendaman 72 jam dengan rendaman ekstrak daun bayam merah sebesar 0,62 % dan nilai kadar antosianin adalah 1,48%.

Penelitian mengenai ekstrak daun bayam merah sebagai alternatif pengganti safaranin pada pewarna Gram dengan ekstrak daun bayam merah tanpa *freeze dry* dan konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan dibandingkan dengan kontrol menunjukkan hasil bahwa Safranin dapat disubstitusi dengan ekstrak daun bayam merah pada pewarnaan Gram untuk *Escherichia coli*, dengan konsentrasi ideal 20%. (Dian Tomayito 2019).

Sejumlah penelitian dilakukan terhadap penggunaan bayam merah sebagai pewarna. Namun, belum ada penelitian yang dilakukan mengenai aplikasinya sebagai pewarna pengganti *E. coli* gram negatif sebagai pengganti safaranin dalam proses pewarnaan gram pada sediaan bakteri *Escherichia coli*, penelitian ini akan berkonsentrasi pada penggunaan daun bayam merah

sebagai alternatif pewarna gram dan pengaruh perendaman dengan lama waktu yang bervariasi, antara lain 24, 36, dan 48 jam.

B. Rumusan Masalah

- 1 Apakah daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) berpotensi sebagai pewarna alternatif pengganti safranin dalam pewarnaan gram *E. coli*?
- 2 Apakah terdapat perbedaan variasi waktu rendaman daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) pada pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* sebagai pewarna alternatif pengganti safranin?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Untuk memperjelas perbedaan variasi waktu rendaman daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) pada pemeriksaan bakteri (*Escherichia coli*) sebagai pewarnaan alternative pengganti safranin.

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui potensi rendaman pada daun bayam merah yang direndam selama 24 jam pada pemeriksaan bakteri (*Escherichia coli*)
- b. Untuk mengetahui potensi rendaman daun bayam merah yang direndam selama 36 jam pada pemeriksaan bakteri (*Escherichia coli*)
- c. Untuk mengetahui potensi rendaman daun bayam merah yang

direndam selama 48 jam pada pemeriksaan bakteri (*Escherichia coli*)

Untuk menganalisis variasi waktu rendaman daun bayam merah yang direndam selama 24,36, dan 48 jam pada pemeriksaan bakteri (*Escherichia coli*) sebagai alternative pengganti Safranin.

D. Manfaat Penelitian

4. Bagi Penulis

Untuk memperluas wawasan, meningkatkan pengetahuan dan pemahaman mengenai rendaman pada larutan daun bayam merah yang direndam dengan waktu 24, 36, dan 48 jam dalam percobaan pada pewarnaan bakteri *Escherichia coli* sebagai pewarna alternative pengganti Safranin.

5. Bagi Masyarakat

Untuk memberikan informasi khususnya kepada tenaga laboratorium mengenai rendaman larutan daun bayam merah dengan waktu 24, 36, dan 48 jam dalam mewarnai bakteri *Escherichia coli* sebagai alternatif pengganti safaranin.

6. Bagi Insitusi

Untuk digunakan sebagai bahan studi, latar belakang pengetahuan, atau informasi untuk penyelidikan lebih lanjut mahasiswa Politeknik Aisyiyah Pontianak TLM, khususnya dalam bidang bakteriologi.

E. Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengaruh variasi waktu perendaman daun Bayam merah pada pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* sebagai alternatif pewarna pengganti safranin. Pemilihan tanaman alami sebagai salah satu variable penelitian karena ramah lingkungan, tidak berbahaya bagi kesehatan, dan dapat mengurangi pewarna sintetis yang berbahaya. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Politeknik Aisyiyah Pontianak pada waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober hingga Desember tahun 2022.

F. Keaslian Peneliti

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penulis/ Tahun	Judul	Desain	Kesimpulan
Erna Krisnawati dkk.2022	Pemanfaatan Ekstrak Daun Jati (<i>Tectona grandis</i>) Sebagai Pewarna Alternatif Zat Warna Safranin Pada Pewarna Prepare Bakteri	Eksperimental	Hasil Penelitian dan kesimpulan menunjukkan bahwa Pada pewarnaan preparat bakteri yang diwarnai dengan ekstrak daun jati memperoleh kualitas pewarnaan yang baik pada konsentrasi 4% dan 5%. sehingga daun jati jenis <i>Tectona grandis</i> dapat digunakan sebagai alternative pewarnaan bakteri <i>Escherichia coli</i> .

Escherichia coli.

Victorinus Alfino Pratama 2021	Perbedaan Variasi Waktu Rendaman daun Bayam Merah (<i>Amaranthus tricolor L.</i>) Pada Telur Cacing Nematoda Usus Sebagai Pewarna Alternatife Pengganti Eosin	Eksperimental	Hasil Penelitian dan Kesimpulan ini menunjukkan bahwa Pada penelitian perbedaan waktu rendaman daun bayam merah yang dilakukan pengulangan 9 kali termasuk kontrol menggunakan eosin dan hasil dari larutan daun bayam merah yang berbeda waktu perendaman yaitu 24, 36, dan 48 jam menunjukkan bahwa larutan daun bayam merah tersebut bisa mewarnai telur cacing salah satunya telur cacing <i>ascaris lumbricoides</i> . Hasil paling baik dan jelas terdapat pada larutan dengan waktu 48 jam.
Dian Tomayito 2019	Ekstrak Daun Bayam Merah (<i>Amaranthus tricolor L.</i>) Sebagai Pewarna Alternatif Pengganti Safranin Pada Pewarnaan Gram	Eksperimental	Hasil Penelitian dan kesimpulan ini menunjukkan bahwa pada Ekstrak daun bayam merah sebagai pewarna alternatif pengganti safranin pada pewarnaan gram yang menggunakan konsentrasi 10%, 15%, 20% dan dibandingkan dengan control, dan penelitian ini menunjukkan daun bayam merah dapat digunakan sebagai alternatif pengganti safranin pada pewarna Gram terhadap <i>Escherichia coli</i> dengan konsentrasi optimum 20%.

Penelitian yang dilakukan di sini berbeda dengan penelitian di atas dalam hal sampel yang sama. Dengan variabel, lokasi penelitian dan menggunakan pewarna safranin.