

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Mikroskop

a. Definisi Mikroskop cahaya

Mikroskop cahaya adalah alat yang menggunakan cahaya tampak dan sistem lensa untuk memperbesar gambar objek kecil. Dalam bidang biologi dan kedokteran yang memungkinkan pengamatan detail yang tak terlihat dengan mata telanjang. Dengan menggunakan mikroskop pengamatan benda-benda mikroskopis menjadi lebih mudah dilaksanakan. Karena mikroskop ini mempunyai lensa-lensa yang mampu memperbesar benda tersebut. Mikroskop cahaya atau optik merupakan mikroskop yang menggunakan lensa dari gelas dan cahaya matahari atau lampu sebagai sumber penyorotan (Suparti, 2010).

b. Prinsip Kerja Mikroskop Cahaya

Mikroskop cahaya bekerja berdasarkan prinsip pembiasan dan perbesaran cahaya untuk menghasilkan gambar yang diperbesar dari objek kecil. Cahaya dari sumber (biasanya lampu atau cermin) diarahkan melalui kondensor untuk difokuskan pada preparat. Setelah melewati preparat, cahaya masuk ke lensa objektif, yang berfungsi memperbesar gambar pertama dari objek. Gambar ini kemudian diteruskan ke lensa okuler untuk diperbesar lagi sehingga terlihat oleh mata pengamat (Suparti, 2010).

c. Jenis dan Komponen Mikroskop

Mikroskop yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop cahaya binokuler. Mikroskop cahaya binokuler adalah alat optik yang digunakan untuk memperbesar dan mengamati objek berukuran mikroskopis dengan menggunakan dua lensa okuler, memungkinkan pengamatan dengan kedua mata secara simultan. Mikroskop binokuler termasuk dalam kategori mikroskop cahaya karena menggunakan sumber cahaya, baik alami maupun buatan, untuk menerangi sampel yang diamati (Suparti, 2010).



Gambar 1. Mikroskop Cahaya Binokuler Leica DM500

Sumber: Mikroskop-center.de, <https://www.mikroskop-center.de/>

(diakses pada 26 desember 2024).

Bagian-bagian utama mikroskop binokuler meliputi lensa okuler, lensa objektif, meja preparat, sumber cahaya, dan sistem fokus. Lensa okuler terletak dekat dengan mata pengamat dan berfungsi memperbesar bayangan yang dibentuk oleh lensa objektif. Lensa objektif, yang terletak dekat dengan sampel, memiliki perbesaran berbeda dan dapat diputar

sesuai kebutuhan. Meja preparat digunakan untuk meletakkan sampel, sementara sumber cahaya menerangi sampel dari bawah atau atas, tergantung pada jenis mikroskop. Sistem fokus, yang terdiri dari knop pemutar halus dan kasar, digunakan untuk mendapatkan gambar yang jelas (Suparti, 2010).

d. Peran Minyak Imersi dalam pengamatan mikroskop

Minyak imersi pada mikroskop cahaya digunakan untuk meningkatkan pencitraan. Penggunaan minyak imersi mikroskop sebagai bagian dari sistem lensa mikroskop yang akan menghasilkan gambar lebih terang dan lebih tajam daripada gambar serupa yang tidak menggunakan minyak imersi. Minyak imersi memiliki peran penting dalam pengamatan mikroskopis dengan lensa objektif berdaya tinggi (biasanya 100x). Minyak ini digunakan untuk mengisi celah antara lensa objektif dan preparat, yang membantu mengurangi pembiasan cahaya. Karena minyak imersi memiliki indeks refraksi yang hampir sama dengan kaca (sekitar 1,51), cahaya yang keluar dari preparat tidak akan menyebar sebelum mencapai lensa objektif (Sacher, 2000).

Resolusi ideal dicapai dengan menggunakan lensa objektif imersi, di mana minyak imersi digunakan untuk mengurangi pembiasan cahaya antara lensa dan preparat. Dengan memaksimalkan pengumpulan cahaya melalui media yang memiliki indeks refraksi tinggi (seperti minyak), mikroskop cahaya dapat memberikan kualitas gambar lebih tajam dan detail. Resolusi

adalah kemampuan mikroskop untuk membedakan dua titik berdekatan sebagai entitas yang terpisah. Dengan mengurangi pembiasan cahaya, minyak imersi meningkatkan nilai *aperture numerik* (NA) lensa objektif, yang pada gilirannya memperbaiki kemampuan mikroskop dalam memperlihatkan detail struktur objek kecil, seperti bakteri (Kumar and Clark's, 2020)

e. Jenis Lensa Mikroskop

Perbesaran total merupakan hasil perkalian perbesaran lensa objektif dan lensa okuler (Tabel 1). Perbesaran lensa okuler pada Mikroskop ini sebesar 10 x, sedangkan perbesaran lensa objektif bervariasi yaitu 4x, 10x, 20x, 40 dan 100x. Lensa objektif yang rendah perbesarannya digunakan untuk pengamatan awal, melokalisir obyek yang diinginkan, untuk selanjutnya dipindahkan ke perbesaran yang lebih tinggi. Perbesaran 40x biasanya dipakai untuk pengamatan mikroba yang lebih besar, misalnya jamur sedangkan perbesaran 100x digunakan untuk bakteri. Untuk perbesaran yang tinggi (100x) dibantu dengan Minyak Imersi (Widyastuti *et al.*, 2010).

Tabel 1. Perbesaran Total Mikroskop Cahaya Tipe Binokuler

Kekuatan	Lensa Objektif	Lensa Okuler	Perbesaran Total
Lemah	4x	10x	40x
Sedang	10x	10x	100x
Kuat	40x	10x	400x
Minyak Imersi	100x	10x	1000x

Sumber : (Dianthika, 2010).

2. Minyak Imersi

a. Definisi dan Kegunaan Minyak Imersi

Minyak imersi mikroskop digunakan dalam mikroskop cahaya untuk meningkatkan pencitraan. Penggunaan minyak imersi mikroskop sebagai bagian dari sistem lensa mikroskop akan menghasilkan gambar yang lebih terang dan lebih tajam daripada desain serupa yang tidak menggunakan minyak imersi. Minyak imersi menggantikan celah udara antara kondensor dan bagian bawah slide dan antara bagian atas slide atau kaca penutup dan lensa objektif dengan media yang memiliki indeks bias yang sama dengan indeks bias terendah dari komponen kaca ini. Minyak imersi harus terbuat dari bahan yang stabil, tidak mudah menguap, dan tidak boleh mengiritasi kulit (Sacher, 2000).

b. Parameter Penentuan Minyak Imersi

Berikut ini adalah beberapa parameter yang penting untuk menentukan suatu minyak imersi yang baik yaitu :

1) Viskositas

Viskositas suatu zat cairan murni atau larutan merupakan indeks hambatan aliran cairan. Viskositas tinggi membantu mempertahankan posisi minyak selama pengamatan, terutama saat lensa bergerak. Minyak dengan viskositas yang sesuai mampu mengisi celah mikro antara lensa dan kaca penutup tanpa

meninggalkan gelembung udara, yang dapat mengganggu jalur cahaya.

2) Indeks bias

Indeks bias adalah ukuran kemampuan suatu medium untuk membelokkan (membiaskan) cahaya saat cahaya tersebut melewati medium tersebut. Nilai indeks bias suatu jenis minyak dipengaruhi oleh suhu yaitu pada suhu yang lebih tinggi indeks bias semakin kecil. Indeks bias adalah suatu zat perbandingan dari sinus sinar jatuh dan sinus sudut sinar pantul dari cahaya yang melalui suatu zat. Refraksi atau pembiasan ini disebabkan adanya interaksi antara gaya elektromagnetik dari atom-atom di dalam molekul cairan. Pengujian indeks bias dapat digunakan untuk menentukan kemurnian minyak dan dapat menentukan dengan cepat terjadinya hidrogenasi katalisis (*catalytic hydrogenation*). Semakin panjang rantai karbon dan semakin banyak ikatan rangkap, indeks bias bertambah besar. Indeks bias juga dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti kadar asam lemak bebas, proses oksidasi dan suhu. (Kataren, 1986).

3. Minyak Jagung

a. Taksonomi

Tanaman Jagung (*Zea mays*) dalam sistematika tumbuhan dimasukkan dalam klasifikasi sebagai berikut (Warisno, 1998) :

Kingdom : *Plantae*
 Division : *Spermatophyta*
 Subdivision : *Agiospermar*
 Kelas : *Monocytledoneae*
 Ordo : *Poales*
 Family : *Poeceae (Graminae)*
 Genus : *Zea*
 Spesies : *Zea mays L*

b. Tanaman Jagung

Tanaman jagung (*Zea mays*) di Indonesia merupakan tanaman pangan yang penting setelah padi dan terdapat hamper di seluruh kepulauan Indonesia. Umumnya jagung sebagian besar masih digunakan sebagai bahan pangan penduduk serta sebagai sumber minyak. Penyebaran daerah tanaman jagung di Indonesia tidak meata karena adanya pengaruh iklim, keadaan tanah, keadaan hama serta fluktuasi harga jagung (buku lemak pangan). Selain gandum dan padi, jagung juga diolah menjadi minyak. Jagung mengandung banyak komponen fungsional, seperti serat pangan (*fiber diet*), asam lemak esensial, isoflavonne, mineral besi, β -karoten (provitamin A) dan asam amino esesial (Barrera-Arellano, Badan-Ribeiro and Serna-Saldivar, 2019).

Minyak jagung diperoleh dengan jalan mengekstrak bagian lembaga, sisitem estraksi digunakan biasanya sistem *press (pressing)* atau

kombinasi sistem *press* dan pelarut menguap (*pressing and solvent extraction*). Ekstraksi minyak jagung umumnya dilakukan menggunakan metode Soxhlet dengan pelarut heksana (Barrera-Arellano *et al*, 2019).

Minyak jagung mempunyai nilai gizi yang sangat tinggi yaitu sekitar 250 kkalori/ons. Selain itu juga minyak jagung lebih disenangi konsumen karena selain harganya yang murah juga mengandung sitosterol sehingga para konsumen dapat terhindari dari gejala *atherosclerosis* (endapan pada pembuluh darah) yang diakibatkan terjadinya kompleks antara sitosterol dan Ca^{++} dalam darah. Dalam minyak jagung terdapat banyak asam lemak esensial yang dibutuhkan pada pertumbuhan badan. (Kataren, 1986)

c. Sifat Fisiko-Kimia Minyak Jagung

Minyak jagung berwarna merah gelap dan setelah dimurnikan akan berwarna kuning keemasan. Bobot jenis minyak sekitar 0,918 – 0,925, sedangkan nilai indeks bias biasanya pada suhu 25°C berkisar antara 1,4657 - 1,48 (Kataren, 1986).

Kekentalan minyak jagung hampir sama dengan minyak-minyak nabati lainnya yaitu 58 senttipois pada suhu 25°C. Minyak jagung larut di dalam etanol, isopropil alkohol dan furfural, sedangkan nilai transmisinya sekitar 280 – 290 (Kataren, 1986).

4. Kandungan Senyawa Minyak Imersi dan Minyak Jagung

Minyak imersi dan minyak jagung memiliki komposisi senyawa kimia yang berbeda, meskipun beberapa kesamaan dapat ditemukan dalam komponen utamanya. Kandungan dalam minyak imersi memberikan viskositas tinggi dan indeks bias sekitar 1.515, yang mendekati kaca mikroskop untuk meningkatkan kualitas pencitraan. Beberapa formulasi minyak imersi juga mengandung alkohol alifatik atau siklik, yang berfungsi sebagai stabilisator.

Kandungan ester dalam trigliserida dan sifat optiknya memungkinkan minyak jagung menjadi alternatif potensial minyak imersi untuk pengamatan mikroskopis. Kandungan senyawa minyak imersi dan minyak jagung ditujukan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Kandungan Senyawa Minyak Imersi

No	Minyak Imersi
1.	Parafin terhalogenasi, seperti polietilena, polipropilena, polibutena atau poliisobutilena.
2.	Polime monoolefin cair, seperti polietilena
3.	Senyawa ester termasuk ester asam karboksilat dan ester gliserin, butanedioat C4 dan hexanedioat C6.
4.	Senyawa hidrokarbon jenuh cair, seperti pentane, heksana, heptane, oktana, nonana dan paraffin cair.
5.	Alkohol alifatik jenuh, seperti metil alkohol, propil alkohol, butyl alkohol, pentil alkohol, heksin alkohol, heptil alkohol dan oktil alkohol.
6.	Alkohol alisiklik, seperti siklobutanol, siklopentanol, sikloheksanol, sikloheptanol, siklooktanol, siklobutenol, siklopentenol, dan sikloheksenol.

Sumber: (Toshiaki, 1987).

Tabel 3. Kandungan Senyawa Minyak Jagung

No	Minyak Jagung
1.	Golongan asam lemak jenuh yang menyusun trigliserida minyak jagung seperti asam palmitat dan asam stearat.
2.	Asam Lemak Tidak Jenuh seperti asam oleat asam linoleat
3.	Senyawa ester yang terbentuk dari asam lemak linoleat (C18:2), oleat (C 18:1), palmitat (C18:0) dan gliserol.
4.	Minyak jagung memiliki hidrokarbon dalam bentuk trigliserida.
5.	Tidak secara langsung mengandung alkohol bebas, tetapi senyawa turunan seperti sterol (contohnya fitosterol) memiliki struktur mirip alkohol.
6.	Tokoferol yang paling penting adalah alfa dan beta tokoferol.

Sumber: (Kataren, 1986).

5. Sediaan Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Sediaan preparat bakteri adalah metode yang digunakan untuk mempersiapkan bakteri agar dapat diamati dan dianalisis lebih lanjut di bawah mikroskop. Proses ini melibatkan pengambilan sampel, pewarnaan dan pengamatan. Pengamatan morfologi koloni bakteri digunakan untuk mengidentifikasi bakteri karena bakteri memiliki morfologi yang berbeda antara satu dengan yang lainnya. Pengamatan morfologi dilakukan dengan mengamati koloni yang tumbuh pada media biakan dan morfologi sel diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran tertentu. Parameter utama yang dinilai dalam pengamatan morfologi sel meliputi resolusi, kontras dan ketajaman gambar. Resolusi merujuk pada kemampuan mikroskop untuk membedakan dua titik

berdekatan sebagai entitas yang terpisah, sementara kontras menunjukkan perbedaan intensitas atau warna antara objek dan latar belakang. Kejernihan gambar berkaitan dengan tingkat detail yang dapat diamati dari struktur morfologi sel, seperti dinding sel, inti, atau organel. Parameter-parameter ini sangat penting dalam analisis morfologi sel, terutama ketika mengamati mikroorganisme seperti bakteri atau sel eukariotik kecil (Pelczar, Michael and Chan, 2008).

Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan gram merupakan teknik pewarnaan yang sering digunakan. Pewarnaan gram dapat mengetahui morfologi, struktur dan karakteristik bakteri. Kelebihan dari pewarnaan gram yaitu sebagai metode sederhana dan murah untuk mendiagnosis infeksi bakteri dengan cepat. Kekurangan dari metode ini adalah hanya dapat menentukan ukuran dan bentuk bakteri serta mengenali struktur bakteri dengan pewarna. Pewarnaan Gram menggunakan empat macam cat yakni Gram A (kristal violet), Gram B (*iodine lugol*), Gram C (etanol 90%) dan Gram D (Safranin) (Wulandari and Puwaningsih, 2019).

Gram negatif ditandai dengan sel yang berwarna merah dan Gram positif ditandai dengan sel berwarna ungu. Adanya perbedaan warna tersebut dikarenakan komponen penyusun dinding sel bakteri Gram negatif dan bakteri gram positif berbeda. Bakteri Gram positif dapat mempertahankan cat utama yang berisi kristal violet karena dinding selnya mempunyai kandungan peptidoglikan yang tebal. Bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan

warna cat utama karena pada dinding selnya terdapat lapisan yang akan larut ketika dicuci dengan etanol (Gram C) (Pelczar, Michael and Chan, 2008).

Pada penelitian ini bakteri gram positif yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yang digunakan adalah *Escherichia coli*.

a. Bakteri *Staphylococcus aureus*

1) Definisi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri *coccus*, gram positif, susunannya bergerombol dan tidak teratur seperti anggur. Bakteri *Staphylococcus aureus* bersifat non-spora, non-motil, anareob fakultatif, oksidase negatif dan katalase positif. Suhu pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada 6,5 - 46°C dan pada suhu pH 4,2 – 9,3. Dalam waktu 24 jam, koloni bakteri *Staphylococcus aureus* akan tumbuh dengan diameter mencapai 4 mm. Pada media padat koloni berpemukaan halus, berbentuk bulat, berkilau dan berwarna abu-abu sampai kuning emas tua (Krihariyani, 2016).

2) Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* (Soedarto, 2015):

Gambar 1. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Filum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacili</i>

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

3) Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus berukuran garis tengah sekitar 1 μm yang jika dilihat dibawah mikroskop berbentuk seperti kelompok anggur. *Staphylococcus aureus* tidak aktif bergerak (non motil), tidak membentuk spora dan bersifat katalase positif. Bakteri ini tahan panas hingga 50°C, kadar garam yang tinggi dan tahan kekeringan. *Staphylococcus aureus* memiliki koloni yang berukuran besar dengan garis tengah 6-8 mm dan berwarna bening (Soedarto, 2015).

Staphylococcus aureus dapat dibiakkan dengan baik pada berbagai media bakteri dalam suasana aerob. Koloni *Staphylococcus aureus* akan tumbuh lebih cepat pada suhu 37 °C dan akan membentuk pigmen atau warna yang paling baik pada suhu kamar (antara 20°C - 30°C), koloni bakteri berbentuk coccus, lembut dan mengkilat (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2013).

b. Bakteri *Escherichia coli*

1) Definisi Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri *coliform* yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri enterik, yaitu bakteri yang dapat hidup dan beradaptasi pada saluran pencernaan. *Escherichia coli* banyak ditemukan di dalam usus besar manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan orang dewasa (Rahayu, Nurjanah and Komalasari, 2018). Bakteri *Escherichia coli* banyak digunakan sebagai indikator sanitasi. Bakteri *Escherichia coli* tidak dapat dibunuh dengan pendinginan maupun pembekuan, bakteri ini hanya bisa dibunuh dengan antibiotik, sinar *Ultraviolet* (UV) atau suhu tinggi $>100^{\circ}\text{C}$, karena suhu tinggi akan merusak protein dalam sel (Kuswiyanto, 2016).

2) Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* menurut (Songer and Post, 2005) adalah:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>

Genus : *Escherichia*

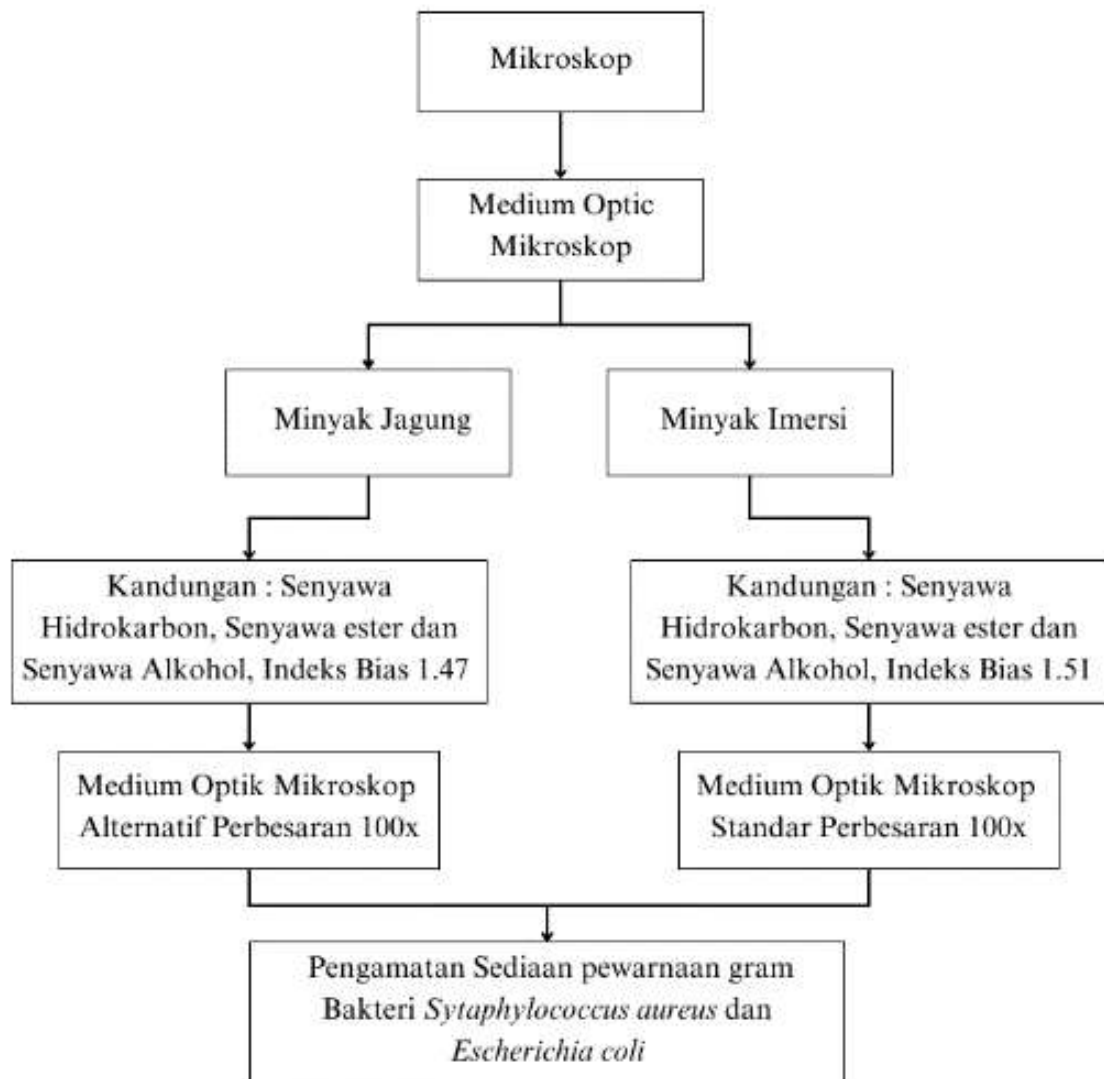
Spesies : *Escherichia coli*

3) Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4 -0,7 μm . bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, sehingga tetap hidup meskipun dalam kondisi oksigen yang sedikit (Khairunnida *et al.*, 2020). Bakteri ini juga tidak membentuk spora, rantai pendek dan tidak berkapsul (Brooks, Butel and Morse, 2008).

B. Kerangka Teori

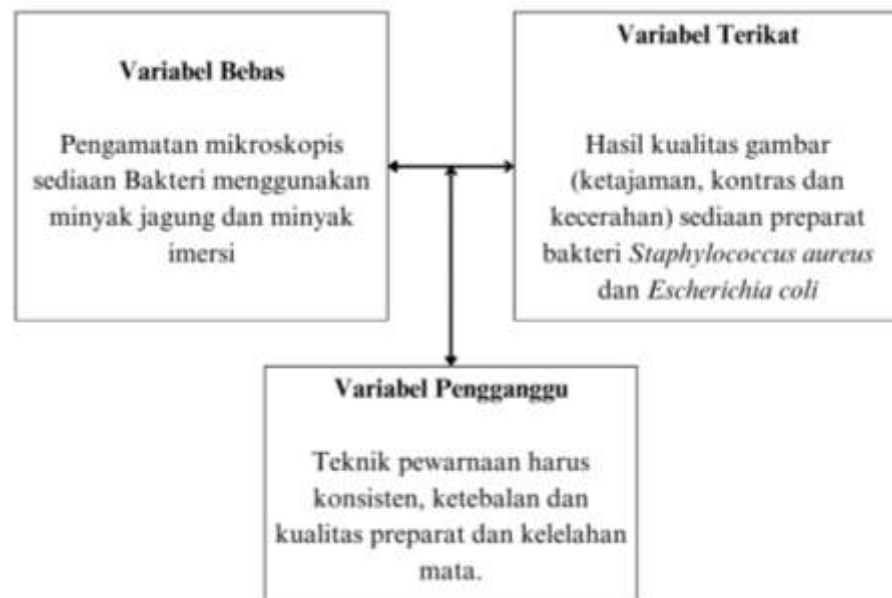
Kerangka teori pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Minyak Jagung dapat digunakan sebagai alternatif pengganti minyak imersi untuk pengamatan sediaan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.