

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. *Mycobacterium tuberculosis*

a.) Pengertian *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis merupakan mikroorganisme patogen yang menjadi penyebab utama penyakit tuberculosis (TB) pada manusia. Secara klasifikasi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* masuk ke dalam genus *Mycobacterium*, famili *Mycobacteriaceae*, ordo *Corynebacteriales* dan kelas *Actinomycetia*. Pada spesimen termasuk dalam kelompok *Mycobacterium tuberculosis Complex* (MTBC) yang memiliki pengaruh terhadap pola epidemiologi tuberculosis diberbagai wilayah dunia(Warner *et al.*, 2025).

Tuberkulosis (TB) berdasarkan data *Global Tuberculosis Report* 2024 dari *World Health Organization* terdapat sekitar 10,8 juta kasus TB dan lebih dari 1,25 juta kematian pada tahun 2023. Angka tersebut menunjukkan masalah kesehatan paling besar di dunia dan Indonesia berkontribusi sekitar 10% dari total kasus global pada tahun 2024. Tingginya kasus TB menuntut peningkatan kualitas layanan diagnostic, terutama di daerah dengan fasilitas kesehatan terbatas (Huda Asif, 2022).

Diantara berbagai metode diagnostik yang tersedia pemeriksaan mikroskopis sputum untuk mendeteksi Bakteri Tahan Asam (BTA), tetap memiliki peranan penting terutama di fasilitas kesehatan primer seperti puskesmas. Metode ini dinilai murah, sederhana, cepat spesifik untuk kasus dengan beban kuman yang tinggi, hal ini menjadikan teknik BTA sangat sesuai sebagai metode skrining awal di puskesmas, dimana sebagian besar kasus TB pertama kali teridentifikasi (Siahaan *et al.*, 2021).

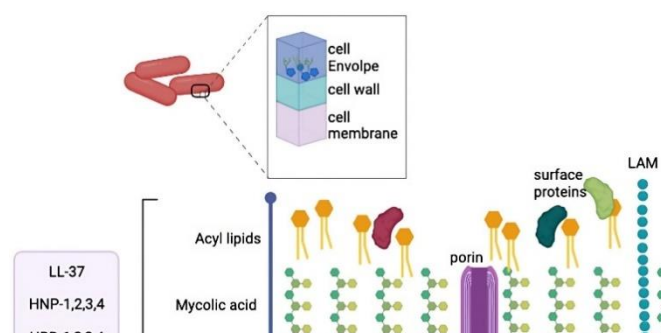
b.) Morfologi *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis memiliki bentuk batang (bacillus) yang lurus atau sedikit melengkung dengan ukuran Panjang sekitar 2-4 μm dan diameter 0,2-0,6 μm . Ukuran yang relative kecil tersebut menyebabkan bakteri hanya dapat diamati menggunakan mikroskop dengan kemampuan resolusi tinggi. Pada pemeriksaan mikroskopis rutin, identifikasi bakteri dilakukan menggunakan objektif imersi 100x yang dikombinasikan dengan lensa okuler 10x sehingga menghasilkan pembesaran total 1000x. penganan pembesaran tinggi diperlukan karena dimensi bakteri mendekati batas resolusi mikroskop cahaya, sehingga kualitas system optik menjadi factor yang sangat menentukan keberhasilan pengamatan (Warner *et al.*, 2025).

Sel bakteri ini tidak memiliki alat gerak (*flagella*) dan tidak mampu membentuk spora. Dalam pengamatan mikroskopis, sel sering tampak tersusun tunggal atau membentuk kelompok kecil,

yang berkaitan dengan sifat permukaan sel yang hidrofobik. Ketiadaan struktur motil seperti flagella menunjukkan bahwa penyebaran bakteri ini tidak terjadi melalui pergerakan aktif bakteri, melainkan penyebaran utamanya melalui *inhalasi droplet aerosol* yang mengandung bakteri dari individu yang terinfeksi (Warner *et al.*, 2025).

Secara pengamatan evolusioner bakteri *Mycobacterium tuberculosis* digolongkan sebagai bakteri gram positif, tetapi pada metode pewarnaan gram konvensional tidak memberikan hasil warna. Fenomena ini disebabkan oleh komposisi dinding selnya yang sangat kompleks dan kaya lipid, sehingga berbeda secara struktural dari bakteri gram positif pada umumnya. Kandungan lipid dinding sel *mycobacterium tuberculosis* mencapai 60% dari berat kering dinding sel, jauh lebih tinggi dibandingkan bakteri gram positif. Dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* tersusun atas lapisan peptidoglikan yang terikat dengan arabinogalactan dan dilapisi oleh asam mikolat yang tersusun membentuk kompleks unik yang memberikan ketahanan terhadap berbagai kondisi lingkungan, bahan kimia serta mekanisme pertahanan tubuh inang. Struktur ini membentuk penghalang yang efektif terhadap penetrasi zat pewarna, berbagai antibiotik serta mekanisme pertahanan imun inang, sehingga berkontribusi terhadap ketahanan bakteri di dalam tubuh manusia (Maciejak-Jastrzębska *et al.*, 2025).



Gambar 1. Struktur Dinding sel *Mycobacterium tuberculosis*
(Jacob-Delgado *et al.*, 2023)

c.) Karakteristik *Mycobacterium tuberculosis*

Salah satu karakteristik biologis penting *Mycobacterium tuberculosis* adalah sifatnya sebagai organisme aerob obligat, yang berarti keberlangsungan hidup dan pertumbuhannya sangat bergantung pada ketersediaan oksigen. Ketergantungan ini menjelaskan kecenderungan bakteri untuk menginfeksi jaringan paru, khususnya area dengan konsentrasi oksigen tinggi seperti lobus atas. Kondisi tersebut berperan dalam pembentukan lesi khas pada tuberculosis paru yang sering ditemukan pada pemeriksaan klinis dan radiologi (Warner *et al.*, 2025).

Mycobacterium tuberculosis telah dikenal sebagai bakteri dengan laju pertumbuhan yang sangat lambat. Waktu generasi bakteri ini berkisar antara 18-24 jam, jauh lebih Panjang dibandingkan bakteri non mikrobakteri seperti *Eschericia coli*. Laju pertumbuhan yang rendah ini berkaitan dengan aktivitas metabolic yang relative lambat serta proses biosintesis dinding sel yang kompleks dan membutuhkan energi tinggi. Konsekuensinya pada

metode diagnosis berbasis kultur memerlukan waktu yang lama, dimana pertumbuhan koloni pada media padat seperti Lowenstein Jensen dapat memakan waktu hingga 4-8 minggu (Maciejak-Jastrzębska *et al.*, 2025).

Mycobacterium tuberculosis digolongkan sebagai *acid fast bacilli* (AFB) karena kemampuannya mempertahankan zat warna setelah proses dekolorisasi menggunakan asam alkohol pada teknik pewarnaan *Ziehl Neelsen*. Sifat tahan asam ini berasal dari tingginya kandungan asam mikolat pada dinding sel, yang mencegah pelepasan zat pewarnaan selama proses pencucian. Akibatnya bakteri tetap berwarna merah pada pemeriksaan mikroskopis, sedangkan mikroorganisme *non acid fast* akan kehilangan warna (Witarto *et al.*, 2024).

Karakteristik *acid fastness* memiliki peran penting dalam diagnosis tuberculosis, khususnya sebagai dasar pemeriksaan mikroskopis sputum dengan metode pewarnaan yang memanfaatkan sifat terutama *Ziehl Neelsen* pada tahap skrining awal. Dalam pemeriksaan mikroskopis visualisasi *mycobacterium tuberculosis* dipengaruhi oleh beberapa factor, antara lain kualitas prepare, kualitas pewarnan, system optic mikroskop, serta media imersi yang digunakan (Hänscheid *et al.*, 2025).

2. Pemeriksaan Bakteri Tahan Asam (BTA)

Pemeriksaan Bakteri Tahan Asam (BTA) merupakan metode diagnostik mikroskopis yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan

bakteri yang memiliki *sifat acid fastness*, yaitu kemampuan mempertahankan zat warna primer meskipun telah diberikan larutan dekolorisasi berupa asam dan alkohol. Dalam praktik diagnostik tuberkulosis, pemeriksaan ini terutama ditujukan untuk mendeteksi keberadaan *Mycobacterium tuberculosis* pada spesimen klinis, terutama sputum (Hänscheid *et al.*, 2025).

Secara historis, pemeriksaan BTA merupakan salah satu metode diagnostik tertua dalam penegakan diagnosis tuberkulosis dan hingga saat ini masih digunakan secara luas, khususnya di negara dengan beban TB tinggi. Meskipun metode molekuler seperti *GeneXpert* dan berbagai WHO *recommended rapid diagnostic tests* (WRD) telah berkembang pesat, pemeriksaan mikroskopis BTA tetap memiliki nilai penting karena relatif sederhana, cepat, murah, dan dapat diterapkan pada fasilitas pelayanan kesehatan primer dengan sumber daya terbatas (Hänscheid *et al.*, 2025).

Secara filosofis, pemeriksaan BTA merupakan bentuk diagnosis bakteriologis langsung (*direct bacteriological evidence*), karena keberadaan bakteri dibuktikan melalui pengamatan visual terhadap mikroorganisme itu sendiri. Berbeda dengan metode molekuler yang mendeteksi materi genetik atau metode imunologis yang mendeteksi respons tubuh terhadap infeksi, pemeriksaan BTA memungkinkan pengamat melihat langsung basil tahan asam pada preparat mikroskopis (Hänscheid *et al.*, 2025). Oleh karena itu, kualitas visualisasi

mikroskopis menjadi aspek yang sangat menentukan validitas hasil pemeriksaan.

Dalam program pengendalian tuberkulosis, pemeriksaan BTA masih menjadi metode skrining awal yang penting karena mampu memberikan hasil dalam waktu singkat serta memiliki spesifisitas yang tinggi pada kasus dengan jumlah bakteri yang cukup banyak dalam sputum.

Prinsip dasar pemeriksaan BTA adalah membedakan mikroorganisme berdasarkan kemampuannya mempertahankan zat warna primer setelah proses dekolorisasi menggunakan larutan asam alkohol. Pada bakteri tahan asam seperti *Mycobacterium tuberculosis*, *carbolfuchsin* yang telah masuk ke dalam dinding sel akan tetap bertahan meskipun preparat dicuci menggunakan larutan asam alkohol. Sebaliknya, mikroorganisme yang tidak memiliki sifat tahan asam akan kehilangan warna primer dan selanjutnya menyerap zat warna kontras yang diberikan pada tahap akhir pewarnaan. Perbedaan kemampuan mempertahankan warna tersebut berkaitan langsung dengan struktur dinding sel. Kandungan asam mikolat yang tinggi menyebabkan permeabilitas dinding sel menjadi rendah sehingga kompleks pewarna sulit dikeluarkan. Oleh karena itu, pada pengamatan mikroskopis bakteri tahan asam akan tampak berwarna merah terang, sedangkan latar belakang atau sel non BTA tampak berwarna biru atau hijau tergantung jenis pewarna kontras yang digunakan (Maciejak-Jastrzębska et al., 2025).

Secara konseptual, pemeriksaan BTA tidak mendeteksi bakteri berdasarkan aktivitas biologisnya, melainkan berdasarkan karakteristik

struktur dinding sel yang memberikan sifat *acid fastness* (Hanscheid et al., 2025).

Pemeriksaan BTA memiliki beberapa tujuan penting dalam diagnosis dan pengendalian tuberkulosis, yaitu:

- 1). Membantu menegakkan diagnosis tuberkulosis paru.
- 2). Menentukan tingkat infektivitas pasien berdasarkan jumlah basil yang ditemukan dalam sputum.
- 3). Memantau keberhasilan terapi antituberkulosis melalui pemeriksaan ulang selama masa pengobatan.
- 4). Mendukung kegiatan surveilans dan program pengendalian tuberkulosis di masyarakat.
- 5). Menjadi metode skrining awal sebelum dilakukan pemeriksaan lanjutan seperti kultur atau pemeriksaan molekuler (Hanscheid et al., 2025).

Karena hasil pemeriksaan dapat diperoleh dengan cepat, metode ini masih menjadi bagian penting dalam strategi diagnosis tuberkulosis terutama di negara dengan beban kasus yang tinggi.

3. Mekanisme pewarnaan *Ziehl Nelsen*

a.) Pengertian Metode *Ziehl Nelsen* (ZN)

Metode *Ziehl Nelsen* (ZN) merupakan teknik pewarnaan diferensial yang dirancang secara khusus untuk mendeteksi bakteri yang memiliki sifat *acid fastness*, terutama *Mycobacterium tuberculosis*. Teknik ini dikembangkan pada akhir abad ke-19 sebagai hasil penyempurnaan metode pewarnaan sebelumnya yang

diperkenalkan oleh Paul Ehrlich, kemudian dimodifikasi lebih lanjut oleh Franz Ziehl dan Friedrich Neelsen melalui penggunaan carbol fuchsin sebagai pewarnaan utama. Sejak saat itu, pewarnaan ZN menjadi metode standar dalam identifikasi bakteri tahan asam. Secara prinsip pewarnaan *Ziehl Nelsen* memanfaatkan perbedaan struktur dinding sel bakteri *acid fast* dan *non acid fast*. Pewarnaan ZN dikembangkan dengan pendekatan khusus yang memungkinkan pewarna menembus lapisan lipid tersebut dan tetap dipertahankan selama proses dekolorisasi (Chandra *et al.*, 2015).

b.) Prosedur Pewarnaan *Ziehl Nelsen*

Prosedur pewarnaan *Ziehl Neelsen* terdiri atas tiga tahap utama yaitu pewarnaan primer menggunakan carbol fuchsin, dekolorisasi dengan larutan asam alkohol dan pewarnaan kontras untuk meningkatkan visualisasi sel *non acid fast*.

1.) Pewarnaan primer dengan *carbol fuchsin*

Tahap pertama dalam metode *Ziehl Neelsen* adalah aplikasi pewarna primer berupa *carbol fuchsin*, yaitu pewarna fenolik yang memiliki afinitas tinggi terhadap lipid. Pewarna ini diaplikasikan pada preparate sputum yang telah difiksasi, kemudian dipanaskan untuk membantu penetrasi pewarna ke dalam dinding sel bakteri. Pemanasan berfungsi sebagai mordant, yang meningkatkan kelarutan carbol fuchsin dalam komponen lipid dinding sel sehingga pewarna dapat menembus lapisan mycolic acids yang bersifat hidrofobik (Vilchèze & Kremer, 2017).

Pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, penetrasi pewarna ini menjadi krusial karena struktur dinding selnya yang tebal dan kaya lipid secara alami menghambat masuknya pewarna biasa. Dengan bantuan panas, *carbol fuchsin* dapat berikatan lebih stabil dengan komponen dinding sel dan struktur intraseluler, sehingga membentuk kompleks pewarna yang sulit dilepaskan pada tahap berikutnya. Kondisi ini menjelaskan mengapa bakteri *acid fast* tetap mempertahankan warna merah khas setelah pewarnaan primer (Chandra *et al.*, 2015).

2). Dekolorisasi dengan Asam Alkohol

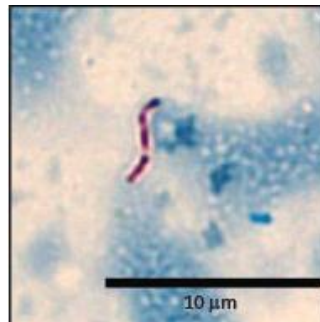
Tahap kedua merupakan proses dekolorisasi menggunakan larutan asam alkohol, yang bertujuan untuk menghilangkan pewarna primer dari sel yang tidak memiliki sifat *acid fast*. Pada bakteri *non acid fast*, struktur dinding sel yang relatif tipis dan miskin lipid memungkinkan *carbol fuchsin* larut dan terlepas dengan mudah selama proses dekolorisasi (Vilchèze & Kremer, 2017).

Sebaliknya pada *Mycobacterium tuberculosis*, kompleks pewarna lipid yang terbentuk selama tahap pewarnaan primer tetap stabil. Kandungan *mycolic acids* yang tinggi serta integritas dinding sel yang kuat menyebabkan pewarna tidak mudah larut meskipun terpapar asam alkohol. Perbedaan mendasar inilah yang menjadi dasar kemampuan bakteri *acids fast* mempertahankan warna primer

dan menjadi pembeda utama dalam metode *Ziehl Nelsen* (Hänscheid *et al.*, 2025).

3). Pewarnaan Kontras (*Counterstain*)

Setelah proses dekolorisasi selesai, prepare kemudian diberikan pewarna kontras, umumnya berupa *methylene blue* atau *malachite green*. Pewarna kontras ini akan mewarnai sel *non acid fast* yang telah kehilangan pewarna primer, sehingga sel tersebut tampak berwarna biru atau hijau dibawah mikroskop cahaya (Chandra *et al.*, 2015).



Gambar 2. *Mycobacterium tuberculosis* dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen* (Hänscheid *et al.*, 2025)

Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* tetap akan mempertahankan warna merah dari *carbol fuchsin*. Perbedaan warna yang kontras akan memungkinkan identifikasi visual yang jelas antara bakteri *acid fast* dan latar belakang atau mikroorganisme lain, sehingga metode *Ziehl Nelsen* menjadi sangat efektif untuk pemeriksaan mikroskopis sputum pada pasien dengan kecurigaan tuberkulosis paru (Arora & Dhanashree, 2020).

4. Mikroskopi Cahaya

Mikroskopi cahaya merupakan Teknik optic fundamental yang tetap menjadi alat utama dalam studi penelitian mikroorganisme seperti

bakteri yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Teknik ini memungkinkan visualisasi struktur morfologis dan juga interaksi biologis yang penting dalam kajian mikrobiologi dan diagnosis klinis. Meski ukuran bakteri terdapat di skala mikrometer yang mendekati batas teori fraksi cahaya, aspek kontras dan resolusi optik secara signifikan memengaruhi kualitas citra yang diperoleh. Tanpa pemahaman yang mendalam mengenai parameter optik ini, serta Teknik tambahan seperti penggunaan minyak imersi, observasi mikroskopis terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dapat menghasilkan citra yang kurang tajam dan kontras rendah (Dey, 2022).

Pembesaran adalah kemampuan sistem optik untuk meningkatkan ukuran tampak suatu objek dibandingkan ukuran sebenarnya. Akan tetapi, pembesaran yang tinggi tidak selalu menghasilkan informasi yang lebih baik apabila tidak disertai peningkatan resolusi. Resolusi merupakan kemampuan sistem optik membedakan dua titik yang sangat berdekatan sebagai dua objek yang terpisah. Menurut teori yang dikemukakan oleh Ernst Abbe, resolusi merupakan parameter paling penting dalam kualitas citra mikroskopis karena menentukan tingkat detail yang dapat diamati. Dalam mikroskop cahaya konvensional, batas resolusi teoritis berada pada kisaran 0,2 μm . Nilai tersebut mendekati ukuran diameter *Mycobacterium tuberculosis*, sehingga visualisasi bakteri ini memerlukan sistem optik yang bekerja pada kondisi optimal. Kontras dan resolusi bukan hanya fitur teknis alat tetapi keduanya menentukan bagaimana struktur mikroorganisme terlihat secara optik dan

bagaimana data biologis dapat ditafsirkan secara akurat (Mualla *et al.*, 2018).

Dasar Optik mikroskop Indeks bias merupakan ukuran kemampuan suatu medium dalam membelokkan cahaya. Semakin tinggi indeks bias suatu medium, semakin besar kemampuan medium tersebut memperlambat dan membelokkan cahaya. Nilai indeks bias udara sekitar 1,00, sedangkan kaca preparat dan immersion oil standar sekitar 1,515. Hukum Snell menjelaskan hubungan antara sudut datang dan sudut bias cahaya ketika melewati dua medium dengan indeks bias berbeda. Semakin besar perbedaan indeks bias antar medium, semakin besar pembiasan cahaya yang terjadi. Sebaliknya, apabila indeks bias kedua medium mendekati sama, cahaya dapat diteruskan dengan pembiasan yang minimal. Dalam sistem mikroskop cahaya, cahaya harus melewati kaca preparat, media imersi, dan lensa objektif. Oleh karena itu kesesuaian indeks bias media imersi sangat berpengaruh terhadap kualitas transmisi cahaya yang mencapai lensa objektif.

Dalam pengamatan mikroskopis, kualitas citra umumnya ditentukan oleh tiga parameter utama, yaitu resolusi, kontras dan ketajaman.

a) Resolusi

Resolusi optik didefinisikan sebagai kemampuan suatu system optik untuk membedakan dua titik yang sangat berdekatan sebagai entitas yang terpisah. Dalam mikroskop cahaya, batas resolusi ini dikendalikan oleh difraksi cahaya dan numerical aperture (NA) dari lensa objektif serta kondisi medium di antara objektif dan preparate.

Tanpa resolusi yang memadai, detil halus dari organisme yang diperbesar tetap tampak buram meskipun perbesaran tinggi telah digunakan (Dey, 2022). Menurut teori diffraction limit oleh Ernst Abbe, kemampuan sebuah mikroskop untuk memisahkan dua titik detil secara optik diberikan oleh (Abbe, 1873) (Muniozguren-Arostegi *et al.*, 2023).

$$d = \frac{\lambda}{NA}$$

Dimana d adalah jarak minimum yang dapat dibedakan, λ adalah Panjang gelombang cahaya, dan NA adalah numerical aperture lensa objektif. Sesuai persamaan ini, resolusi meningkat dengan meningkatnya NA atau dengan menurunkan Panjang gelombang cahaya. Numerical aperture sendiri adalah fungsi dari indeks bias medium antara lensa dan preparate dikalikan dengan sudut maksimum sinar cahaya yang dapat dikumpulkan oleh lensa (Abbe, 1873) (Muniozguren-Arostegi *et al.*, 2023). Resolusi merupakan kemampuan sistem optik membedakan dua titik yang berdekatan sebagai dua objek yang terpisah. Resolusi yang baik memungkinkan morfologi basil terlihat lebih jelas dan mudah dikenali.

b) Kontras

Kontras dalam mikroskopi adalah perbedaan intensitas cahaya yang diterima oleh mata atau detector diantara area objek dan latar belakangnya. Kontras yang tinggi mempermudah perbedaan struktur mikroorganisme yang kecil atau transparan. Dalam mikroskopi cahaya terang (brigh field), kontras biasanya dihasilkan

oleh penyerapan atau hamburan cahaya objek yang diwarnai. Tetapi tanpa pewarnaan bakteri sering terlihat transparan karena indeks biasnya mirip dengan medium disekitar, sehingga kontras intrinsik sangat rendah membuat struktur bakteri sulit dibedakan (Dey, 2022).

Secara mekanisme fisik kontras terjadi ketika gelombang cahaya yang melewati objek mengalami perubahan amplitude atau fase dibandingkan gelombang yang melewati medium sekitarnya. Teknik kontras fase (*phase contrast*) dan mikroskopi medan gelap (*dark field*) adalah dua metode yang secara optik mengubah variasi fase menjadi variasi intensitas sehingga objek yang transparan menjadi tampak terlihat. Hal ini memungkinkan visualisasi struktur yang biasanya tidak terlihat pada mikroskopi *bright field* standar (Szydlowski *et al.*, 2020). Pada analisis bakteri menjadi tantangan yang cukup sulit dimana bakteri sangat kecil dan hampir tidak berwarna jika tanpa dilakukan pewarnaan, kontras intrinsic dalam mikroskopi cahaya sangat rendah. Karenanya menuntut pengguna teknik kontras khusus atau dilakukanya pewarnaan kimia untuk meningkatkan visibilitas bakteri terhadap latar belakang, sehingga pengamatan struktur atau morfologi bakterinya menjadi lebih akurat.

a. Ketajaman

Ketajaman merupakan tingkat kejelasan batas tepi objek yang diamati. Ketajaman yang baik menghasilkan kontur basil yang tegas sehingga bentuk dan ukuran objek dapat dikenali dengan lebih akurat.

Ketiga parameter tersebut menjadi indikator utama kualitas visualisasi dalam penelitian ini karena secara langsung menggambarkan kemampuan sistem mikroskop menghasilkan citra *Mycobacterium tuberculosis* yang optimal. Pemeriksaan mikroskopis *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan objektif imersi 100× memerlukan sistem optik yang mampu menghasilkan resolusi, kontras, dan ketajaman secara optimal. Salah satu faktor yang memengaruhi kualitas citra adalah medium yang berada di antara preparat dan lensa objektif (Szydlowski *et al.*, 2020).

Secara optik, cahaya yang berpindah dari kaca preparat menuju udara akan mengalami pembiasan akibat perbedaan indeks bias. Pembiasan tersebut menyebabkan sebagian cahaya tidak masuk ke dalam lensa objektif sehingga menurunkan kualitas citra (Szydlowski *et al.*, 2020). Oleh karena itu digunakan media imersi yang memiliki indeks bias mendekati kaca untuk meminimalkan kehilangan cahaya.

5. Teori Oil Immersion dalam mikroskopi

a.) Konsep dasar Oil imersi sebagai medium optic

Era penggunaan minyak imersi dimulai sejak mikroskop objektif berkekuatan tinggi dikembangkan, karena pada pembesaran tinggi banyak detail yang seharusnya terlihat tidak muncul akibat indeks bias udara berbeda jauh dari kaca. Oil Immersi merupakan Teknik mikroskopi cahaya yang menggunakan minyak imersi sebagai medium penghubung antara preparate (melalui kaca penutup) dan lensa objektif pembesaran tinggi umumnya objektif 100x. minyak imersi dirancang memiliki indeks bias yang mendekati

indeks bias kaca (1.510), sehingga membentuk jalur optic yang lebih homogen dibandingkan udara yang memiliki indeks bias jauh lebih rendah (1.00) (Cairós *et al.*, 2023).

Penggunaan *oil immersion* bukan bertujuan menambah pembesaran, melainkan meningkatkan kemampuan system optic mikroskop dalam mengumpulkan cahaya yang membawa informasi detil objek. Dengan menyamakan indeks bias medium, pembiasan cahaya pada batas kaca udara dapat diminimalkan, sehingga sinar cahaya dengan sudut besar tetap masuk ke dalam lensa objektif dan tidak hilang dari jalur optic (Muniozguren-Arostegi *et al.*, 2023).

b.) Peranan *Oil Immersi* dalam mikroskopi Bakteri

Bakteri merupakan organisme prokariotik dengan ukuran yang berada dekat atau bahkan dibawah batas resolusi mikroskop cahaya konvensional. Bakteri khusus seperti *Mycobacterium tuberculosis* memiliki diameter yang kecil, sehingga observasi morfologi yang akurat menuntut system mikroskopi dengan resolusi optimal. Dalam penggunaan oil immersi pada objek 100x menjadi sangat penting karena memungkinkan visualisasi bentuk sel, susunan sel dan batas dinding sel dengan lebih jelas. Tanpa oil immersi, detil morfologis bakteri sering tampak kabur atau menyatu, sehingga berpotensi menimbulkan kesalahan interpretasi. Oleh karena itu oil immerse berfungsi sebagai jembatan optic yang memungkinkan mikroskop

cahaya mencapai batas resolusi. Bakteri dari genus *Mycobacterium* memiliki karakteristik morfologi dan struktur dinding sel yang khas dengan ukuran sel relative kecil sehingga pengamatan menjadi menantang secara mikroskopis (Colthrap, 2021).

Produsen utama minyak imersi adalah USA (*Cargile Labs*), Jerman standar yang berkualitas tinggi. Di negara berkembang termasuk Indonesia untuk mendapatkan minyak imersi maka impor dari produsen dengan harga yang relative tinggi. Dampak lingkungan juga memiliki pengaruh jika limbah tidak dikelola dengan benar karena kandungan hidrokarbon minyak mineral sulit terurai secara biologis dan berpotensi enkotocix pada air dan tanah (Amaris Chemical Solutions, 2023).

6. Minyak Nabati Sebagai Media Immersi Alternatif

Minyak nabati merupakan senyawa alami yang umumnya memiliki indeks bias lebih tinggi dibandingkan udara dan air, namun lebih rendah dibandingkan minyak imersi komersial. Nilai indeks bias minyak nabati bervariasi, umumnya berada pada kisaran 1,45-1,48. Secara teoritis minyak dengan indeks bias tersebut masih mampu meningkatkan transmisi cahaya dan NA efektif dibandingkan kondisi tanpa minyak sama sekali (Alemayehu *et al.*, 2024).

Beberapa penelitian eksploratif menunjukkan bahwa penggunaan minyak nabati sebagai media perantara antar preparate dan lensa objektif dapat meningkatkan ketajaman dan kontras citra mikroskopis. Walaupun peningkatan resolusinya tidak setinggi minyak imersi

standar, minyak nabati berpotensi menjadi alternatif dalam kondisi tertentu, terutama dilaboratorium dengan keterbatasan akses terhadap minyak imersi komersial.

a. Minyak Jarak (*Castor Oil*)

1). Karakteristik Tumbuhan Jarak

Tanaman jarak merupakan tumbuhan tahunan dari keluarga Euphorbiaceae, tumbuh optimal di daerah tropis dan subtropis, toleran terhadap tanah marginal serta memiliki ketahanan terhadap kekeringan. Adaptasi ini membuat tanaman jarak mudah dibudidayakan secara luas dan ekonomis sehingga menjadi sumber minyak nabati potensial. Biji tanaman jarak memiliki kandungan minyak tinggi berkisar antara 39-59% berat kering biji.



Gambar 3 A. Tumbuhan jarak B. Biji Jarak muda C. Biji Jarak yang siap dipakai. Sumber: (Joyce Omohu, 2017)

2). Karakteristik Minyak Jarak

Castor oil adalah minyak nabati yang diperoleh dari biji *Ricinus Communis*, Minyak jarak sangat unik karena dominan asam risinoleat (*ricinoleic acid*) suatu asam lemak tak jenuh omega9 yang mengandung gugus hidroksil (-OH) disalah satu atom karbonnya karena kandungan inilah sifat minyak lebih viscous

dibanding minyak nabati lain (70%), asam lemak hidroksi yang jarang terdapat pada minyak nabati lain (Yeboah *et al.*, 2021). Komponen lain termasuk asam oleat (15-20%), linoleate (3-6%), serta sejumlah kecil asam stearate dan palmitat. Komposisi kimia ini memberikan *castor oil* memiliki viskositas yang tinggi, juga kestabilan termal yang baik dan indeks bias sekitar 1,48 (Alemayehu *et al.*, 2024). Sifat hidroksil pada asam risinoleat memberikan *castor oil* memiliki kemampuan membentuk lapisan stabil antara preparate dan lensa objektif, sehingga meminimalkan distorsi cahaya. Struktur kimia ini juga memengaruhi indeks bias dan transmisi cahaya tampak, sehingga *castor oil* sangat relevan untuk aplikasi optik. Nilai indeks bias ini memang lebih rendah dibandingkan minyak imersi standar, tetapi secara signifikan lebih tinggi daripada udara dan air, sehingga secara teoritis mampu meningkatkan transmisi cahaya dalam sistem mikroskop cahaya.

Berdasarkan teori Abbe, resolusi mikroskop cahaya berbanding terbalik dengan NA dan Panjang gelombang. Penggunaan *castor oil* sebagai medium imersi akan meningkatkan NA relative dibandingkan kondisi tanpa minyak, meskipun tidak mencapai NA maksimum seperti minyak imersi standar. Viskositas tinggi *castor oil* mempermudah pengaplikasian minyak pada slide tanpa tumpah, serta menjaga lapisan stabil selama observasi. Polaritas *castor oil* yang tinggi mendukung konsistensi jalur optik dan stabilitas citra. Secara teoritis hal ini

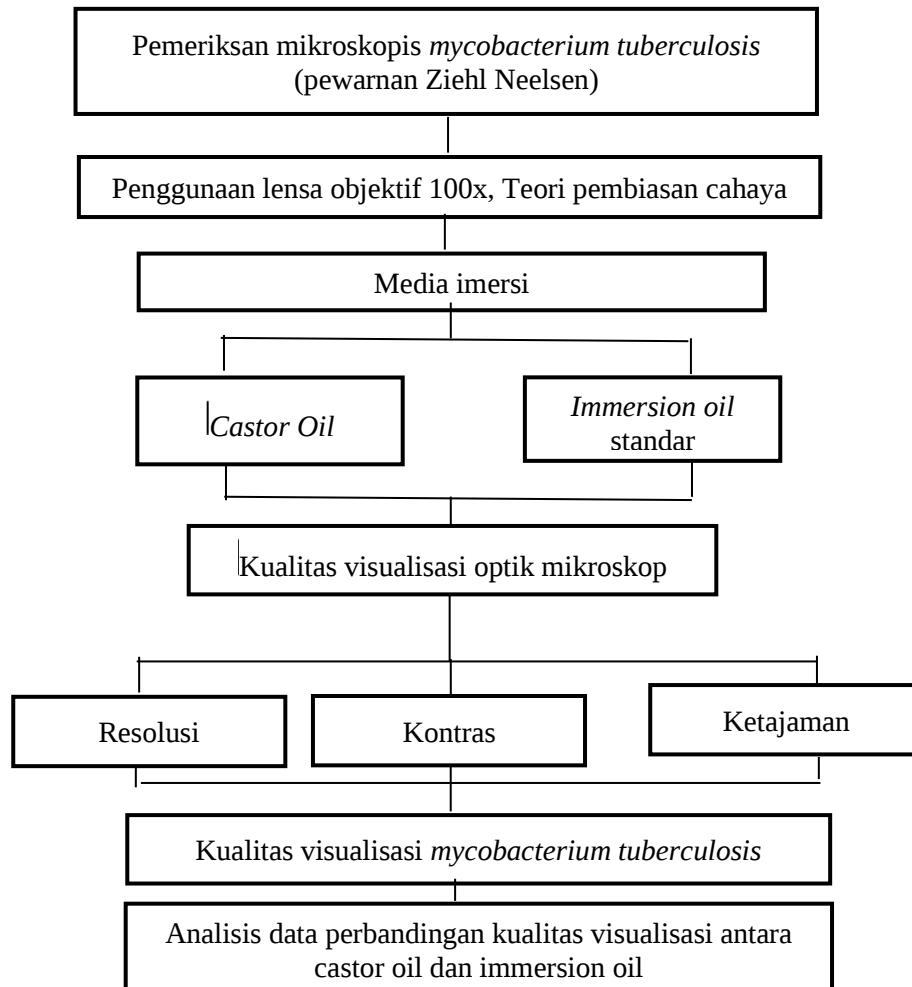
cukup untuk memperbaiki resolusi dan kejataman citra objek berukuran mikrometer, termasuk bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Szydlowski *et al.*, 2020).

3). Tinjauan Penelitian Analisis Literatur Eksperimental

Beberapa penelitian Pendidikan menunjukkan bahwa *castor oil* menghasilkan citra bakteri yang relative tajam dan kontras yang memadai. Konsentrasi hasilnya menjadi pendukung prediksi teori optic bahwa peningkatan indeks bias medium secara langsung meningkatkan kualitas citra mikroskopis.

Restogi *et al* (2017) meneliti herbal *immersion oil*, termasuk *castor oil*, dalam konteks mikroskopi diagnostic parasite malaria. Studi ini menunjukkan bahwa beberapa campuran minyak nabati menghasilkan kontas yang baik dan kestabilan warna yang memadai pada preparate darah, menandakan kompatibilitas optic dan biologis yang cukup baik. Namun penelitian ini juga tidak mengukur parameter optic resolusi. Dengan demikian kontribusi utama studi Restogi adalah pada validasi klinis fungsional, bukan validasi optic teoritis (Rastogi *et al.*, 2017).

B. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

C. Pertanyaan Penelitian

Apakah *Castor oil* dapat digunakan sebagai media alternatif *immersion oil* berdasarkan kualitas visualisasi mikroskopis *Mycobacterium tuberculosis* pada pemeriksaan mikroskopis Ziehl Neelsen?