

# Pemanfaatan ekstrak etil asetat buah merah sebagai zat pengganti pewarna primer pada teknik pengecatan tunggal bakteri gram negatif batang

Achsanul Dzuriyati Rahayuningtyas<sup>1</sup>, Warta Dewi<sup>1\*</sup>, Indrati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Oral Biologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Padjadjaran

\*Korespondensi: [warta.dewi@fkg.unpad.ac.id](mailto:warta.dewi@fkg.unpad.ac.id)

DOI: [10.24198/jkg.v29i2.18583](https://doi.org/10.24198/jkg.v29i2.18583)

## ABSTRAK

**Pendahuluan:** Buah merah merupakan salah satu buah yang banyak terdapat di Indonesia, terutama di daerah Papua. Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) mengandung karoten dan betakaroten yang menyebabkan warna merah yang sangat pekat pada buah merah. Tujuan penelitian untuk memanfaatkan ekstrak etil asetat buah merah sebagai pengganti zat pewarna primer bakteri gram negatif batang pada teknik pengecatan tunggal. **Metode:** Penelitian dilakukan secara deskriptif dengan cara melakukan teknik pengecatan tunggal. Pertama, dibuat biofilm tipis *Escherichia coli* sebagai objek penelitian pada kaca preparat, kemudian ekstrak etil asetat buah merah diteteskan di atasnya sebagai pengganti zat warna karbol fuchsin (pewarna primer). **Hasil:** Hasil pengecatan tunggal dilihat di bawah mikroskop dan data hasil pengecatan di tabulasikan atau dicatat pada tabel. Ekstrak etil asetat buah merah tidak dapat mewarnai bakteri gram negatif batang. **Simpulan:** Ekstrak etil asetat buah merah tidak dapat digunakan sebagai zat warna pengganti pewarna primer pada proses pengecatan tunggal bakteri gram negatif batang.

**Kata kunci:** *Pandanus conoideus* Lam, *Escherichia coli*, pengecatan tunggal

## ***Utilization of ethyl acetate extract of Pandanus conoideus lam. as substitution for simple staining techniques of gram-negative rods bacteria***

## ABSTRACT

**Introduction:** Red fruit is one of fruits in Indonesia, especially in the Papua region. Red fruit (*Pandanus conoideus* Lam) contains carotene and betacarotene which causes a very thick red color on the red fruit. The purpose of this study was to utilize ethyl acetate extract of red fruit as primary dye substitute for simple staining techniques of Gram-negative rod bacteria. **Methods:** The study was carried out descriptively by doing a simple staining technique. First, a thin biofilm of *Escherichia coli* as a study object was made on a object glass, then the ethyl acetate extract of red fruit was dripped over it as a substitute for fuchsin carbolic dye (primary dye). **Results:** The results of a simple staining are seen under a microscope and the results are tabulated or recorded in the table. Ethyl acetate extract of Red fruit cannot stain gram-negative rod bacteria. **Conclusion:** Ethyl acetate extract of red fruit cannot be used as a dye substitute for primary dye in the process of simple staining gram-negative rod bacteria.

**Keywords:** *Pandanus conoideus* Lam, *Escherichia coli*, simple staining

## PENDAHULUAN

Bakteri merupakan mikroorganisme yang banyak terdapat di dalam tubuh manusia. Bakteri dapat bersifat patogen dan apatogen. Bakteri yang bersifat patogen dan apatogen dapat menyebabkan penyakit dalam tubuh manusia dan disebut oportunistik patogen.<sup>1</sup> Bakteri bersifat patogen jika sudah menimbulkan suatu infeksi atau penyakit di dalam tubuh inangnya, salah satunya adalah *Escherichia coli*, dapat ditemukan pada tubuh manusia, bakteri juga dapat ditemukan di dalam air, makanan, tanah yang sering kita injak ataupun dalam pakaian kita sendiri.

Bakteri tidak dapat dilihat oleh mata telanjang, ukuran mereka yang sangat kecil menyebabkan kita tidak dapat melihat mereka, tetapi bakteri dapat menyebabkan penyakit meskipun tidak dapat dilihat secara langsung. Bakteri dapat dilihat bentuk, ukuran, dan jenisnya dengan menggunakan beberapa teknik pewarnaan. Pewarnaan pada bakteri dibutuhkan untuk membedakan spesies dan untuk kebutuhan diagnosis. Bakteri dibagi menjadi gram negatif dan gram positif melalui teknik pengecatan gram. Bakteri gram negatif memiliki membran luar setelah dinding sel. Membran ini melindungi seluruh bagian sel, dan struktur serta komposisinya seperti membran sitoplasma.<sup>2</sup>

Bagian lapisan dalam dari dinding sel terbuat dari peptidoglikan dan dilapisi oleh membran luar dengan ketebalan yang berbeda dan komposisi yang berbeda pula tergantung dari pewarnaan gram bakteri tersebut. Dinding sel dari gram positif dan negatif memiliki struktur yang penting dan struktur kimia yang berbeda, lapisan peptidoglikan pada bakteri gram positif lebih tebal dibandingkan pada bakteri gram negatif. Organisme pada bakteri gram negatif memiliki lapisan luar membran yang lebih kompleks terdiri dari lipopolisakarida (LPS), lipoprotein, dan fosfolipid.<sup>3</sup>

Pewarnaan yang paling sederhana adalah dengan menggunakan *simple staining* atau metoda teknik pengecatan tunggal. Pewarnaan atau pengecatan tunggal yaitu pengecatan dengan menggunakan satu reagen zat pewarna. Tujuan dari pengecatan atau pewarnaan adalah untuk memasukkan zat warna ke dalam tubuh bakteri dan sebagai deteksi awal untuk mendiagnosa bakteri secara mikroskopis. Pewarnaan dasar dengan kromogen yang bersifat positif lebih

disenangi karena asam nukleat pada bakteri dan beberapa komponen dinding bakteri mempunyai molekul negatif yang mengikat terhadap *cationic chromogen*.<sup>4</sup>

Bakteri juga diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok melalui teknik pengecatan gram yaitu gram negatif dan gram positif, tetapi dengan teknik pengecatan tunggal, kita tidak dapat mengelompokkan bakteri ke dalam kelompok seperti teknik pengecatan gram, hanya untuk mempelajari dan melihat bentuk bakteri dan susunannya, serta membedakan dengan bagian-bagian lain yang bukan bakteri. Bahan yang paling banyak digunakan untuk pewarnaan tunggal adalah methylene blue yang menghasilkan warna biru, kristal violet yang menghasilkan warna ungu, dan karbol fuchsin atau air fuchsin yang menghasilkan warna merah.<sup>5</sup> Banyak pengecatan yang menggunakan bahan kimia untuk melakukan pewarnaan yang telah disebutkan sebelumnya, tetapi terdapat masalah jika menggunakan bahan kimia yang sudah ada produksi pabrik yaitu harganya yang sangat mahal.

Penggunaan bahan herbal atau alami sudah banyak diteliti untuk sifat-sifat anti bakterinya atau antioksidannya, oleh para peneliti, salah satunya adalah dengan menggunakan buah merah (*Pandanus conoideus* Lam).<sup>6</sup> Buah merah merupakan salah satu buah yang berasal dari daerah Papua. Masyarakat Papua banyak menggunakan buah merah sebagai bahan pangan. Buah merah banyak mengandung zat-zat gizi bermanfaat atau senyawa aktif dalam kadar tinggi seperti betakaroten, tokoferol, serta asam lemak seperti asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, dan asam dekanat. Selain itu juga, buah merah banyak dipercaya oleh masyarakat Papua memiliki khasiat yang banyak untuk kesehatan seperti mengobati penyakit cacing, obat penyakit kulit, obat kanker, obat hipertensi, dan obat diabetes mellitus.

Penelitian mengenai buah merah sudah banyak dilakukan oleh para peneliti, salah satunya adalah pengaruh ekstrak buah merah terhadap pertumbuhan in vitro limfosit dan sel tumor.<sup>7</sup> Buah merah memiliki kadar tinggi betakaroten yang dapat menghasilkan warna merah yang sangat baik menyerupai air fuchsin, dan belum pernah diteliti untuk pewarnaan terhadap bakteri menggunakan buah merah untuk mengeluarkan komponen

betakaroten dari buah merah ini dapat digunakan teknik pembuatan ekstrak yang menggunakan bahan-bahan pelarut air, etanol, methanol, dan etil asetat. Penelitian mengenai buah merah juga telah dilakukan untuk mengetahui uji antioksidan, kandungan fenolik total, dan kandungan flavonoid dari buah merah.<sup>8</sup> Dipilih ekstrak etil asetat karena etil asetat memiliki sifat semipolar sehingga dapat mengekstrak komponen glikon yang polar dan komponen aglikon yang nonpolar sehingga ekstrak ini memiliki rendemen ekstraksi yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol maupun methanol dan dari hasil penelitian pendahuluan diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak etil asetat, cukup baik dapat mewarnai bakteri gram negatif dibandingkan pelarut-pelarut yang lainnya.<sup>9,10</sup>

Tujuan dari penelitian pendahuluan ini adalah untuk memanfaatkan ekstrak etil asetat buah merah sebagai pengganti zat pewarnaan primer bakteri gram negatif batang pada teknik pengecatan tunggal.

## METODE

Penelitian pendahuluan ini dilakukan secara deskriptif. Populasi dalam penelitian pendahuluan ini adalah buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) dari Papua. Sampel dalam penelitian pendahuluan ini adalah ekstrak etil asetat buah merah. Bahan yang digunakan pada penelitian pendahuluan ini adalah kultur jaringan agar nutrient *Escherichia coli* ATCC 25922 yang sudah didiamkan selama 24 jam, ekstrak etil asetat buah merah, air, spiritus, NaCl dan karbol *fuchsin*. Alat yang digunakan pada penelitian pendahuluan ini antara lain adalah

mikroskop, timbangan, gelas ukur, pipet, oese, lampu spiritus, korek api, *glass slides*, rak kayu, kertas saring, dan tissue.

Penelitian pendahuluan ini dilakukan dengan dua tahapan, yaitu yang pertama pembuatan ekstrak etil asetat buah merah serta melakukan pengecatan tunggal pada bakteri *Escherichia coli*. Pembuatan ekstrak etil asetat buah merah tahapannya yaitu, Buah merah dipersiapkan sebanyak kurang lebih 150 gram, kemudian dikeringkan terlebih dahulu, kemudian dihaluskan. Setelah buah merah kering dan halus, kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etil asetat sebanyak 1500 ml, dengan perbandingan 1:10.

Maserasi dilakukan selama kurang lebih 24 jam pada suhu kamar. Filtrat didapatkan dengan melakukan penyaringan pada buah merah yang sudah dilakukan maserasi. Filtrat kemudian dipekatkan dengan rotary vacuum evaporator pada suhu 50°C sampai diperoleh filtrat yang kental. Filtrat kental yang diperoleh selanjutnya dikeringkan dengan proses freeze drier untuk menghilangkan sisa pelarut yang masih ada. Ekstrak buah merah yang sudah didapatkan sebelumnya kemudian dimasukan ke dalam konsentrasi 100%, yang kemudian disterilisasikan dengan menggunakan oven pada suhu 80°C selama satu jam dalam waktu tiga hari berturut-turut.

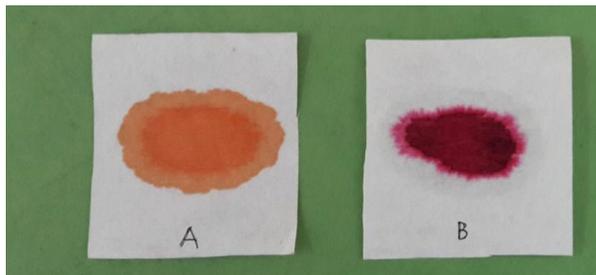
Tahapan kedua pada penelitian pendahuluan ini dilakukan dengan melakukan pengecatan tunggal pada bakteri, diawali dengan mempersiapkan *glass slides* yang akan digunakan dengan membersihkannya secara bersih dengan mencucinya menggunakan sabun dan air serta sudah dikeringkan. Kemudian buat film tipis dari



Gambar 1. A. Hasil Inokulasi *escherichia coli*; B. Ekstrak etil asetat buah merah; C. ekstrak etil asetat buah merah dengan alkohol 96% (A. ekstrak etil asetat buah merah, B. karbol fuchsin)

RHS 60A	13	Deep Red	109	11	34	6d0b22
RHS 60B	255	Strong Purplish Red	121	10	43	790a2b
RHS 60C	255	Strong Purplish Red	137	20	58	89143a
RHS 60D	255	Strong Purplish Red	164	34	79	a4224f
RHS 61A	256	Deep Purplish Red	103	10	45	670a2d
RHS 61B	255	Strong Purplish Red	141	17	62	8d113e
RHS 61C	254	Vivid Purplish Red	183	31	83	b71153
RHS 61D	248	Deep Purplish Pink	220	62	124	dc3e7c
RHS 62A	247	Strong Purplish Pink	229	95	160	e55fa0
RHS 62B	250	Moderate Purplish Pink	230	119	173	e677ad
RHS 62C	249	Light Purplish Pink	235	142	188	eb8ebc
RHS 62D	252	Pale Purplish Pink	234	174	212	eaed4

Gambar 2. Degradasi warna berdasarkan RHS colour chart<sup>11</sup>



Gambar 3. Perbandingan hasil zat warna: A. Ekstrak etil asetat buah merah; B. Karbol fuchsin



Gambar 4. Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian

bakteri yang akan diberikan pewarnaan pada *glass slides* dan tunggu sampai mengering dengan sendirinya kemudian lakukan fiksasi dengan cara dipanaskan secara pelan-pelan pada lampu spiritus. Taruh *glass slides* pada rak besi kemudian berikan ekstrak etil asetat buah merah yang sudah dipersiapkan sebelumnya dengan waktu yang sesuai dan sudah ditentukan. Cuci preparat yang sudah diberikan ekstrak etil asetat buah merah dengan air yang mengalir. Gunakan kertas saring untuk mengeringkan *glass slides* tetapi tidak disapu bersih karena akan menghilangkan bakteri tersebut. Periksa hasil pewarnaan di bawah

Tabel 1. Hasil uji ekstrak etil asetat buah merah

Nomor Preparat	Hasil
1	-
2	-
3	-
4	-
5	-
6	-
7	-
8	-
9	-
10	-
11	-
12	-
13	-
14	-
15	-
16	-
17	-
18	-
19	-
20	-
21	-
22	-
23	-
24	-
25	-
26	-
27	-
28	-
29	-
30	-

Keterangan: (+) = gambaran preparat terlihat di bawah mikroskop; (-) = gambaran preparat tidak terlihat di bawah mikroskop

mikroskop setelah diberikan *oil immersion* terlebih dahulu. Sebagai kontrol dibuat teknik pengecatan tunggal dengan bakteri yang sama menggunakan zat warna air *fuchsin*.

## HASIL

Pertumbuhan *Escherichia coli* ditemukan pada lempeng agar biasa dengan karakteristik bentuk koloni bulat, cembung dengan diameter 0,5–1mm dan berwarna seperti kilat logam. Pemeriksaan pada koloni tersebut dengan pengecatan Gram memperlihatkan bahwa bakteri berwarna merah atau Gram negatif dan berbentuk batang pendek. Koloni kemudian ditanam kembali secara sektoral pada lempeng agar biasa untuk meremajakan kembali bakteri *Escherichia coli* selama kurang lebih 24 jam.

Hasil ekstraksi buah merah menggunakan etil asetat menghasilkan ekstrak buah merah berupa cairan kental berwarna merah dan dimasukkan ke dalam botol steril yang kemudian disimpan di dalam lemari pendingin untuk menjaga sterilitas (Gambar 1.B). Pembuatan zat warna dari ekstrak etil asetat buah merah dilakukan dengan menggunakan rumus untuk mendapatkan zat warna yang dapat digunakan dalam penelitian. Zat warna yang akan digunakan untuk penelitian pendahuluan ini harus selalu dibuat baru dan dilakukan sesuai dengan perbandingan yang sudah ditetapkan sebelumnya.

Larutan yang dihasilkan dari rumus perbandingan tersebut menghasilkan larutan berwarna merah pekat (Gambar 1.C). Bahan cat yang dihasilkan kemudian dapat digunakan untuk penelitian ini yaitu untuk melakukan pewarnaan pada bakteri gram negatif batang yaitu *Escherichia coli*.

Hasil uji pendahuluan yang dilakukan sesuai dengan metode penelitian yang sudah dijelaskan sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dapat mewarnai bakteri gram negatif, pada penelitian pendahuluan ini menggunakan *Escherichia coli*, meskipun hasil pewarnaan pada bakteri yang menggunakan ekstrak etil asetat buah merah tidak terlalu bagus jika dibandingkan dengan karbol fuchsin.

Hasil uji ekstrak etil asetat buah merah sebagai pengganti zat pewarna primer menghasilkan hasil yang cukup memuaskan. Penelitian pendahuluan ini melakukan 30 kali pengulangan dengan menggunakan preparat yang

berbeda sebagai pencegahan agar zat warna yang digunakan tidak tercampur dengan zat warna lainnya sehingga hasil yang didapatkan lebih akurat dibandingkan jika menggunakan satu *glass slides* untuk dua preparat.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian pendahuluan ini (Gambar 4) sudah dipersiapkan sebelum melakukan penelitian untuk memperlancar penelitian pendahuluan ini. Penelitian kemudian dilakukan dengan membuat film tipis pada *glass slides* kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan zat pewarna yang sudah dibuat sebelumnya. Setelah dilakukan pewarnaan maka hasilnya dilihat menggunakan mikroskop setelah diberi *oil immersion* terlebih dahulu. Hasil setelah diberikan pewarnaan dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil pewarnaan pada bakteri *Escherichia coli* menggunakan zat pewarna yang dihasilkan dari ekstrak etil asetat buah merah adalah tidak dapat mewarnai bakteri *Escherichia coli*, hasil yang didapatkan dari percobaan dengan menggunakan 30 sampel tidak menghasilkan pewarnaan pada bakteri seperti yang diharapkan sebelumnya.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian pendahuluan terhadap 30 sampel preparat bakteri berdasarkan tabel yang sudah terlampir sebelumnya dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat buah merah tidak dapat mewarnai bakteri *Escherichia coli* jika dibandingkan dengan menggunakan karbol *fuchsin* yang digunakan untuk mewarnai bakteri gram negatif ataupun bakteri gram positif.

Buah merah menghasilkan warna yang sangat merah dikarenakan buah merah mengandung kandungan karoten dan betakaroten yang menyebabkan warna merah yang sangat baik dan sering digunakan sebagai zat warna meskipun buah merah belum pernah dipakai sebagai zat warna untuk mewarnai bakteri.<sup>12,13</sup> Buah merah juga memiliki manfaat lainnya seperti obat bahan alam yang dipercaya dapat menyembuhkan beberapa penyakit seperti HIV/AIDS, stroke, kanker payudara, kanker rahim, thalasemia, asam urat, tekanan darah tinggi, tumor, kista, diabetes, gangguan prostat, dan gangguan imunitas. Pereda batuk, penyubur rambut, dan obat cacing juga dipercaya dapat disembuhkan dengan buah merah.<sup>14</sup> Nilai karoten dan betakaroten tertinggi

terdapat pada buah merah yang menghasilkan sari berwarna merah. Kandungan karoten dan betakaroten inilah yang menyebabkan konsentrasi ekstrak buah merah ini berwarna merah dan diduga dapat mewarnai bakteri.

*Enterobacteriaceae* adalah kelompok besar batang gram negatif yang heterogen, habitat alamnya adalah saluran usus manusia dan hewan. *Enterobacteriaceae* mencakup banyak genus seperti *Eschericia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, dan *Proteus*. Beberapa organisme enterik, misalnya *Eschericia coli* merupakan bagian flora normal dan kadang-kadang bersifat oportunistik patogen sehingga dapat menyebabkan penyakit, sedangkan seperti *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, dan *Pseudomonas* bersifat patogen atau menyebabkan penyakit. *Enterobacteriaceae* merupakan anaerob fakultatif atau aerob, meragikan sejumlah besar karbohidrat, memiliki struktur antigen yang kompleks, dan menghasilkan berbagai jenis toksin dan faktor virulensi yang lain.<sup>15</sup>

*E.coli* merupakan bakteri gram negatif batang pendek, dan membentuk koloni yang bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata pada medium perbenihan. Ukuran sel dengan panjang 2,0 – 6,0  $\mu\text{m}$  dan lebar 1,1 – 1,5  $\mu\text{m}$ . Bentuk dari sel seperti coccal hingga membentuk sepanjang ukuran filamentous. Tidak ditemukan spora, dan selnya bisa terdapat tunggal, berpasangan, dan berflagel.<sup>16</sup> *E.coli* merupakan anggota flora normal usus. *E.coli* berperan terhadap sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu, dan penyerapan zat-zat makanan.

*E.coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , energi, dan mineral. Bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan di dalam lingkungan hidup.<sup>17</sup> Teknik pengecatan tunggal adalah menggunakan satu jenis cat pewarna saja untuk mewarnai bakteri. Bakteri bereaksi dengan zat pewarna sederhana karena sitoplasma bakteri bersifat basofil. Zat-zat warna yang digunakan untuk pewarnaan sederhana umumnya bersifat alkalin (komponen kromofornya bersifat positif).

Pewarnaan ini memungkinkan dibedakannya bakteri dengan bermacam-macam tipe morfologi seperti coccus (bulat), basillus (batang), vibrio yang berbentuk seperti koma, dan bentuk-bentuk lainnya seperti spiral yang termasuk golongan spirochaeta dan sebagainya dari bahan-bahan yang terdapat pada preparat yang akan diwarnai.<sup>18</sup>

Hasil pewarnaan menggunakan buah merah tidak sebaik menggunakan karbol fuchsin dikarenakan pembuatan karbol fuchsin sudah menggunakan teknologi yang sangat modern, dan jika dibandingkan dengan pembuatan ekstrak etil buah merah yang masih menggunakan teknologi yang sangat sederhana. Berat molekul zat warna yang berhasil dipisahkan yang terdapat pada buah merah kemungkinan bervariasi antara berat molekul kecil hingga besar jika dibandingkan dengan ukuran molekul karbol fuchsin, sehingga bakteri tidak dapat menyerap warna ekstrak etil asetat buah merah sebaik jika menggunakan karbol fuchsin, atau molekul zat warna yang kebetulan berukuran besar tidak dapat melewati pori membrane sel yang bersifat semipermeabel.

Membran yang terdapat pada bakteri memiliki sifat selektif permeabel sehingga molekul-molekul yang dapat masuk ke dalam tubuh bakteri memiliki ukuran yang lebih kecil dari ukuran pori membran. Sedangkan ukuran-ukuran molekul yang lebih besar yang terdapat pada buah merah tidak dapat memasuki tubuh bakteri meskipun memiliki sifat-sifat dapat mewarnai, sehingga hasil pewarnaan tidak akan maksimal bahkan tidak dapat mewarnai bakteri tersebut.

Betakaroten dan karoten yang terdapat pada buah merah memiliki sifat yang dapat mewarnai sangat baik, tetapi dikarenakan ukuran molekul yang cukup besar sehingga tidak dapat memasuki tubuh bakteri, maka hasil yang didapatkan dengan menggunakan ekstrak etil asetat buah merah tidak sebaik atau tidak dapat mewarnai bakteri, jika dibandingkan dengan menggunakan karbol fuchsin, sehingga untuk memisahkan zat warna ini supaya tidak tercampur dengan bahan aktif lain dalam buah merah sebaiknya dibuat dengan cara fraksinasi.

## SIMPULAN

Ekstrak etil asetat buah merah tidak dapat digunakan sebagai zat pengganti pewarnaan primer pada bakteri gram negatif batang.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG. *Biologi*. 2<sup>nd</sup> ed. Jakarta: Penerbit Erlangga; 2003.
2. Miller CH, Palenik CJ. *Infection Control and Management of Hazardous Materials for the Dental Team*. 5<sup>th</sup> ed. St. Louis: Elsevier Health Sciences; 2013. h. 208-9.
3. Samaranayake L. *Essential Microbiology for Dentistry*. 3<sup>rd</sup> ed. London: Churchill Livingstone; 2006. h. 10.
4. Cappuccino JG, Sherman N. *Microbiology: A laboratory manual*. 8<sup>th</sup> ed, San Fransisco: Benjamin Cummings; 2007. h. 15-6.
5. Bancroft JD, Gamble M. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 6<sup>th</sup> ed. St. Louis: Elsevier Health Sciences; 2008. h. 121-83.
6. Priyono SH. Kajian konservasi buah merah melalui kultur jaringan tanaman; Ekstrasi, fraksinasi buah, uji antioksidan, dan uji antidiabetik. *J Tek Ling* 2008;9(3):227-34.
7. Indriatmoko DD, Kumala S, Kusmardi. *Activities of red power fruit (Pandanus conoideus lam.) extract on poliferation of lymphocytes and mammary gland tumor cells in vitro*. *Farmagazine* 2017;4(2):1-13.
8. Sandhiutami NMD. Uji Aktivitas Antioksidan Kandungan Fenolik Total dan Kandungan Flavonoid Total Buah Merah. [Laporan penelitian]. Universitas Udayana Denpasar. 2007.
9. Dewi W, Djaja JA, Malinda Y. Ekstrak metanol buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai zat warna pembanding dalam teknik pengecatan gram. [Laporan penelitian] Universitas Padjadjaran Bandung. 2016.
10. Tensiska, Marsetio, Yudiastuti SON. Pengaruh jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kasar isoflavon dari ampas tahu. [Laporan penelitian] Universitas Padjadjaran Bandung. 2007.
11. Royal Horticultural Society. *Colour guide Royal Horticultural Society*. Tersedia pada: <http://rhscf.orgfree.com/>
12. Heyne K. *Tumbuhan berguna Indonesia*. 1<sup>st</sup> ed. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya; 1987. h. 918-20.
13. Budi IM, Paimin FR. *Buah Merah*. Depok: Penebar Swadaya; 2005. h. 3-50.
14. Sukirno S, Rungkat FZ, Palupi NS. Efek pemberian ekstrak dan minyak buah merah (*Pandanus conoideus lam*) terhadap toksisitas sel limfosit manusia secara in vitro. *J Tumb Obat Ind*. 2009; 2(1): 37-41.
15. Brooks GF, Melnick JL, Adelberg EA, Jawetz E. *Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiologia médica*. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2011. h. 243-50.
16. Faridz R, Hafiluddin, Anshari M. Analisis Jumlah Bakteri dan Keberadaan *Escherichia coli* pada Pengolahan Ikan Teri di PT. Kelola Mina Laut Unit Sumenep. *Embryo*. 2007; 4(2): 94-106.
17. Ganiswarna S. *Farmakologi dan Terapan*. 4<sup>th</sup> ed. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1995. h. 381-2.
18. Hadioetomo RS. *Mikrobiologi dasar dalam praktek: Teknik dan prosedur dasar laboratorium* Jakarta: Gramedia; 1993. h. 121-2.