

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Mikroskop

a. Pengertian dan Klasifikasi Mikroskop

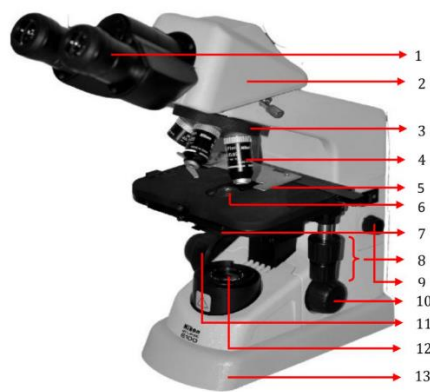
Mikroskop adalah alat optik yang dirancang untuk memperbesar citra objek kecil sehingga dapat diamati dengan lebih jelas dan detail. Prinsip kerja mikroskop melibatkan penggunaan lensa tunggal atau kombinasi beberapa lensa untuk menghasilkan bayangan yang diperbesar dari objek yang diobservasi. Lensa-lensa ini bekerja dengan membelokkan cahaya atau elektron yang melewati atau memantul dari objek, sehingga memungkinkan pengamatan yang lebih rinci (Sutarno, 2011).

Mikroskop dikategorikan menjadi dua jenis utama berdasarkan sumber cahaya, yaitu: mikroskop cahaya dan mikroskop elektron. Mikroskop cahaya menggunakan cahaya tampak sebagai sumber pencahayaan dan memanfaatkan lensa optik untuk memperbesar gambar objek. Sedangkan, mikroskop elektron menggunakan berkas elektron yang dipercepat sebagai pengganti cahaya tampak, yang memungkinkan resolusi jauh lebih tinggi (Sutarno, 2011).

Mikroskop cahaya memiliki dua jenis tipe lensa, yaitu mikroskop monokuler dan binokuler. Pada dasarnya, kedua jenis mikroskop ini memiliki prinsip yang sama, perbedaannya terletak pada

jumlah lensa. Mikroskop monokuler dilengkapi dengan satu lensa okuler dan digunakan dengan satu mata. Sedangkan, mikroskop binokuler memiliki dua lensa okuler sehingga dapat dilihat menggunakan kedua mata.

b. Bagian-Bagian Mikroskop



Gambar 1. Bagian-Bagian Mikroskop

Sumber: Harijati dkk., 2017

- 1) Lensa okuler
- 2) Tubus mikroskop
- 3) Revolver
- 4) Lensa objektif
- 5) Meja preparat dengan penjepit
- 6) Kondensor
- 7) Diafragma kondensor
- 8) Pengatur letak preparat
- 9) Pengatur intensitas cahaya
- 10) Pengatur halus (mikrometer)

11) Pangatur kasar (makrometer)

12) Sumber cahaya

13) Kaki atau dasar mikroskop

c. Sistem Lensa dan Perbesaran Mikroskop

Mikroskop cahaya memiliki 2 sistem lensa, yaitu: lensa objektif dan lensa okuler. Lensa objektif adalah lensa yang berada dekat dengan objek berfungsi dalam pembentukan bayangan pertama. Lensa objektif mengatur fokus sinar lampu pada objek yang ditempatkan di belakang titik fokal F_1 dan pembesaran objek, sehingga menghasilkan bayangan nyata yang diproyeksikan pada bidang fokal dari lensa okuler (Hanum dan Yurliasni, 2022). Mikroskop cahaya binokuler umumnya memiliki 4 macam lensa objektif, meliputi: perbesaran 4x (*scanning objective*) ditandai dengan cincin merah, perbesaran 10x (*low power objective*) ditandai dengan cincin kuning, perbesaran 40x (*high power objective*) ditandai dengan cincin biru dan perbesaran 100x (*immersion oil objective*) ditandai dengan cincin putih (Harijati dkk., 2017).

Lensa okuler adalah lensa yang terletak pada bagian ujung atas tabung yang berdekatan dengan mata. Lensa ini berfungsi untuk memperbesar bayangan nyata yang dihasilkan oleh lensa objektif sehingga membentuk bayangan maya (bayangan semu). Perbesaran bayangan yang terbentuk tetap pada 10x. Dengan demikian, total perbesaran yang terbentuk pada mikroskop merupakan hasil dari

perbesaran lensa objektif dan lensa okuler (Sumber: Giancoli, 2001, Cit: Krisnanto dan Liliana, 2020).

Numerical Aperture (NA) lensa objektif adalah ukuran kemampuan lensa objektif untuk mengumpulkan cahaya dan memisahkan detail spesimen secara efektif pada jarak tetap. Besarnya nilai NA ditentukan oleh jumlah cahaya yang masuk ke dalam lensa objektif dan media imersi antara kaca objek dengan permukaan lensa objektif. Menurut Rottenfusser (2017), semakin besar NA, maka hasil pengamatan semakin baik. Media udara memiliki indeks refraksi sebesar 1 ($n=1$), sedangkan untuk media berupa minyak nilai indeks refraksi sebesar 1,5 ($n=1,5$) (Harijati dkk., 2017).

2. Minyak Imersi

a. Pengertian dan Kegunaan Minyak Imersi

Minyak imersi adalah jenis minyak khusus yang digunakan sebagai medium optik mikroskopis untuk meningkatkan kualitas citra mikroskop saat mengamati spesimen. Minyak ini diaplikasikan diantara lensa objektif mikroskop dan kaca objek untuk mengurangi pembiasan cahaya yang terjadi di permukaan kaca. Minyak imersi digunakan karena memiliki nilai indeks bias yang hampir sama dengan kaca. Selain itu, minyak imersi memiliki sifat fisik dan kimia lain yang mempengaruhi citra optik mikroskop yaitu warna, viskositas, densitas dan bilangan asam.

Udara memiliki indeks refraksi $n = 1$, nilai tersebut lebih rendah dibandingkan dengan indeks refraksi kaca. Oleh karena itu, cahaya dari lampu yang melewati kaca objek ke udara akan dibelokkan. Pembelokan cahaya ini mengurangi NA dan resolusi lensa objektif. Jika antara kaca objek dan lensa objektif diberi minyak imersi dengan indeks refraksi $n = 1,5$, yang sama dengan kaca *crown* (bahan untuk lensa), maka kehilangan cahaya dapat dicegah. Akibatnya, resolusi akan lebih tinggi dan gambar akan lebih jelas. Penggunaan minyak imersi juga menyebabkan panjang fokus menjadi lebih pendek sehingga sudut *aperture* lebih besar. Oleh karena itu, jarak antara lensa objektif dan objek harus diperpendek (Hanum dan Yurliasni, 2022).

b. Parameter Penentuan Kualitas Minyak Imersi

1) Indeks Bias

Indeks bias adalah perbandingan kecepatan cahaya di udara dengan kecepatan cahaya di suatu benda. Pembiasan ini disebabkan oleh interaksi antara gaya elektrostatik dan elektromagnetik atom-atom di dalam molekul. Pengujian indeks bias dapat digunakan untuk mengetahui kemurnian minyak dan mendeteksi dengan cepat terjadinya hidrogenasi katalitik (Ketaren, 1986).

Indeks bias berbanding terbalik dengan suhu, apabila suhu dinaikkan maka indeks bias akan menurun. Nilai indeks bias selalu lebih besar dari satu karena cahaya bergerak paling cepat pada ruang hampa. Indeks bias dapat diperiksa dengan refraktometer

Abbe. Minyak imersi berkerja optimal pada suhu 23 °C dan mengalami perubahan indeks bias 0,0004 dengan adanya perubahan suhu 1 °C (Cargille, 2008). Menurut standar, nilai indeks bias minyak imersi diharapkan sama atau mendekati indeks bias kaca (Ketaren, 1986). Umumnya minyak imersi memiliki indeks bias sebesar 1,51 (Wilson, 2017).

2) Viskositas

Viskositas merupakan penilaian terhadap kentalnya suatu cairan yang menggambarkan seberapa besar gesekan yang terjadi dalam cairan itu. Semakin tinggi kekentalan suatu cairan, maka semakin sulit cairan itu mengalir dan semakin sulit pula objek untuk bergerak melalui cairan tersebut. (Sumber: Palupi, dkk., 2015, Cit: Harti, 2023). Viskositas berbanding terbalik dengan suhu. apabila suhu menurun, nilai viskositas akan semakin naik (Mathur, 2017). Minyak imersi memiliki beberapa tipe dengan ukuran viskositas yang berbeda bergantung kebutuhan untuk pengamatan yang dilakukan.

3) Densitas

Densitas atau juga disebut sebagai massa jenis adalah ukuran massa per satuan volume. Nilai densitas dipengaruhi oleh temperatur dan tekanan. *Liquid* bersifat *Volumic Thermal Expansion* (VTE) yang berarti mengalami kenaikan volume jika temperatur naik. Minyak imersi yang memiliki densitas dekat

dengan densitas kaca memungkinkan cahaya melewati medium dengan minimal distorsi sehingga cahaya yang ditransmisikan lebih banyak (Romdani, 2024).

4) Penentuan Warna

Penentuan warna pada minyak imersi adalah proses yang dilakukan untuk memastikan kejernihan dan kualitas minyak imersi. Warna minyak imersi yang netral memungkinkan cahaya melewati minyak tanpa mengubah warna atau karakteristik spektral cahaya yang digunakan untuk melihat sampel sehingga menghasilkan gambar mikroskopis yang jernih dan tajam. Penentuan dapat dilakukan dengan pengamatan visual pada minyak yang ditempatkan dalam wadah transparan dan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang tertentu (Mautuka, 2016).

3. Minyak kedelai

a. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman kedelai (*Glycine max*) menurut Kusmardi (2019) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheophyta
Devisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae

Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae/Leguminosae
Genus : *Glycine* Willd.
Spesies : *Glycine max* (L.) Merr.

b. Minyak Kedelai sebagai Alternatif Imersi

Minyak kedelai merupakan salah satu produk olahan dari biji kedelai. Minyak kedelai mengandung 85% asam lemak tidak jenuh dan 15% asam lemak jenuh (Ketaren, 1986). Minyak kedelai dapat dijadikan sebagai bahan pangan dalam bentuk terhidrogenasi dan bahan non pangan sebagai obat-obatan, kosmetik maupun industri lain (Syahril dkk., 2022). Minyak kedelai memiliki nilai indeks bias sebesar 1,471 – 1,475 (Allen dan Hamilton, 1983), dimana besar nilai tersebut mendekati indeks bias kaca berkisar antara 1,4 – 1,7 dengan varian berbeda yang dipengaruhi oleh jenis kaca dan suhu (Houck dan Siegel, 2015). Selain indeks bias, beberapa parameter lain seperti viskositas dan densitas menjadi pertimbangan untuk menentukan kelayakan minyak kedelai sebagai alternatif substitusi minyak imersi. Minyak kedelai dan minyak imersi ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. a. Minyak Kedelai dan b. Minyak Imersi

Tabel 1 menunjukkan perbandingan sifat fisika minyak kedelai dan minyak imersi:

Tabel 1. Sifat Fisika Minyak Kedelai dan Minyak Imersi

Parameter Sifat	Minyak Kedelai	Minyak Imersi
Indeks bias (25°C)	1,471 – 1,475	1,515
Viskositas (25°C)	620	566
Densitas (25°C)	0,916 – 0,922	1,019

Sumber: Cargille, 1985 dan Ketaren, 1986

Minyak imersi dibuat secara sintesis dengan biaya yang mahal karena belum banyak penelitian yang mengkaji dan memberi informasi mengenai proses pembuatan minyak tersebut. Sedangkan, Minyak kedelai memiliki harga yang jauh lebih murah dibandingkan minyak imersi. Selain itu, minyak kedelai bersifat biodegradable yang dapat terurai menjadi senyawa organik sehingga ramah lingkungan. Kandungan senyawa minyak imersi terdapat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Senyawa Minyak Imersi

	Minyak Imersi
Parafin halogenasi	polipolythylene, polypropylene, polibutena, poliisobutilena
Polimer monoilefin	polipolythylene, polypropylene, polibutena, poliisobutilena
Senyawa ester	asam ester karboksilat atau ester gliserin, cairan jenuh hidrokarbon
Senyawa hidrokarbon jenuh	pentana, heksana, teptane, oktane, nonane atau parafin cair
Alkohol alfatik jenuh	metil, propil, butil, pentil, heksil atau oktil alkohol
Alkohol alisiklik	cyclobutanol, siklopentanol, sikloheksanol, cycloheptanol, nyclooctanol, cyclobutenol, cyclopentenol, cyclohexenol

Sumber: Toshiaki, 1987

Tabel 2 menunjukkan hasil minyak imersi memiliki kandungan senyawa toksik seperti parafin halogenasi (*Chlorinated paraffins*) yang bersifat bioakumulatif dan berdampak pada kesehatan manusia serta mencemari lingkungan (Dubey dkk., 2024). Beberapa senyawa lain juga berpotensi menyebabkan keracunan saat terurai menjadi gas, iritasi pada kulit dan mata seperti ester dan polimer monoilefin. Oleh karena itu, minyak kedelai dapat dipakai sebagai alternatif pengganti minyak imersi yang lebih aman. Kandungan minyak kedelai ditunjukkan dalam Tabel 3 sebagai berikut.

Tabel 3. Kandungan Minyak Kedelai

Minyak Kedelai	
Myristic acid	0,1 %
Palmitic acid	10,5 %
Oleic acid	3,2 %
Linoleic acid	22,3 %
Linolenic acid	54,5 %
Arachnidic acid	8,3 %
Eicosenoic acid	0,2 %
Iodine value	0,9 %

Sumber: Ketaren, 1986

Tabel 3 menunjukkan kandungan minyak kedelai yang terdiri dari berbagai jenis asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Minyak kedelai memiliki nilai *Iodine Value* (IV) yang tinggi berada di kisaran 120–140. Iodine value adalah ukuran kemampuan asam lemak dalam minyak untuk mengikat iodium, yang menunjukkan tingkat ketidakjenuhan yang tinggi. Minyak dengan tingkat IV yang tinggi cenderung memiliki viskositas yang rendah dalam suhu ruang dan bertekstur cair. Hal tersebut berfungsi sebagai pelumas yang memudahkan pergerakan lensa objektif di atas preparat (O'Brien, 2009). Namun demikian, kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi membuat minyak kedelai tidak tahan lama dan mudah teroksidasi, sehingga dapat ditambahkan hidrogenasi parsial untuk mengurangi IV dan senyawa antioksidan untuk meningkatkan daya tahan oksidasi.

4. Sediaan Mikroskopis Bakteri

a. Pengertian dan Klasifikasi Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme yang memiliki tipe sel prokariotik (bersel tunggal) dengan ukuran diameter rata-rata 1 – 5 μm

dan panjang 1 – 10 μm (Wardani, 2021). Terdapat tiga bentuk dari bakteri, yaitu: basil (batang), kokus (bulat) dan spirila (spiral). Struktur dasar bakteri terdiri dari dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, DNA dan granula penyimpanan. Sedangkan struktur tambahan berupa kapsul, flagellum, fimbria, klorosom, vakuola gas dan endospora (Ramadhan, 2022). Berdasarkan struktur dinding selnya, bakteri diklasifikasikan sebagai Gram Positif dan Gram Negatif (Wardani, 2021).

b. Bakteri Gram Positif

Bakteri Gram Positif adalah kelompok bakteri yang memiliki karakteristik berwarna ungu apabila diidentifikasi melalui pewarnaan Gram. Jenis bakteri ini memiliki peptidoglikan dengan ketebalan 20-80 nm sebanyak 40 lapisan pada dinding selnya, yang membentuk 50% dari keseluruhan komponen penyusun dinding sel tersebut. Lapisan ini memiliki komposisi terbesar yang tersusun atas *teichoic acid* (asam teichoat), *teichuronic acid* (asam teikuroni) dan berbagai polisakarida (Wardani, 2021).

Bakteri Gram Positif yang digunakan pada penelitian ini adalah spesies *Staphylococcus aureus*. Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Garrity (2001) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Procaryotae

Phylum : Firmicutes

Class : Bacili

Ordo : Bacillales
 Famili : Staphylococcaceae
 Genus : *Staphylococcus*
 Species : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus termasuk ke dalam golongan bakteri Gram Positif. *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, menggerombol seperti anggur, bersifat non motil, tidak membentuk spora dan flagel serta mampu membentuk kapsul. Bakteri ini memiliki ukuran dengan diameter 0,5 – 1,0 mm. *Staphylococcus aureus* memiliki asam teikoat pada bagian dinding selnya, yaitu sekitar 40 % dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan nasetilglukosamin. (Hasyim, 2021).

Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki ciri koloni berwarna kuning-putih dan bersifat hemolisa pada media agar darah. Meragikan glukosa dan manitol serta positif uji koagulase. *Staphylococcus aureus* memiliki kapsul yang dapat menghambat fagositosis leukosit polimornuklear dan memiliki toksin yang dapat menghancurkan leukosit pada hewan. Bakteri ini termasuk flora normal yang biasanya hidup sebagai saprofit pada kulit dan mukosa manusia serta dapat menyebabkan penanahan atau abses (Wardani, 2021).

c. Bakteri Gram Negatif

Bakteri Gram Negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis (5-10 nm) dengan komponen utama berupa lipoprotein, membran luar

dan lipopolisakarida (Wardani, 2021). Bakteri ini bersifat hidrofilik pada membran luar, tetapi komponen lipid pada dinding sel memberikan sifat hidrofobik. Lipoprotein merupakan komponen dominan pada dinding sel bakteri Gram Negatif, berfungsi untuk menjaga stabilitas membran luar dan sebagai titik perlekatan pada lapisan peptidoglikan. Lipoprotein terdiri dari 57 asam amino dengan urutan 15 asam amino yang berulang. Membran luar bakteri ini memiliki struktur bilayer, di mana komposisi lembar dalamnya serupa dengan membran sitoplasma, namun fosfolipid pada lapisan luarnya digantikan oleh molekul lipopolisakarida (LPS). Selain itu, terdapat ruang di antara membran dalam dan membran luar yang disebut ruang periplasma (Wardani, 2021).

Bakteri Gram Negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah spesies *Escherichia coli*. Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* menurut Murwani, dkk. (2017), sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Class : Gammaproteobacteria
 Ordo : Enterobacteriales
 Famili : Enterobacteriaceae
 Genus : *Escherichia*
 Species : *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri Gram Negatif. Bakteri ini memiliki bentuk basil (batang) pendek dengan ukuran diameter sekitar 0,4 – 0,7 μm dan panjang 1,4 μm . sebagian besar dari spesies ini bersifat motil, beberapa strain memiliki kapsul dan memiliki flagel peritrik. Bakteri ini juga merupakan mikroba heterotrof yang menggunakan senyawa organik sebagai sumber karbon utamanya. Bakteri *Escherichia coli* termasuk flora normal manusia dan hewan yang hidup dalam usus besar. *Escherichia coli* bersifat mikroaerofilik dan dapat meragikan laktosa. Selain itu, bakteri ini mampu memproduksi indol dan memproduksi asam pada pH yang rendah (Setyaningrum, dkk., 2024).

d. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram adalah metode pewarnaan diferensial yang digunakan untuk mengklasifikasikan bakteri menjadi dua kelompok: Gram Positif dan Gram Negatif. Sifat Gram pada bakteri ditentukan oleh tingkat keasaman (pH) sitoplasma sel, kandungan senyawa ribonukleat dan magnesium pada Gram Positif, serta perbedaan ketebalan lipid pada dinding sel bakteri (Ainutajriani, 2021).

Prinsip pewarnaan Gram melibatkan kristal violet bermuatan positif yang dapat menembus dinding sel dan berikatan dengan komponen bermuatan negatif di dalam sel, sehingga bakteri tampak berwarna ungu. Lugol (iodine), yang bertindak sebagai pemantek (mordant) dan bermuatan negatif, memperkuat ikatan kristal violet

dengan sel. Ikatan ini menghasilkan kompleks kristal violet-iodine dalam sel dan menyebabkan warna kristal violet melekat pada bakteri (Ainutajriani, 2021).

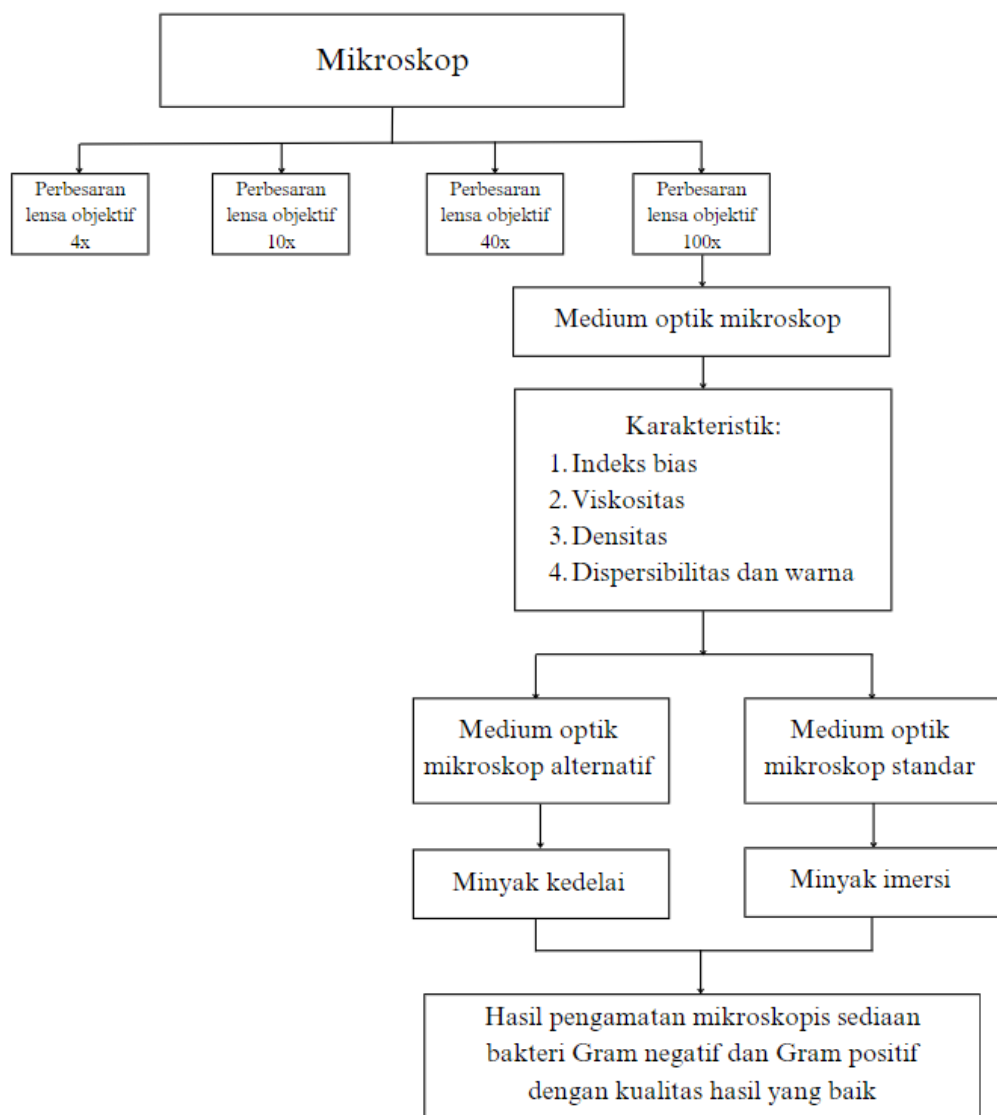
Alkohol sebagai dekolorisator menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar permeabilitas dinding sel dan kompleks kristal violet-iodine dalam sel dapat lepas pada Gram Negatif. Sedangkan pada Gram Positif, karena kandungan peptidoglikannya yang tebal, penambahan alkohol menyebabkan terdehidrasinya dinding sel bakteri, ukuran pori-pori mengecil, permeabilitas berkurang dan kompleks kristal violet-iodine tidak dapat lepas sehingga bakteri tetap berwarna ungu. Ketika cat safranin diberikan, bakteri Gram Negatif yang kehilangan warna akan menyerap warna merah dari safranin, sedangkan Gram Positif akan tetap berwarna ungu (Ainutajriani, 2021). Pewarna Gram terdiri dari beberapa jenis cat, sebagai berikut:

- 1) Cat Gram A adalah kristal violet yang merupakan cat primer berfungsi memberikan warna ungu pada mikroorganisme target.
- 2) Cat Gram B adalah mordant (iodium) yang berfungsi memfiksasi cat primer yang diserap oleh organisme target.
- 3) Cat Gram B adalah alkohol aseton yang berfungsi untuk melunturkan cat sebelumnya. Apabila bakteri tersebut termasuk Gram Positif, ikatan antara cat sebelumnya dengan bakteri tidak dapat dilunturkan, sedangkan jika bakteri termasuk Gram Negatif, ikatan antara cat dengan bakteri dapat dilunturkan.

- 4) Cat Gram D adalah safranin yang merupakan cat sekunder atau cat kontras yang berfungsi sebagai pemberi warna merah pada mikroorganisme non target.
(Ainutajriani, 2021).

B. Kerangka Teori

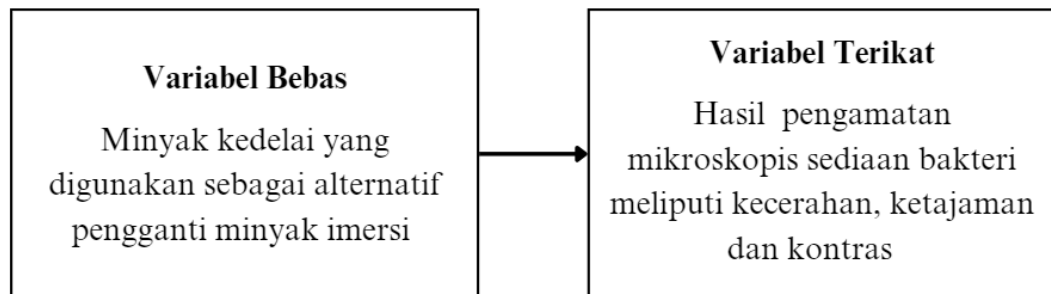
Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3:



Gambar 3. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hubungan antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Minyak kedelai efektif dapat digunakan sebagai alternatif pengganti minyak imersi untuk pengamatan sediaan mikroskopis bakteri dibandingkan dengan minyak imersi.

