

Potensi Ekstrak dan Rendaman Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) sebagai Pewarna Alami Alternatif pada Pewarnaan Bakteri Tahan Asam

Maryanah

Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Teknologi, Universitas Binawan.; Maryanahapriyanti251@gmail.com

Dian Rachma Wijayanti

Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Teknologi, Universitas Binawan.; dianrachma@binawan.ac.id (koresponden)

Sabarina Elfrida Br Manik

Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Teknologi, Universitas Binawan.; sabarinaelfrida@gmail.com

ABSTRACT

Acid-fast bacteria (AFB) staining commonly uses methylene blue as a counterstain; however, its use may pose potential risks to human health and the environment, highlighting the need for safer natural dye alternatives. This study aimed to evaluate the potential of Clitoria ternatea flower extract and infusion as natural alternatives to methylene blue in Ziehl–Neelsen staining. This experimental laboratory study used Clitoria ternatea flower extract obtained through maceration with 70% ethanol and 70% ethyl acetate, which was prepared at concentrations of 10%, 15%, and 25%, as well as flower infusions at concentrations of 30%, 40%, and 50%. All preparations were used as substitutes for methylene blue in Ziehl–Neelsen staining of sputum smears and were evaluated microscopically. The results showed that both the flower extract and infusion were able to stain non-acid-fast components, producing color variations ranging from purple to reddish-purple. However, neither preparation provided sufficient contrast for the clear identification of acid-fast bacilli, compared with methylene blue. These findings indicate that Clitoria ternatea flower extract and infusion cannot yet be used as substitutes for methylene blue in Ziehl–Neelsen staining. Further optimization of the extraction method and dye formulation is required to improve staining performance.

Keywords: acid-fast bacteria; *Clitoria ternatea*; methylene blue; natural dye; Ziehl–Neelsen staining.

ABSTRAK

Pewarnaan bakteri tahan asam (BTA) umumnya menggunakan methylene blue sebagai pewarna tandingan, namun penggunaannya berpotensi menimbulkan dampak terhadap kesehatan dan lingkungan sehingga diperlukan alternatif pewarna alami yang lebih aman. Penelitian ini bertujuan mengetahui pemanfaatan ekstrak dan rendaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai pewarna alami alternatif pengganti methylene blue pada pewarnaan Ziehl–Neelsen. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan ekstrak bunga telang hasil maserasi dengan pelarut etanol 70% dan etil asetat 70% yang dibuat dalam konsentrasi 10%, 15%, dan 25%, serta rendaman bunga telang dengan konsentrasi 30%, 40%, dan 50%. Seluruh sediaan digunakan sebagai pengganti methylene blue pada pewarnaan preparat sputum dan diamati secara mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak dan rendaman bunga telang mampu memberikan pewarnaan pada komponen non-BTA dengan variasi warna ungu hingga kemerahan, namun belum menghasilkan kontras yang memadai sehingga bakteri tahan asam tidak dapat diidentifikasi secara jelas sebagaimana pada penggunaan methylene blue. Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak dan rendaman bunga telang belum dapat digunakan sebagai pengganti methylene blue pada pewarnaan Ziehl–Neelsen dan masih memerlukan optimalisasi metode ekstraksi maupun formulasi pewarna.

Kata kunci: bakteri tahan asam; bunga telang; methylene blue; pewarna alami; Ziehl–Neelsen.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) masih menjadi salah satu penyakit infeksi yang menjadi masalah kesehatan masyarakat di dunia. Penyakit ini disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*, yaitu bakteri berbentuk batang dengan ukuran sekitar 1–4 µm × 0,3–0,6 µm yang memiliki dinding sel kaya akan lipid, terutama asam mikolat. Kandungan lipid tersebut menyebabkan bakteri mampu mempertahankan pewarna primer meskipun telah mengalami proses dekolorisasi menggunakan asam alkohol sehingga dikenal sebagai bakteri tahan asam (BTA). Penularan TB terjadi melalui droplet yang dihasilkan penderita TB aktif saat batuk, bersin, atau berbicara.¹ Menurut Global

Tuberculosis Report 2024, sebanyak 8,2 juta kasus TB baru dilaporkan secara global pada tahun 2023 sehingga TB masih menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas akibat penyakit infeksi di dunia.²

Diagnosis TB ditegakkan melalui kombinasi pemeriksaan klinis, radiologis, dan laboratorik. Salah satu metode laboratorium yang masih digunakan secara luas, khususnya di fasilitas pelayanan kesehatan primer, adalah pewarnaan Ziehl–Neelsen karena sederhana, cepat, ekonomis, dan mampu mendeteksi keberadaan BTA secara langsung pada spesimen klinis. Metode ini menggunakan *carbol fuchsin* sebagai pewarna primer, asam alkohol sebagai larutan dekolorisasi, dan *methylene blue* sebagai *counterstain*, sehingga bakteri tahan asam tampak berwarna merah sedangkan komponen non-BTA tampak berwarna biru dan mudah dibedakan secara mikroskopis.³

Methylene blue merupakan pewarna sintetik yang telah lama digunakan sebagai *counterstain* pada metode Ziehl–Neelsen. Meskipun efektif menghasilkan kontras yang baik, penggunaan pewarna sintetik secara terus-menerus berpotensi memberikan dampak terhadap kesehatan petugas laboratorium akibat paparan bahan kimia serta berpotensi mencemari lingkungan apabila limbahnya tidak dikelola dengan baik.⁴ Oleh karena itu, pengembangan pewarna alami yang lebih aman, ramah lingkungan, dan mudah diperoleh menjadi salah satu alternatif yang perlu dikembangkan.¹³ Salah satu tanaman yang berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber pewarna alami adalah bunga telang (*Clitoria ternatea*). Bunga telang mengandung pigmen antosianin, terutama kelompok ternatin, yang menghasilkan warna biru khas serta memiliki aktivitas antioksidan.^{5,6} Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang bersifat polar sehingga mudah diekstraksi menggunakan pelarut polar seperti etanol. Selain dimanfaatkan sebagai pewarna alami pada pangan, pigmen antosianin juga mulai banyak diteliti sebagai pewarna alami pada bidang farmasi, histologi, dan laboratorium kesehatan.^{6,7,13,14}

Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak bunga telang dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alternatif pada pewarnaan histologi maupun pewarnaan bakteri sederhana.^{7,10,11} Namun, penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak maupun rendaman bunga telang sebagai pengganti *methylene blue* pada pewarnaan Ziehl–Neelsen masih sangat terbatas. Selain itu, kemampuan pigmen antosianin menghasilkan kontras warna yang memadai untuk membedakan BTA dengan komponen non-BTA pada preparat sputum belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak dan rendaman bunga telang sebagai pewarna alami alternatif pada metode Ziehl–Neelsen.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pemanfaatan ekstrak dan rendaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai pewarna alami alternatif pengganti *methylene blue* pada pewarnaan Ziehl–Neelsen terhadap preparat sputum, serta membandingkan kemampuan pewarnaan berdasarkan jenis pelarut dan konsentrasi yang digunakan.

Hipotesis

Hipotesis Nol (H_0) :

Ekstrak dan rendaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) tidak mampu memberikan hasil pewarnaan yang setara dengan *methylene blue* sebagai *counterstain* pada pewarnaan Ziehl–Neelsen.

Hipotesis Alternatif (H_1) :

Ekstrak dan rendaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) mampu memberikan hasil pewarnaan yang setara dengan *methylene blue* sebagai *counterstain* pada pewarnaan Ziehl–Neelsen.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan deskriptif yang bertujuan mengevaluasi pemanfaatan ekstrak dan rendaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai pewarna alami alternatif pengganti *methylene blue* pada pewarnaan Ziehl–Neelsen. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli–Agustus 2025. Proses ekstraksi bunga telang dilakukan di Pusat Penelitian Kelapa Sawit Unit Bogor, sedangkan pembuatan preparat dan pengamatan mikroskopis dilakukan di Laboratorium Rumah Sakit Bhakti Kartini, Bekasi.

Sampel penelitian berupa bunga telang (*Clitoria ternatea*) kering yang digunakan sebagai bahan pembuatan ekstrak dan rendaman, serta preparat sputum yang terdiri atas kontrol positif, kontrol negatif, dan spesimen sputum pasien untuk evaluasi hasil pewarnaan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis pelarut (etanol 70% dan etil asetat 70%), metode preparasi (ekstrak dan rendaman), serta konsentrasi ekstrak dan rendaman bunga telang. Variabel terikat adalah kualitas hasil pewarnaan pada preparat sputum yang diamati secara mikroskopis berdasarkan kemampuan menghasilkan kontras warna antara bakteri tahan asam dan komponen non-BTA.

Ekstrak bunga telang dibuat menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dan etil asetat 70% selama 120 menit. Filtrat hasil maserasi kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak selanjutnya dibuat dalam konsentrasi 10%, 15%, dan 25%. Selain ekstrak, dibuat pula rendaman bunga telang menggunakan kedua jenis pelarut dengan konsentrasi 30%, 40%, dan 50%. Pewarnaan preparat sputum dilakukan menggunakan metode Ziehl–Neelsen dengan memodifikasi tahap pewarnaan tandingan (*counterstaining*), yaitu mengganti *methylene blue* menggunakan ekstrak maupun rendaman bunga telang sesuai variasi pelarut dan konsentrasi. Setiap preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000× untuk mengevaluasi kemampuan pewarna menghasilkan kontras antara bakteri tahan asam dan komponen non-BTA. Hasil pewarnaan dibandingkan dengan preparat kontrol yang diwarnai menggunakan metode Ziehl–Neelsen standar.

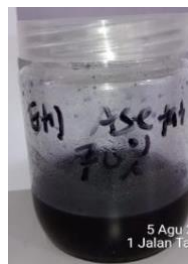
HASIL

Hasil Ekstraksi Bunga Telang

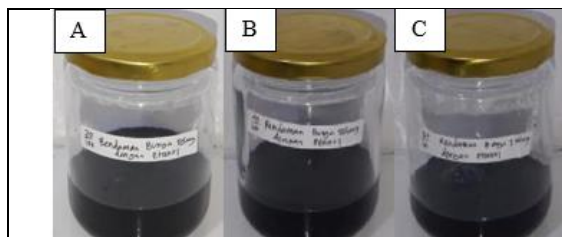
Ekstraksi bunga telang (*Clitoria ternatea*) menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat 70% melalui metode maserasi menghasilkan ekstrak berwarna biru pekat. Setelah proses pemekatan menggunakan *rotary evaporator*, ekstrak diformulasikan dalam tiga variasi konsentrasi, yaitu 10%, 15%, dan 25%. Secara visual, peningkatan konsentrasi menghasilkan intensitas warna yang semakin pekat. Selain itu, rendaman bunga telang juga menunjukkan perubahan intensitas warna seiring dengan meningkatnya konsentrasi rendaman (30%, 40%, dan 50%) sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1–4.



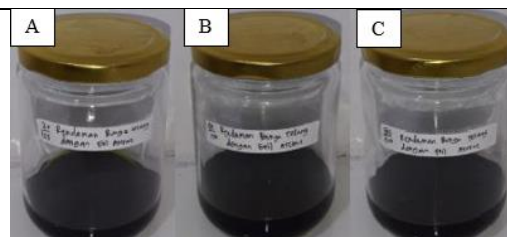
Gambar 1. Ekstrak bunga telang dengan pelarut etanol 70%



Gambar 2. Ekstrak bunga telang dengan pelarut etil asetat 70%



Gambar 3. Rendaman bunga telang dengan pelarut etanol 70% selama 120 menit (A) Konsentrasi 30%, (B) Konsentrasi 40%, (C) Konsentrasi 50%.



Gambar 4. Rendaman bunga telang dengan pelarut etil asetat 70% selama 120 menit (A) Konsentrasi 30%, (B) Konsentrasi 40%, (C) Konsentrasi 50%.

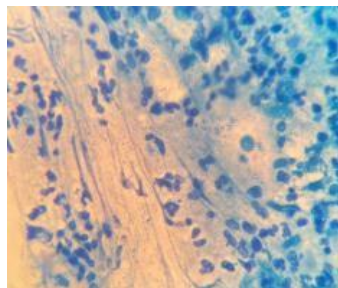
Hasil Pewarnaan Menggunakan Ekstrak Bunga Telang

Pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak bunga telang sebagai pengganti *methylene blue* menghasilkan variasi warna pada komponen non-BTA, mulai dari ungu hingga merah, bergantung pada jenis pelarut dan konsentrasi ekstrak yang digunakan. Namun demikian, seluruh variasi ekstrak belum mampu menghasilkan kontras warna yang setara dengan pewarnaan Ziehl–Neelsen standar sehingga identifikasi bakteri tahan asam masih belum optimal.

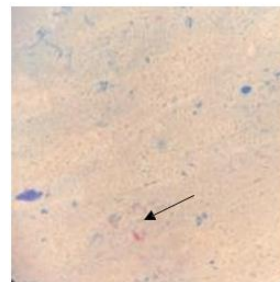
Tabel 1. Hasil Pewarnaan Ekstrak Bunga Telang

No	Sampel	10%	Etanol (70%)		Etil Asetat 70(%)			Ziehl Nelseen	Kualitas Sputum
			15%	25%	10%	15%	25%		
1	Control Negatif Sputum Negatif	-	-	-	-	-	-	Terwarnai	Sputum purulen
2	Control Positif Sputum (+3)	-	-	-	-	-	-	Terwarnai	Sputum purulen
3	Sputum 1 (+3)	Terwarnai merah	Terwarnai merah	Terwarnai merah	Terwarnai merah	Terwarnai merah	Terwarnai merah		Sputum purulen
4	Sputum 2 (Negatif)	Terwarnai ungu	Terwarnai ungu	Terwarnai ungu	Terwarnai ungu	Terwarnai ungu	Terwarnai ungu		Sputum mukoid
5	Sputum 3 (Negatif)	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Terwarnai ungu	Tidak Terwarnai	Tidak Terwarnai	Terwarnai ungu		Sputum mukoid

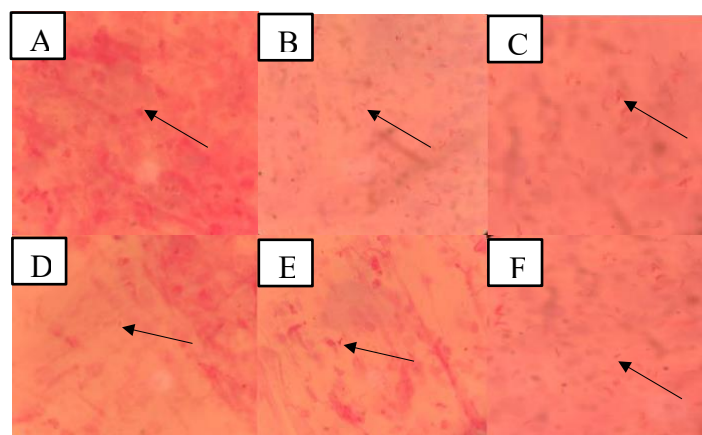
Pada preparat kontrol yang diwarnai menggunakan metode Ziehl–Neelsen standar, bakteri tahan asam tampak berwarna merah dengan latar belakang biru sehingga mudah dibedakan secara mikroskopis. Sebaliknya, pada preparat yang menggunakan ekstrak bunga telang, perubahan warna lebih banyak terjadi pada komponen non-BTA, sedangkan morfologi bakteri tahan asam tidak tampak secara jelas. Ringkasan hasil pewarnaan ekstrak bunga telang disajikan pada Tabel 1, sedangkan hasil pengamatan mikroskopis ditunjukkan pada Gambar 5–10.



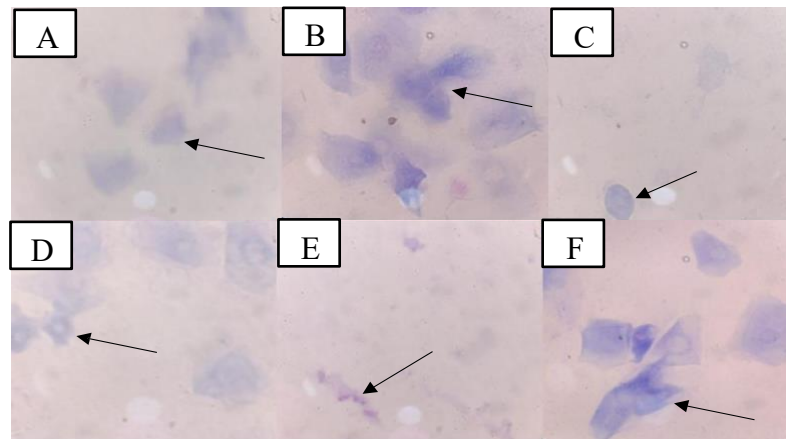
Gambar 5. Kontrol negatif pewarnaan Ziehl-Nelseen



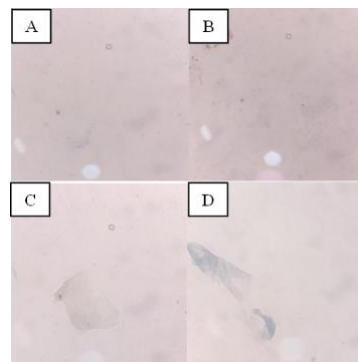
Gambar 6. Kontrol positif pewarnaan Ziehl-Nelseen



Gambar 7. Sputum 1 pewarnaan ekstrak bunga telang dengan pelarut etanol terwarnai merah (A) konsentrasi 10%, (B) konsentrasi 15%, (C) konsentrasi 25% dan pelarut etil asetat (D) konsentrasi 10%, (E) konsentrasi 15%, (F) konsentrasi 25%.



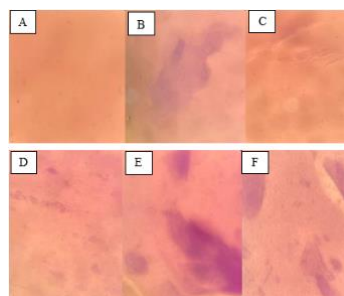
Gambar 8. Sputum 2 pewarnaan ekstrak bunga telang dengan pelarut etanol terwarnai ungu (A) konsentrasi 10%, (B) konsentrasi 15%, (C) konsentrasi 25% dan pelarut etil asetat (D) konsentrasi 10%, (E) konsentrasi 15%, (F) konsentrasi 25%.



Gambar 9. Sputum 3 pewarnaan ekstrak bunga telang dengan pelarut Etanol tidak terwarnai (A) konsentrasi 10%, (B) konsentrasi 15% dan pewarnaan ekstrak bunga telang dengan pelarut etil asetat tidak terwarnai (C) konsentrasi 10%, (D) konsentrasi 15%)

Hasil Pewarnaan Menggunakan Rendaman Bunga Telang

Penggunaan rendaman bunga telang menunjukkan pola yang serupa dengan ekstrak bunga telang. Variasi konsentrasi rendaman mampu menghasilkan pewarnaan pada komponen non-BTA dengan warna dominan ungu, namun belum mampu menghasilkan kontras yang memadai untuk membedakan bakteri tahan asam dari latar belakang preparat. Dibandingkan dengan kontrol Ziehl–Neelsen, intensitas pewarnaan yang dihasilkan rendaman bunga telang masih lebih rendah sehingga identifikasi bakteri tahan asam menjadi kurang jelas. Ringkasan hasil pewarnaan rendaman bunga telang disajikan pada Tabel 2, sedangkan dokumentasi hasil pengamatan mikroskopis ditunjukkan pada Gambar 11.



Gambar 10. Pewarnaan rendaman bunga telang dengan pelarut Etanol 70% (A) konsentrasi 30%, (B) konsentrasi 40%, (C) konsentrasi 50%, dan dengan pelarut etil asetat 70% (D) konsentrasi 30%, (E) konsentrasi 40%, (F) konsentrasi 50%.

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Rendaman Bunga Telang

No	Sampel	Etanol (%)			Etil Asetat (%)			Ziehl Nelsen	Kualitas sputum
		30%	40%	50%	30%	40%	50%		
1	Control Negatif sputum	-	-	-	-	-	-	Terwarnai	Sputum Purulen
2	Control Positif sputum (+3)	-	-	-	-	-	-	Terwarnai	Sputum Purulen
3	Sputum (Negatif)	Tidak terwarnai	Terwarnai ungu	Terwarnai ungu	Terwarnai ungu	Terwarnai ungu	Terwarnai ungu	Terwarnai	Sputum Mukoid

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pemanfaatan ekstrak dan rendaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebagai pewarna alami alternatif pengganti *methylene blue* pada pewarnaan Ziehl–Neelsen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak maupun rendaman bunga telang mampu memberikan pewarnaan pada komponen non-BTA dengan variasi warna ungu hingga kemerahan. Namun, pewarnaan yang dihasilkan belum mampu memberikan kontras yang memadai sehingga bakteri tahan asam tidak dapat diidentifikasi secara jelas sebagaimana pada penggunaan *methylene blue*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak dan rendaman bunga telang belum dapat menggantikan fungsi *methylene blue* sebagai *counterstain* pada pewarnaan Ziehl–Neelsen.

Kemampuan pewarnaan bunga telang dipengaruhi oleh kandungan antosianin, terutama kelompok ternatin, yang merupakan pigmen flavonoid penyusun warna biru pada kelopak bunga.^{5,6,7,17} Antosianin merupakan senyawa yang bersifat larut dalam pelarut polar, seperti etanol, sehingga proses maserasi menggunakan etanol 70% maupun etil asetat 70% mampu menghasilkan ekstrak berwarna biru pekat.^{7,15} Selain dipengaruhi oleh jenis pelarut, warna antosianin juga sangat dipengaruhi oleh kondisi pH.^{8,18,19} Pada suasana asam pigmen antosianin cenderung berwarna merah, sedangkan pada pH netral hingga basa warnanya berubah menjadi ungu hingga biru. Karakteristik tersebut diduga menyebabkan variasi warna yang diamati pada preparat selama proses pewarnaan Ziehl–Neelsen yang melibatkan tahap dekolorisasi menggunakan asam alkohol.⁵

Meskipun mampu memberikan pewarnaan pada komponen non-BTA, antosianin tidak menghasilkan kontras warna yang setara dengan *methylene blue*. Hal ini diduga disebabkan oleh perbedaan sifat kimia antara antosianin dan *methylene blue*. Sebagai *counterstain*, *methylene blue* memiliki afinitas yang baik terhadap komponen sel yang telah kehilangan pewarna primer setelah proses dekolorisasi sehingga menghasilkan latar belakang berwarna biru yang kontras dengan BTA yang tetap berwarna merah. Sebaliknya, pigmen antosianin memiliki stabilitas yang dipengaruhi oleh pH dan kurang stabil terhadap kondisi asam selama proses pewarnaan Ziehl–Neelsen, sehingga warna yang dihasilkan menjadi kurang konsisten dan kontras preparat tidak terbentuk secara optimal.^{7,18} Kondisi tersebut menyebabkan identifikasi bakteri tahan asam menjadi lebih sulit dibandingkan pewarnaan standar.

Perbedaan jenis pelarut dan konsentrasi ekstrak menghasilkan intensitas warna yang berbeda pada preparat. Ekstrak dengan pelarut etanol 70% menghasilkan warna yang relatif lebih pekat dibandingkan etil asetat 70%, sedangkan peningkatan konsentrasi ekstrak maupun rendaman cenderung meningkatkan intensitas warna.¹⁶ Meskipun demikian, peningkatan intensitas warna tersebut belum diikuti dengan peningkatan kualitas kontras yang memadai untuk membedakan bakteri tahan asam dengan komponen non-BTA. Hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi pigmen saja belum cukup untuk menggantikan fungsi *methylene blue* sebagai *counterstain*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Azka dkk.¹⁰ yang melaporkan bahwa ekstrak bunga telang menghasilkan kualitas pewarnaan yang masih lebih rendah dibandingkan *methylene blue* pada pengecatan Diff-Quik.⁽¹¹⁾ Penelitian Kurniawati dkk.¹¹ juga menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang mampu mewarnai bakteri pada pewarnaan sederhana, tetapi kualitas preparat yang dihasilkan masih lebih rendah dibandingkan pewarna sintetis seperti kristal violet dan safranin.⁽¹²⁾ Temuan tersebut menunjukkan bahwa meskipun bunga telang memiliki potensi sebagai sumber pewarna alami, efektivitasnya masih bergantung pada jenis metode pewarnaan dan karakteristik pigmen yang digunakan.

Di sisi lain, hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Marbun dkk. yang melaporkan bahwa sari ubi jalar ungu dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alternatif pada pewarnaan Gram.⁸ Perbedaan tersebut

kemungkinan disebabkan oleh mekanisme pewarnaan yang berbeda antara metode Gram dan Ziehl–Neelsen. Pewarnaan Ziehl–Neelsen melibatkan proses pemanasan dan dekolorisasi menggunakan asam alkohol yang memerlukan pewarna dengan stabilitas kimia tinggi, sedangkan pewarnaan Gram tidak mengalami kondisi dekolorisasi sekuat metode Ziehl–Neelsen. Oleh karena itu, pigmen antosianin pada bunga telang lebih mudah mengalami perubahan struktur sehingga kemampuan menghasilkan kontras warna menjadi berkurang.

Penelitian ini memberikan informasi awal mengenai potensi bunga telang sebagai sumber pewarna alami pada pemeriksaan mikrobiologi.^{6,7,13,20} Meskipun belum dapat digunakan sebagai pengganti *methylene blue* pada pewarnaan Ziehl–Neelsen, kemampuan ekstrak dan rendaman bunga telang dalam mewarnai komponen non-BTA menunjukkan bahwa pigmen antosianin masih memiliki peluang untuk dikembangkan melalui optimasi metode ekstraksi, pengaturan pH, penambahan mordant, maupun modifikasi formulasi pewarna agar diperoleh stabilitas dan kualitas pewarnaan yang lebih baik.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Penilaian kualitas pewarnaan masih dilakukan secara deskriptif berdasarkan pengamatan mikroskopis, jumlah preparat yang digunakan relatif terbatas, serta belum dilakukan karakterisasi kandungan antosianin maupun pengujian stabilitas pigmen setelah proses pewarnaan. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya perlu melakukan optimasi formulasi pewarna, pengukuran stabilitas pigmen, serta evaluasi kualitas pewarnaan menggunakan jumlah sampel yang lebih besar sehingga potensi bunga telang sebagai pewarna alami dapat dievaluasi secara lebih komprehensif.

KESIMPULAN

Ekstrak dan rendaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) mampu memberikan pewarnaan pada komponen non-bakteri tahan asam (non-BTA) dengan variasi warna ungu hingga kemerahan. Namun, kedua preparasi tersebut belum mampu menghasilkan kontras warna yang setara dengan *methylene blue* sebagai *counterstain* pada metode Ziehl–Neelsen sehingga bakteri tahan asam belum dapat diidentifikasi secara jelas. Dengan demikian, ekstrak dan rendaman bunga telang belum dapat digunakan sebagai pengganti *methylene blue* pada pewarnaan Ziehl–Neelsen. Optimalisasi metode ekstraksi, formulasi pewarna, serta stabilitas pigmen antosianin masih diperlukan untuk meningkatkan kualitas pewarnaan dan mendukung pengembangan bunga telang sebagai pewarna alami alternatif pada pemeriksaan mikrobiologi.

Penelitian selanjutnya disarankan melakukan optimasi kondisi ekstraksi, pengaturan pH, penambahan *mordant* atau bahan penstabil pigmen, serta mengevaluasi variasi konsentrasi dan jumlah sampel yang lebih besar agar efektivitas bunga telang sebagai pewarna alami pada metode Ziehl–Neelsen dapat dinilai secara lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dwipayana IMG. Mengenali gambaran penyakit tuberkulosis paru dan cara penanganannya. *Widya Kesehatan*. 2022;4(1):1–14.
2. World Health Organization. *Global tuberculosis report 2024* [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2024 [cited 2026 Jul 7].
3. Burhan E, Soeroto AY, Isbaniah F, et al. *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Tuberkulosis*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2020.
4. Sarkar PAK, Jonson I, Tortora G. Photodegradation. In: *The Fairchild Books Dictionary of Textiles*. New York: Fairchild Books; 2021.
5. Suryana MR. Ekstraksi antosianin pada bunga telang (*Clitoria ternatea* L.): Sebuah ulasan. *Pasundan Food Technology Journal*. 2021;8(2):45–50.
6. Oguis GK, Gilding EK, Jackson MA, Craik DJ. Butterfly pea (*Clitoria ternatea*), a cyclotide-bearing plant with applications in agriculture and medicine. *Front Plant Sci*. 2019;10:645. doi:10.3389/fpls.2019.00645.
7. Vidana Gamage GC, Lim YY, Choo WS. Anthocyanins from *Clitoria ternatea* flower: Biosynthesis, extraction, stability, antioxidant activity, and applications. *Front Plant Sci*. 2021;12:792303. doi:10.3389/fpls.2021.792303.
8. Marbun RWS, Mardani FN, Aini UF. Pemanfaatan sari ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* Poiret) sebagai zat pewarna pada pewarnaan Gram terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Klinikal Sains: Jurnal Analisis Kesehatan*. 2020;8(2).
9. Damayanti S, Novalina D, Hadi WS. Pengaruh pH terhadap stabilitas daun pacar kuku sebagai *counterstain* alternatif pada pewarnaan Gram. *Jurnal Analisis Kesehatan*. 2024;13.

10. Azka EN, Mandasari AA, Santoso SD. Comparison of natural dyes from *Clitoria ternatea* extract as a substitute for methylene blue in Diff-Quik staining. *Procedia Eng Life Sci.* 2021;1(2).
11. Kurniawati A, Hariyanto T, Hupitoyo. Potensi bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai pewarna bakteri sederhana berbasis bahan alam ramah lingkungan. *Indones J Lab.* 2023;6(Special Issue):153–160.
12. Krisdiano V, Khairiyah A. Efektivitas penggunaan sari daun miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) sebagai alternatif pewarna safranin dalam pewarnaan Gram bakteri *Escherichia coli*. *Medistra Medical Journal.* 2024.
13. Hartika G, Zulharmita, Asra R. Utilization of natural dye substances for histological staining: A review. *Asian J Pharm Res Dev.* 2021;9(1). doi:10.22270/ajprd.v9i1.925.
14. Kairanna NV, et al. Anthocyanins: A hue for histology – systematic review. *Malays J Sci.* 2023;42(1).
15. Sigurdson GT, Tang P, Giusti MM. Natural colorants: Food colorants from natural sources. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2017;8:261–280.
16. Rosli NN, Raslan R, Pradnya N, et al. Effects of different solvents on natural dye extraction from *Clitoria ternatea*. *ASEAN J Chem Eng.* 2025.
17. Terahara N, Saito N, Honda T, Toki K, Osajima Y. Acylated anthocyanins of *Clitoria ternatea* flowers. *Phytochemistry.* 1990.
18. Escher GB, Wen M, Zhang L, et al. Stability of anthocyanins and the influence of pH on color expression. *Food Chem.* 2020.
19. Buchweitz M, Speth M, Kammerer DR, Carle R. Stability and color properties of acylated anthocyanins. *J Agric Food Chem.* 2012.
20. Leong CR, et al. Anthocyanin-rich butterfly pea flower (*Clitoria ternatea*): Chemistry and applications. *J Funct Foods.* 2017.