

## EFEKTIVITAS BUAH DELIMA SEBAGAI ALTERNATIF SAFRANIN PADA PEWARNAAN GRAM NEGATIF *SAFONELLA SP.*

Fenti Nurmailah<sup>1\*</sup>, Isnin Aulia Ulfah Muawanah<sup>2</sup>, Aji Bagus Widyantara<sup>3</sup>

Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta<sup>1,2,3</sup>

\*Corresponding Author : fentinur174@gmail.com

### ABSTRAK

Pewarnaan gram merupakan teknik untuk membedakan antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri tersebut memiliki perbedaan pada susunan peptidoglikan pada struktur dinding selnya. Bakteri gram positif akan memberikan hasil akhir berwarna ungu. Bakteri gram negatif akan memberikan hasil akhir yaitu warna merah, hal ini disebabkan karena saat pemberian larutan pemudar zat warna utama akan hilang sehingga diperlukan zat warna penutup yaitu safranin. Safranin memiliki kelebihan yaitu efisien dan menghasilkan warna yang stabil. Namun safranin memiliki kelemahan yaitu harga yang relatif mahal dan memiliki sifat karsinogenik. Antosianin adalah pigmen yang memberikan warna merah pada buah delima, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif zat warna penutup safranin pada pengecatan gram bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi buah delima sebagai alternatif pengganti safranin dalam pewarnaan gram negatif bakteri *Salmonella* sp. Penelitian ini merupakan eksperimental, dengan mengetahui kemampuan dari pewarnaan menggunakan air perasan buah delima yang didapatkan dengan menghaluskan buah delima lalu diperas diambil airnya dan dibuat variasi konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, dan 60% dengan penambahan etanol sebagai pelarutnya. Data pada penelitian ini didapat dari observasi dengan melihat dibawah mikroskop hasil pewarnaan gram menggunakan perasan buah delima yang dibandingkan dengan kontrol safranin. Preparat bakteri *Salmonella* Sp. tidak terwarnai dengan air perasan buah delima di semua konsentrasi. Dapat disimpulkan bahwa buah delima dengan pengambilan secara perasan tidak efektif digunakan sebagai pengganti safranin pada pengecatan gram bakteri.

**Kata kunci** : antosianin, buah delima, pewarnaan gram

### ABSTRACT

*Gram staining is one of the techniques to distinguish between gram-positive and gram-negative bacteria. These bacteria have differences in the peptidoglycan composition of their cell wall structure. Gram-positive bacteria will produce a purple final result. Gram-negative bacteria will produce a red final result, this is because when given a decolorizing solution, the main dye will be lost so that a covering dye is needed, namely safranin. Safranin has the advantage of being efficient and producing a stable color. However, safranin has the disadvantage of being relatively expensive and having carcinogenic properties. Anthocyanin is a red pigment in pomegranate fruit, so it can be used as an alternative to safranin covering dye in gram staining of bacteria. The purpose of this study was to determine the potential of pomegranate fruit as an alternative to safranin in gram-negative staining of *Salmonella* sp. This study was experimental, by determining the coloring ability using pomegranate juice obtained by smoothing pomegranate fruit then squeezing the water and varying the concentration by 100%, 90%, 80%, 70%, and 60% with the addition of ethanol as a solvent. The data in this study were obtained from observations by looking under a microscope at the results of gram staining using pomegranate juice compared to safranin control. *Salmonella* Sp. bacterial preparations were not stained with pomegranate juice at all concentrations. It can be concluded that pomegranate juice is not effective as a substitute for safranin in bacterial gram staining.*

**Keywords** : anthocyanin, pomegranate, gram staining

### PENDAHULUAN

Mikrobiologi adalah cabang ilmu yang mempelajari mikroorganisme seperti morfologi, struktur, dan metabolisme bakteri yang tidak dapat dilihat tanpa alat bantu. Bakteri merupakan

mikroorganisme yang berukuran kecil dan tidak berwarna, sehingga sangat sulit untuk mengidentifikasi bakteri. Ada beberapa cara untuk mengidentifikasi bakteri. Salah satunya adalah dengan pewarnaan sel bakteri agar lebih mudah dilihat. Bakteri dapat diwarnai dengan pewarna. Pewarnaan membuat bakteri yang berukuran kecil terlihat di bawah mikroskop dengan perbesaran tinggi (NauE dkk., 2022).

Pengecatan Gram adalah metode yang digunakan untuk mengklasifikasikan bakteri berdasarkan sifatnya, yaitu menjadi Gram positif dan Gram negatif (Marbun dkk., 2020). Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang bersumber dari peptidoglikan tebal dan tidak mengandung lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida. Sebaliknya, bakteri gram negatif tersusun dari dinding sel yang bersumber dari peptidoglikan tipis yang dilapisi oleh lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida. (Karimela dkk., 2017). Safranin merupakan zat warna penting pada bakteri Gram negatif karena bakteri ini hanya mampu mengikat warna merah safranin setelah zat warna utamanya, kristal violet, hilang (Abdulrahman dkk., 2020). Safranin memiliki kelebihan yaitu efisien dan menghasilkan warna yang stabil. Namun, safranin memiliki kekurangan yaitu harganya cukup mahal dan memiliki sifat karsinogenik. Oleh karena itu, perlu untuk mencari alternatif pewarna sintetis dengan memanfaatkan bahan-bahan alami yang mudah diperoleh, memiliki kegunaan yang sama, serta aman bagi kesehatan dan lingkungan (Saputri & Asngad, 2018).

Salah satu tanaman yang memiliki pigmen warna alami adalah buah delima merah (*Punica granatum L.*) yang merupakan salah satu sumber antioksidan dari tanaman yang kaya akan polifenol dan antosianin. Antosianin ini memberikan warna merah, ungu, dan biru pada buah, sayur, dan bunga (Syarifah & Mulyono, 2015). Antosianin yang terkandung dalam buah dan sayur cukup tinggi, misalnya pada buah delima merah dengan kadar 16,5 - 26,9/100 gram sari buah (Januarsih, 2019). Antosianin bersifat larut dalam air dan ditemukan di sel epidermis buah, akar, serta daun (Samber dkk., 2013). Pada penelitian sebelumnya oleh Jiwintarum dkk. (2018) pewarnaan gram tidak dapat dilakukan pada buah naga merah dengan kandungan antosianin sebesar 75,04 mg/100 gram, karena buah naga memiliki kadar air yang relatif tinggi (90,2%), sehingga kemampuan mengikat zat warna belum ada. Sedangkan buah delima memiliki kandungan air yang lebih rendah, sehingga diduga bakteri dapat diwarnai dengan perasan buah delima (Jiwintarum dkk, 2018).

Antosianin adalah turunan dari satu struktur aromatik, yaitu sianidin, dari pigmen sianidin melalui penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi, dan glikosilasi. Antosianin adalah senyawa amfoter yang dapat bereaksi dengan baik terhadap asam maupun basa (Permatasari dkk., 2023). Antosianin juga bersifat polar, untuk memperoleh ekstraknya dapat dilarutkan dalam larutan polar (Mulyani, 2014).

Pewarna alam di Indonesia, khususnya yang mengandung antosianin, banyak digunakan untuk mewarnai baik makanan maupun tekstil. Manfaat pewarna alam lainnya adalah digunakan dalam bidang mikrobiologi sebagai pewarna akhir pada pewarnaan Gram bakteri. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu pewarna alami mampu untuk digunakan sebagai alternatif pewarna sintetis. Misalnya penelitian Virgianti (2017) yang menggunakan ekstrak gabungan daun angkak dan daun jati. Penelitian ini menunjukkan bahwa pada saat dilakukan perendaman selama 10 menit pewarna akhir yang terbuat dari gabungan daun angkak dan daun jati, diperoleh hasil pewarnaan yang diperoleh cukup baik, meskipun tidak sebanding dengan kontrol. Sebagaimana ditunjukkan dalam penelitian oleh NauE dkk. (2022) menyatakan buah bit dapat terwarnai ketika diwarnai menggunakan maserat buah bit pada konsentrasi 100%.

Berbagai penelitian yang menggunakan buah delima sebagai pewarna sudah cukup banyak, misalnya pada penelitian Yanty dkk. (2018) buah delima digunakan sebagai formulasi lipstik dan pada penelitian Permatasari dkk. (2023) buah delima digunakan sebagai pengganti eosin pada pewarnaan Papanicolau. Namun, belum ada penelitian yang meneliti tentang

penggunaan buah delima sebagai alternatif pewarna Gram, khususnya untuk bakteri Gram negatif (*Salmonella sp.*). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi buah delima merah sebagai alternatif pewarna Gram pada berbagai konsentrasi.

## METODE

Pada penelitian ini, metode eksperimen diterapkan dengan menggunakan sistem *quasi eksperimen*. Desain penelitian yang digunakan adalah *static group comparison*, yaitu satu kelompok mendapat perlakuan khusus kemudian diamati hasil pewarnaan pada tingkat konsentrasi yang berbeda.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, gelas ukur, erlenmeyer, ose bulat, mikroskop, objek glass, lampu spiritus, blender, pinset, pipet ukur, pipet tetes, rak pewarnaan, alat tulis. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah strain bakteri *Salmonella sp.*, buah delima, aquades, minyak imersi, tisu, kain flanel, alkohol, spiritus, etanol, gentian violet, lugol, alkohol aseton, dan safranin.

### Pembuatan Perasan Buah Delima

Buah delima dipisahkan dengan kulitnya. Kemudian buah delima dihaluskan menggunakan blender, lalu disaring dan tempatkan pada 5 wadah yang berbeda, untuk membuat varian konsentrasi, kemudian masing-masing ditambahkan etanol sesuai dengan konsentrasi yang akan dibuat dan beri label pada wadah tersebut.

### Pembuatan Konsentrasi

Konsentrasi 100% yaitu perasan buah delima 20 ml, konsentrasi 90% yaitu perasan buah delima 18 ml : etanol 2 ml, konsentrasi 80% yaitu perasan buah delima 16 ml : etanol 4 ml, konsentrasi 70% yaitu perasan buah delima 14 ml : etanol 6 ml, konsentrasi 60% yaitu perasan buah delima 12 ml : etanol 8 ml.

### Pembuatan Preparat Gram

Panaskan ose dengan api Bunsen hingga membara, tunggu sebentar hingga dingin, kemudian ambil suspensi bakteri dengan ose, letakkan pada kaca objek dan ratakan membentuk lingkaran, biarkan hingga kering, kemudian fiksasi di atas api bunsen. Proses fiksasi ini bertujuan untuk membunuh dan merekatkan bakteri, tetapi tidak untuk mengubah bentuk dan komponen sel.

### Pewarnaan Gram dengan Safranin

Preparat diletakkan pada rak pewarnaan, kemudian Gram A yang mengandung gentian violet diteteskan secara merata pada preparat, didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air. Teteskan Gram B yang mengandung Lugol selama 2 menit, bilas dengan air. Selanjutnya, teteskan Gram C yang mengandung alkohol hingga sisa pewarna hilang dan kemudian bilas dengan air. Teteskan Gram D yang mengandung safranin selama 30 detik, bilas dengan air, keringkan selanjutnya amati preparat.

### Pewarnaan Gram dengan Perasan Buah Delima

Preparat diletakkan pada rak pewarnaan, kemudian diteteskan Gram A yang mengandung Gentian violet secara merata pada preparat, didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air. Diteteskan Gram B yang mengandung Lugol selama 2 menit, dibilas dengan air. Selanjutnya diteteskan Gram C yang mengandung alkohol hingga sisa zat warna hilang dan

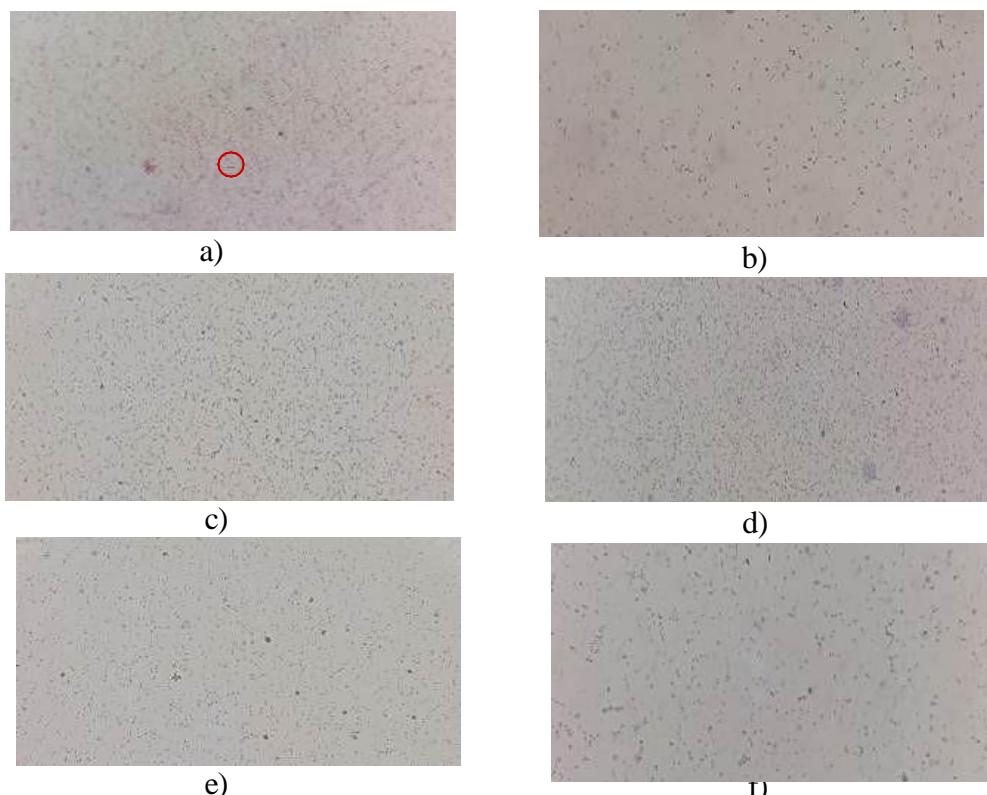
kemudian dibilas dengan air. Perasan buah delima dengan variasi yang berbeda (100%, 90%, 80%, 70% dan 60%) ditetesan pada setiap preparat selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air, dikeringkan dan preparat kemudian diamati.

### Pengamatan Preparat

Preparat yang sudah kering selanjutnya diamati dengan mikroskop pada perbesaran bertingkat yaitu 10x, 40x dan 100x dengan penambahan minyak imersi. Preparat kontrol yang menggunakan safranin digunakan untuk membandingkan hasil dengan preparat yang menggunakan perasan buah delima. Hasil pewarnaan yang baik adalah pewarnaan yang kontras atau dapat mewarnai preparat dengan jelas.

## HASIL

Pada penelitian ini dengan preparat sebanyak 24 sampel yang diwarnai menggunakan air perasan buah delima dengan beberapa variasi konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60% dan safranin sebagai kontrol. Sediaan preparat gram diamati dengan mikroskop perbesaran 100x. Berikut merupakan gambar hasil pengamatan mikroskopis pewarnaan gram menggunakan variasi konsentrasi perasan buah delima yang dibandingkan dengan safranin sebagai kontrol



Gambar 1. Hasil pewarnaan gram : a) Safranin sebagai kontrol, b) Perasan Buah Delima konsentrasi 100%, c) 90%, d) 80%, e) 70%, f) 60%

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas pewarna alami menggunakan perasan buah delima dengan variasi konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70% dan 60% serta membandingkannya dengan kontrol safranin. Penelitian ini diawali dengan pembuatan perasan buah delima merah untuk digunakan untuk pewarna alternatif safranin pada pewarnaan bakteri gram negatif yaitu *Salmonella* sp. Berdasarkan gambar 1 bagian a yaitu

pewarnaan Gram dengan pewarna safranin, hasil pewarnaan *Salmonella* sp. berwarna merah dan berbentuk basil. Pada pewarnaan Gram dengan perasan buah delima pada berbagai konsentrasi, bakteri *Salmonella* sp. berbentuk basil dan berwarna ungu yang berarti bakteri tersebut tidak menyerap zat warna dari sari buah delima.

Hasil pewarnaan dengan perasan buah delima dalam penelitian ini tidak sesuai dengan prinsip pengecatan Gram bakteri negatif. Bakteri Gram negatif dapat berwarna merah karena bakteri Gram negatif memiliki lapisan dinding yang tipis, sehingga zat warna gentian violet dan lapisan lipid pada dinding sel bakteri akan larut jika dilarutkan dengan alkohol (Lande dkk., 2018). Sehingga pada tahap akhir yaitu penambahan zat warna penutup yang mengandung safranin, bakteri Gram negatif akan menyerap warna safranin tersebut (Kurniawan dkk., 2018). Perbedaan hasil akhir dari bakteri gram positif dan bakteri gram negatif menunjukkan bahwa terdapat perbedaan dari struktur dinding sel dari kedua bakteri tersebut (Fitri & Yasmin 2011).

Hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh kestabilan antosianin. Kestabilan antosianin dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut Samber dkk. (2013) ada beberapa hal yang mempengaruhi kestabilan antosianin yaitu pH, suhu, cahaya dan oksigen. Menurut Permatasari dkk. (2023) pH mempengaruhi kestabilan antosianin dimana pada pH tinggi antosianin berwarna biru dan ungu sementara pada pH rendah, warnanya menjadi merah. Selain itu pelarut juga mempengaruhi hasil pewarnaan karena antosianin akan lebih stabil pada kondisi asam dibandingkan dalam suasana basa atau netral (Handito dkk., 2022).

Merujuk pada jurnal kurniawati & alauhdin (2020) dijelaskan bahwa pelarut terbaik untuk memperoleh ekstrak antosianin dari kulit manggis adalah pelarut etanol-HCl. HCl (asam klorida) dapat menstabilkan antosianin karena antosianin merupakan pigmen yang bergantung pada pH. Penambahan asam memiliki tujuan agar antosianin stabil, pemilihan larutan asam diusahakan yaitu asam lemah agar meminimalkan kerusakan antosianin karena degradasi gugus non-asil (Chayati dkk., 2020). Sementara pada penelitian ini hanya menggunakan pelarut etanol saja. Etanol dipilih sebagai pelarut karena sifatnya yang polar, universal, dan mudah diperoleh. Menurut Nuraini dkk. (2015), etanol dapat mengikat lebih banyak senyawa metabolit daripada air karena etanol memiliki polaritas yang sama dengan senyawa yang diperoleh. Antosianin yang merupakan flavonoid memiliki sifat polar, oleh karena itu antosianin dapat larut dalam pelarut polar etanol (Mulyani., 2014).

Faktor lain yang dapat mempengaruhi yaitu cahaya, cahaya dapat mempengaruhi antosianin karena warnanya akan memudar jika terpapar oleh cahaya. Cahaya akan membuat antosianin tereksifikasi melalui elektron sehingga pigmen dekomposisi fotokimia (Armanzah & Hendrawati. 2016). Pada penelitian ini pengambilan zat pewarna alternatif dilakukan dengan teknik perasan kemudian dilarutkan dengan menggunakan etanol sebagai pelarut. Menurut Sartono (2018) antosianin dapat larut dalam jumlah banyak apabila menggunakan teknik maserasi sehingga memerlukan waktu perendaman yang lama. Maserasi adalah proses ekstraksi dengan metode perendaman sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang cocok dan dapat melarutkan analit pada sampel (Saputri & Asngad 2018). Kestabilan antosianin juga dipengaruhi oleh suhu. Suhu maksimum agar antosianin stabil yaitu pada 30°. Proses pemanasan mengakibatkan antosianin mengalami 2 mekanisme degradasi yaitu hidrolisis ikatan 3-glikosida menjadi monomer aglikon dan cincin pyrilium akan terbuka untuk membentuk kalkon yang kemudian akan membentuk senyawa polifenol yang berwarna coklat (Kunaryo & Wikandari. 2021).

## KESIMPULAN

Setelah dilakukan penelitian, maka disimpulkan bahwa air perasan buah delima merah tidak dapat digunakan sebagai pengganti safranin pada pengecatan gram negatif *Salmonella* sp. Pada konsentrasi 100% air perasan buah delima tidak mampu mewarnai preparat gram negatif

*Salmonella* sp.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung dalam berlangsungnya penelitian ini. Ucapan terimakasih khusus disampaikan kepada dosen pembimbing dan dosen penguji yang bersedia meluangkan waktu, kesempatan, dan pemikirannya dalam memberikan masukan, dan saran, sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdulrahman, S., Shaleh, A., & Adriana, F. (2020). Pengaruh Variasi Konsentrasi Esktrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis L.*) Dan Daun Miana (*Coleus Atropurpureus Benth*) Sebagai Zat Pewarna Alternatif Pengganti Safranin Pada Pewarnaan Gram. *Jurnal Medilab Mandala Waluya*, 4(I), 1-7.
- Armanzah, R. S., & Hendrawati, T. Y. (2016). Pengaruh waktu maserasi zat antosianin sebagai pewarna alami dari ubi jalar ungu (*Ipomoea batatasl*). *Prosiding Semnastek*.
- Chayati, I., Sunarti, S., Marsono, Y., & Astuti, M. (2020). Pengaruh Varietas, Fraksi Pengayakan, dan Jenis Pelarut terhadap Kadar Antisionin, Fenolik Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jagung Ungu. *Indonesian Journal of Industrial Research*, 15(29), 13-26.
- Fitri, L., & Yasmin, Y. (2011). Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 3(2), 20-25.
- Handito, D., Basuki, E., Saloko, S., Dwikasari, L. G., & Triani, E. (2022). Analisis komposisi bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai antioksidan alami pada produk pangan. *Prosiding Saintek*, 4, 64-70
- Januarsih, J. (2019). Pengaruh Ekstrak Buah Delima Merah Terhadap Kadar Sod Pada Kultur Huvecs Yang Dipapar Plasma Preeklampsi. Embrio: *Jurnal Kebidanan*, 11(1), 1-7.
- Jiwintarum, Y., Rohmi, R., & Prayuda, I. D. P. M. (2018). *Dragon Fruit (Hylocereus polyrhizus) As Natural Dyes Staining For Bacteria*. *Jurnal Kesehatan Prima*, 10(2), 1726-1734.
- Karimela, E. J., Ijong, F. G., & Dien, H. A. (2017). Karakteristik *Staphylococcus aureus* yang di isolasi dari ikan asap pinekuhe hasil olahan tradisional Kabupaten Sangihe. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 188-198.
- Kunnaryo, H. J. B., & Wikandari, P. R. (2021). Antosianin dalam produksi fermentasi dan perannya sebagai antioksidan. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), 24-36.
- Kurniawan, A., Febrianti, D., Sari, S. P., Prihanto, A. A., Asriani, E., Kurniawan, A., & Sambah, A. B. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi selulosa asal ekosistem mangrove Tukak Sadai, Bangka Selatan. *Jurnal Perikanan Pantura (JPP)*, 1(2), 9-16.
- Kurniawati, A., & Alauhdin, M. (2020). Ekstraksi Dan Analisis Zat Warna Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garciana Mangostana L.*) Serta Aplikasinya Sebagai Indikator Asam-Basa. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 9(1), 56-62.
- Lande, F. R., Widayat, W., & Sastyarina, Y. (2019). Isolasi Bakteri Termofilik dari Tanah Hutan Mangrove. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 10, pp. 156-159).
- Marbun, R. W. S., Mardanif, F. N., & Aini, U. F. (2020). Pemanfaatan Sari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas poiret*) sebagai Zat Pewarna pada Pewarnaan Gram terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Klinikal Sains: *Jurnal Analis Kesehatan*,

- 8(2), 82-89.
- Mulyani, O. (2014). Sintesis Sel Surya Tersensitisasi Pewarna (Sstp) Ekstrak Antosianin Buah Delima (*Punica Granatum*) Dengan Metode Sol-gel-spin Coating. *Jurnal Fisika Unand*, 3(2), 84-89.
- NauE, D. A. B., Karneli, K., Syailendra, A., Syafitri, I., Wulandari, S., & Julianti, W. (2022). Buah Bit (*Beta vulgaris L.*) Sebagai Alternatif Safranin Pada Pewarnaan Gram. Husada Mahakam: *Jurnal Kesehatan*, 12(1), 19-24.
- Nuraini, N., Ilyas, A., & Novianty, I. (2015). Identifikasi dan karakterisasi senyawa bioaktif antikanker dari ekstrak etanol kulit batang kayu bitti (*Vitex cofassus*). *Al- Kimia*, 3(2), 15-27.
- Permatasari, R., Putra, F. V., & Maharani, S. (2023). Potensi Buah Delima Merah (*Punica Granatum L.*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin pada Pewarnaan Papanicolaou. *SEHATMAS: Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat*, 2(1), 288-295.
- Samber, L. N., Semangun, H., & Prasetyo, B. (2013). Karakteristik antosianin sebagai pewarna alami. In *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning* (Vol. 10, No. 3, pp. 68-71).
- Saputri, I. D., & Asngad, A. (2018). Pemanfaatan Ekstrak Kulit Ubi Jalar Ungu Sebagai Pewarna Alami Preparat Section Batang Tumbuhan Krokot (*Portulaca oleraceae*). *Tesis*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sartono, I. D., (2018) Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah sebagai Pewarna Alami Preparat Section Jaringan Tumbuhan Rumput Teki (*Cyperus rotundus*). *Skripsi*. Surakarta : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. pp.1-10.
- Simanjuntak, L., Sinaga, C., & Fatimah, F. (2014). Ekstraksi pigmen antosianin dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).
- Syarifah, U., Muthmainnah, M., & Mulyono, A. (2015). Analisis Fisis Membran Biofilter Rokok Dengan Variasi Daun, Biji Dan Kulit Delima. *Jurnal Neutrino: Jurnal Fisika dan Aplikasinya*, 112-118.
- Virgianti, D. P. (2017). Penggunaan ekstrak kombinasi angkak dan daun jati sebagai pewarna penutup pada pewarnaan gram. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 17(1), 66-72.
- Yanty, Y. N., Hepiyansori, H., & Niarisesa, L. (2018). Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum L*) Sebagai Formulasi Lipstik. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(1), 45-54.