BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dasar Teori

Pembuatan sediaan adalah rangkaian tindakan pembuatan maupun penyiapan sampel menjadi media atau preparat, spesimen patologi maupun anatomi yang sudah disediakan dan tahan lama untuk penelitian dan pemeriksaan (Auliawati, 2014).

Pengertian sediaan adalah sampel yang ditaruh atau dioleskan diatas gelas objek (*object glass*) atau *slides,* dengan atau tanpa pewarnaan, kemudian dapat diamati di bawah mikroskop (Choyrot, 2009).

2.1.1 Macam-Macam Sediaan

Terdapat 3 jenis sediaan, yaitu: sediaan sementara, sediaan semipermanen dan sedian permanen atau awetan. Sediaan sementara yaitu sediaan tersebut tidak awet atau tahan lama, disebabkan dalam pembuatan sediaan sementara menggunakan medium berupa air atau bahan kimia yang mudah menguap. Sediaan semi permanen yaitu sediaan tersebut mempunyai daya tahan kurang lebih 1 minggu dan media yang digunakan yaitu gliserin. Sediaan awetan atau permanen yaitu sediaan yang dapat bertahan lama, dimana dalam proses pembuatan sediaan

tersebut dilakukan proses histologis lalu diawetkan menggunakan entelan (Pradiana, 2010).

Jenis sediaan permanen parasitologi berdasarkan sampel yang digunakan dalam pembuatan sediaan permanen, dibedakan menjadi 3 macam, yaitu:

a. Sediaan Cacing

   Sediaan cacing adalah sediaan yang sampelnya berupa telur cacing dan cacing dewasa yang diambil lewat muntahan atau feses.

b. Sediaan Protozoa

   Sediaan protozoa adalah sediaan yang menggunakan sampel berupa protozoa yang ditemukan dalam feses.

c. Sediaan Entomologi

   Sediaan entomologi adalah sediaan yang menggunakan sampel berupa kutu, insekta, dan lainnya (Setyawati, 2017).

2.1.2 Pembuatan Sediaan Permanen

Metode dalam pembuatan sediaan permanen melalui beberapa langkah, yaitu: langkah awal dengan pengambilan sampel yang dibutuhkan, kemudian difiksasi dengan larutan fiksasi yang sesuai. Kemudian tahap selanjutnya, dilakukan proses dehidrasi yaitu dengan mengeluarkan air dari organ atau organisme menggunakan alkohol secara bertingkat. Kemudian organ atau organisme ini bisa diamati dengan jelas, diusahakan organ atau organisme ini transparan, dengan menggunakan xylol atau toluol. Dalam pembuatan sediaan

permanen tahap yang tidak kalah pentingnya yaitu bagian *mounting*, dimana proses penutupan sampel yang membuat preparat dapat bertahan lama, sehingga sediaan permanen ini dapat disimpan selama dua sampai lima tahun (Setyawati, 2017).

2.1.3 Teknik Pembuatan Sediaan Permanen Serangga

2.1.3.1 Proses Fiksasi

Teknik fiksasi yang memadai menyebabkan penyebaran umum dari material atau sampel sehingga struktur sel dapat terlihat jelas melalui pengamatan mikroskopik. Penyebaran tersebut memberikan pengaruh secara nyata terhadap teknik selanjutnya yaitu: dehidrasi, *clearing*, dan *mounting*. Tujuan dilakukannya fiksasi yaitu mencegah kerusakan jaringan, menghentikan proses metabolisme secara cepat, mengawetkan komponen sitologis dan histologis, mengawetkan sampel sehingga terlihat seperti sampel aslinya, mengeraskan materi yang lembek, dan jaringan-jaringan dapat diwarnai sehingga mempermudah mengetahui bagian-bagian dari jaringan. Proses fiksasi pada sediaan awetan entomologi yaitu menipiskan lapisan eksoskeleton atau lapisan kitin serangga dengan cara serangga dimasukkan ke dalam larutan KOH 10% selama 10 jam (Choyrot, 2009).

2.1.3.2 Proses Dehidrasi

Dehidrasi adalah proses penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan bahan-bahan kimia tertentu (Fitrianto, 2011). Proses dehidrasi merupakan serangkaian proses dengan cara memasukan sampel ke dalam larutan dehidrasi secara berseri dari konsentrasi rendah sampai konsentrasi tinggi dengan mengurai konsentrasi air.

Proses dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan molekul air dari dalam jaringan serangga dengan menggunakan alkohol. Proses dehidrasi dilakukan secara perlahan-lahan dan menggunakan alkohol bertingkat, dimulai dari alkohol dengan konsentrasi 30% atau 50% kemudian memindahkan jaringan atau sampel dari alkohol dengan konsentrasi rendah ke alkohol dengan konsentrasi tinggi (Choyrot, 2009).

Dehidran yang paling umum digunakan pada pembuatan preparat awetan adalah etanol. Jenis dehidran lain adalah *dioksan, N-butyl alcohol, aniline oil* dan *bergamot oil* atau bahan alami yang dapat menghasilkan alkohol seperti air tapai (ketan, dan singkong atau bahan yang mengandung karbohidrat). *Etanol* merupakan dehidran yang umum digunakan, karena relatif murah dan mudah diperoleh, tetapi mampu menghasilkan hasil yang baik pada sediaan entomologi. Dalam penggunaan etanol yaitu memakai etanol dengan konsentrasi yang berbeda, dimulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (30%-50%-70%-80%-96%-100%). Lama perendaman tergantung untuk masing-masing

konsentrasi berkisar 1-6 jam. Proses dehidrasi dalam berbagai konsentrasi alkohol atau etanol dilakukan setingkat demi setingkat. Tujuannya adalah untuk menjaga agar tidak terjadi perubahan secara tiba- tiba terhadap sel jaringan, sehingga perubahan struktur sel yang terjadi sekecil mungkin. Apabila proses dehidrasi ini tidak sempurna disebabkan masih ada molekul air dari dalam jaringan. Ketidak sempurnaan proses dehidrasi ini dapat diketahui dengan jelas setelah jaringan dimasukkan ke dalam zat penjernih, dimana jaringan tidak menjadi transparan walaupun jaringan telah lama dalam larutan penjernih. Jika terjadi hal yang demikian, maka jaringan harus dikembalikan ke dehidran (Choyrot, 2009).

2.1.3.3 Proses *Clearing*

Clearing berasal dari kata *clear* yang berarti jernih, jelas atau terang. Proses clearing yaitu menjernihkan jaringan serangga dengan menggunakan bahan kimia. Sedangkan proses clearing adalah penghubung antara proses dehidrasi dengan dengan proses penanaman pada pembuatan sediaan irisan jaringan dengan metode paraffin. Proses ini juga sangat penting untuk pembuatan sediaan-sediaan utuh *(whole mount)* (Choyrot, 2009). Pada proses *clearing*, pinjal atau kutu dipindah dari alkohol absolute ke dalam bahan clearing. Proses ini bertujuan untuk membuat struktur tubuh kutu terlihat jelas. Proses *clearing* dipercepat dengan agitasi perlahan-lahan dari tubuh kutu yang berada didalam larutan pengencer. Reagen *clearing* yang baik yaitu reagen yang memiliki indeks refraksi tinggi dan cepat menarik alkohol seperti xylol, toluol dan bensen (Choyrot, 2009).

2.1.3.4 Proses *Mounting*

Proses *mounting* merupakan proses terakhir sebelum sediaan awetan kutu *Pediculus humanus capitis* sebelum diamati secara makroskopik dan mikroskopik. Pada proses ini entelan digunakan sebagai perekat diakhir pengerjaan dan selanjutnya sediaan kutu ditutup dengan *deck glass.* Proses *mounting* yaitu menempelkan jaringan pada kaca penutup dengan menggunakan bahan perekat (adhesive) berupa mounting media. Mounting media adalah zat yang menghubungkan antara sediaan dengan kaca penutup. Zat tersebut meliputi gliserol dan balsam kanada, tetapi untuk preparat permanen digunakan balsam kanada (Perceka, 2011).

2.1.4 Pediculus humanus capitis

Pediculus humanus capitis atau kutu kepala merupakan ektoparasit obligat, ditemukan pada kulit kepala yang dapat menyebabkan infeksi dan ditularkan melalui kontak fisik (Yousefi, *et al.,* 2012). *P.h. capitis* termasuk parasit yang menghisap darah (*hemophagydea*) dan menghabiskan seluruh siklus hidupnya pada manusia (Hardiyanti, 2016). Taksonomi *P.h. capitis* adalah sebagai berikut (Pratiwi, 2017).

Gambar 2.1 ***Pediculus humanus capitis***

(Sumber : https://fianykasisie.files.wordpress.com/2014/04/2.jpg)

Klasifikasi *Pediculus humanus capitis*

Kingdom : Animalia

Phylum : Arthropoda

Class : Insekta

Ordo : Pthiraptera

Sub ordo : Anoplura

Family : Pediculidae

Genus : *Pediculus*

Species : *Pediculus humanus capitis* (Pratiwi, 2017)

2.1.4.1 Morfologi

Morfologi *P.h.capitis* memilki ciri bentuk tubuh pipih dosoventral, berwarna kuning kecoklatan atau putih abu- abu, kepala avoid bersudut, abdomen terdiri dari 9 ruas, dan badan bersegmen. Sepasang mata sederhana terletak pada kepala di sebelah lateral, dengan sepasang antena pendek yang terdiri atas 5 ruas dan

probosis. *P.h.capitis* memiliki tipe mulut tusuk hisap yang dapat memanjang. *P.h.capitis* juga memiliki tiga pasang kaki dan tidak memiliki sayap (Hardiyanti, 2016). *P.h. capitis* jantan memiliki panjang tubuh kira-kira 2 mm, dengan bentuk alat kelamin seperti huruf "V". Sedangkan pada *P.h.capitis* betina memilki panjang tubuh kira-kira 3 mm dan bentuk alat kelaminnya seperti huruf "V" terbalik. *P.h.capitis* betina mempunyai lubang kelamin di tengah bagian dorsal pada abdomen terakhir. Selama hidupnya *P.h. capitis* bertelur sekitar 140 butir (Setiyo, 2007).

P.h.capitis termasuk *phylum* Arhtropoda yang memiliki kerangka luar (eksoskeleton). Rangka luar tersebut tebal dan sangat keras sehingga dapat menjadi pelindung tubuh. Eksoskeleton merupakan pembungkus yang keras pada permukaan tubuh serangga. Eksoskeleton pada arthropoda adalah kutikula yang disusun oleh kitin, merupakan pembungkus tidak hidup yang disekresikan oleh sel-sel epidermis. Kutikula dikeraskan oleh senyawa organik yang berikatan dengan protein dan berfungsi sebagai perlindungan diri. Lapisan eksoskeleton secara berkala akan dilepaskan kemudian digantikan dengan pembungkus yang lebih besar sesuai pertumbuhan hewan tersebut (Auliawati, 2013).

Eksoskeleton pada arthropoda sekitar 80% tersusun atas senyawa kitin. Kitin merupakan komponen kedua terbesar di bumi setelah selulosa. Kitin (poli- N-asetil-glukosamin) adalah senyawa amino polisakarida berbentuk polimer gabungan. Kitin banyak ditemukan dalam keadaan bergabung dengan protein, mineral dan berbagai macam pigmen. Kitin bersifat tidak larut dalam air atau pelarut organik karena

molekul kitin memiliki ikatan hidrogen yang sangat panjang dan kuat (Patmawati, 2015).

Degradasi kitin dapat terjadi secara biologis yaitu didegradasi oleh serangga sendiri dengan cara pergantian kulit (*molting*). Selain itu degradasi kitin dapat terjadi juga secara fermentasi dengan bantuan mikroba penghasil enzim kinolitik. Kitin juga dapat didegradasi dengan cara deproteinisasi menggunakan berbagai pereaksi seperti Na_2CO_3, $NaHCO_3$, KOH, Na_2SO_4, Na_2S, Na_3PO_4 dan NaOH (Yunarsih, 2013).

2.1.4.2 Siklus Hidup

Siklus hidup *P.h. capitis* merupakan metamorfosis tidak sempurna diawali dari telur menjadi nimfa kemudian dewasa. *P.h.capitis* mulai dari telur sampai menjadi dewasa membutuhkan waktu 18 hari. Telur menetas menjadi nimfa kurang lebih membutuhkan waktu 10 hari dan *P.h. capitis* dewasa dapat hidup selama 27 hari. *P.h.capitis* dapat bertahan hidup selama 48 jam apabila tidak menghisap darah dan bertahan hidup 1-2 hari apabila tidak berada pada rambut atau kulit kepala manusia. Sedangkan telur dapat bertahan 1 minggu apabila tidak terdapat pada rambut atau kulit kepala (Pratiwi, 2017).

Identifikasi parasit menjadi vektor penyakit dapat dilakukan dengan baik dan tepat apabila teknisi laboratorium dapat mengenali serangga vektor tersebut. Sediaan pembanding hendaknya berupa sediaan serangga yang benar-benar utuh, tidak rusak serta dapat bertahan lama. Kualitas sediaan preparat yang baik dilihat dari kejernihan, kualitas warna, dan keutuhan anggota tubuh serangga.

2.1.5 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kualitas Sediaan

Faktor kesalahan dalam pembuatan sediaan permanen ini adalah salah saat pengambilan sampel dalam pembuatan sediaan untuk *Pediculus humanus* capitis, pengambilan sampel dilakukan dengan cara mengambil *Pediculus humanus* capitis dari rambut secara langsung menggunakan tangan, sehingga tubuh *Pediculus humanus* capitis akan rusak karena jepitan jari. Kesalahan yang kedua yaitu pada proses *clearing* dengan merendam sediaan yang terlalu lama akan menyebabkan jaringan menjadi rapuh. Kesalahan ketiga yaitu melakukan pemeriksaan dengan teknik yang tidak tepat. Jika tidak tepat dalam pemberian balsam kanada dan penutupan sediaan menggunakan kaca penutup, maka akan terjadi gelembung udara yang dapat mengganggu pengamatan. Eksoskeleton serangga antara yang muda dan yang tua memiliki ketebalan yang berbeda, sehingga untuk pemeriksaan eksoskeleton dalam pemilihan sampel harus memperhatikan ukuran badan serangga. (Auliawati, 2014)

2.1.6 Tapai Ketan Putih

Beras Ketan putih (*Oryza sativa glutinosa*) merupakan salah satu varietas padi yang termasuk dalam famili *Graminae*. Butir beras sebagian besar terdiri dari zat pati sekitar 80-85% yang terdapat dalam endosperma yang tersusun oleh granula-granula pati yang berukuran 3-10 milimikron.

Menurut Steenis (1992) taksonomi beras ketan putih masih termasuk dalam spesies tanaman yang memiliki taksonomi sebagai berikut:

Gambar 2.2 Beras Ketan Putih
(Sumber : Steenis, 1992)

Klasifikasi beras ketan putih (*Oryza sativa* L. Var. Forma *glutinous*)

Divisio	: *Spermatophyta*
Kelas	: *Angiosperma*
Ordo	: *Graminales*
Famili	: *Gramineae*
Genus	: *Oryza*
Spesies	: *Oryza sativa* L.
Varietas	: *Oryza sativa* L. Var. Forma *glutinous* (Steenis, 1992)

Tapai adalah suatu produk hasil fermentasi, dimana bahan-bahan dasar pembuatan tapai mengandung karbohidrat seperti beras, ketan, jagung, dan ketela pohon. Fermentasi adalah aplikasi metabolisme mikroba untuk mengubah bahan baku menjadi produk yang bernilai lebih tinggi, seperti asam-asam organik, protein sel tunggal, antibiotika dan biopolimer (Ulandari, 2016). Ragi adalah suatu inokulum atau starter untuk melakukan fermentasi dalam pembuatan produk tertentu. Proses fermentasi ini akan menghasilkan *etanol* dan CO_2

(Rahmawati, 2010). Karbohidrat adalah bahan baku yang menunjang dalam proses fermentasi, dimana prinsip dasar fermentasi adalah degradasi komponen pati oleh enzim (Rustriningsih, 2007). Dalam proses fermentasi yang mengikutsertakan aktivitas organisme-organisme menghasilkan proses perubahan karbohidrat menjadi *etanol* sehingga produk hasil fermentasi menjadi lebih enak rasanya.

Tinggi rendahnya *etanol* yang diperoleh setelah proses fermentasi berkaitan dengan adanya jumlah khamir yang ada (Widiyaningrum, 2009). Pertumbuhan khamir berhubungan dengan aktifitas enzim amilase yang mengubah pati menjadi maltose dengan enzim maltase, kemudian maltosa akan dihidrolisis menjadi glukosa. Dengan bantuan enzim *Saccharomyces cerevisiae* yang memiliki kemampuan untuk mengkonversi gula (kelompok monosakarida maupun disakarida). Jika gula disakarida maka enzim invertase akan bekerja menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Kemudian, enzim zymase akan mengubah monosakarida menjadi etanol dan CO_2.

Tapai ketan putih memiliki kemampuan menghasilkan etanol paling tinggi dibandingkan dengan tapai singkong. Kandungan dari karbohidrat (zat pati) pada bahan fementasi yang berbeda menghasilkan kadar etanol yang berbeda pula. Kandungan karbohidrat dalam tapai ketan putih lebih banyak dibandingkan dengan singkong. Ketan putih mempunyai kandungan kabohidrat paling banyak (79,40 g per 100 g bahan) (Direktorat Gizi dan Makanan, 1996) bila dibandingkan dengan karbohidrat pada singkong (34,7 g per 100 g bahan) (Haryadi, 2013). Semakin banyak jumlah glukosa yang terdapat di dalam suatu bahan, maka

semakin tinggi jumlah etanol yang dihasilkan dari perombakan glukosa oleh jumlah khamir (*Saccharomyces cereviceae*) **y**ang tinggi dalam tape yang dibuat (Simbolon, 2008).

Etanol atau sering juga disebut dengan alkohol adalah suatu cairan transparan, mudah terbakar, tidak berwarna, mudah menguap, dengan rumus kimia C_2H_5OH, dapat bercampur dengan air, eter, dan kloroform, yang diperoleh melalui fermentasi karbohidrat dari ragi yang disebut juga dengan *etil alkohol* (Bender, 1982).

Etanol, disebut juga etil alkohol, alkohol murni, alkohol absolut, atau alkohol saja, adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Senyawa ini merupakan obat psikoaktif dan dapat ditemukan pada minuman beralkohol dan termometer modern (Ulfahalimuki, 2014)

Etanol digunakan pada berbagai produk meliputi campuran bahan bakar, produk minuman, penambah rasa, industri farmasi, dan bahan-bahan kimia (Jeon, 2007). Etanol merupakan salah satu sumber energi alternatif yang dapat dijadikan sebagai energi alternatif dari bahan bakar nabati (BBN). Etanol mempunyai beberapa kelebihan dari pada bahan bakar lain seperti premium antara lain sifat etanol yang dapat diperbaharui, menghasilkan gas buangan yang ramah lingkungan karena gas CO_2 yang dihasilkan rendah.

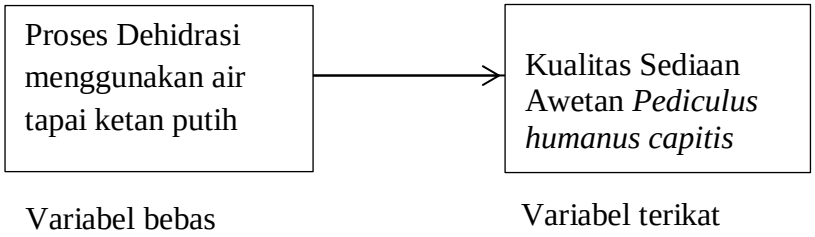
2.1.7 Ragi

Starter yang digunakan untuk produksi tape disebut ragi, yang umumnya berbentuk berbentuk bulat pipih dengan diameter 4 – 6 cm dan ketebalan 0,5 cm. Tidak diperlukan peralatan khusus untuk produksi ragi. Cara pembuatan ragi adalah tepung beras yang bersih dicampur dengan air untuk membentuk pasta dan dibentuk pipih dengan tangan, kemudian diletakkan di atas nyiru yang dilambari dengan merang dan ditutup dengan kain saring. Organisme akan tumbuh secara alami pada pasta ini pada suhu ruang dalam waktu 2 – 5 hari. Penambahan rempah - rempah atau bumbu untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme yang diharapkan. Penambahan sari tebu juga dilakukan untuk menambah gula. Ragi dipanen setelah 2 – 5 hari tergantung dari suhu dan kelembapan (Hidayat, 2006). Ragi tape dapat dibuat sendiri dari bahan-bahan yang terdiri dari tepung ketan putih, bawang putih, merica, lengkuas, cabai untuk jamu dan air perasan tebu secukupnya dengan memanfaatkan peralatan sederhana seperti alat penumbuk, tampah, jerami, baskom dan daun pisang (Simbolon, 2008).

Ragi tape merupakan inokulum yang berfungsi sebagai agensia proses sakarifikasi dan fermentasi alkohol dalam pembuatan makanan fermentasi bahan berpati. Ragi tape ini berisi kultur yang bersifat amilolitik dan fermentatik. Contoh ragi tape antara lain ragi merk NKL (Na Kok Liong). Di dalam ragi merk NKL terdapat spesies mikroorganisme yang bersifat amilotik. Jenis mikroorganisme yang terdapat dalam ragi merk NKL yaitu *Amylomyces* sp, *Aspergillius* sp, *Mucor* sp, *saccharomyces* sp, *Candida* sp (Ninsix, 2013)

Ragi untuk tape merupakan populasi campuran yang terdiri dari *Aspergillus, Saccharomyces, Candida, Hansenulla*, sedang bakteri *Acetobacter* tidak ketinggalan dan hidup bersama secara sinergetik. *Saccharomyses cerevisiae* umumnya mengubah gula menjadi alkohol. Jumlah ragi yang semakin banyak akan mempengaruhi kadar alkohol yang tinggi, karena alkohol membentuk ester yang merupakan komponen pembentuk perubahan warna tape (Unika & Astuti, 2015). Semakin tinggi pemberian dosis ragi maka cenderung menurunkan kadar gula reduksi. Sehingga semakin banyak glukosa yang dirombak maka kadar etanol semakin tinggi. (Hari Yati, 2017). Pemberian dosis ragi sangat menentukan kualitas tape yang dihasilkan. Oleh karena itu dosis ragi yang digunakan harus sesuai kebutuhan.

2.2 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Bagan Kerangka Konsep