

**LAPORAN
HASIL PENELITIAN HIBAH BERSAING
TAHUN ANGGARAN 2012**



**PENDAYAGUNAAN INSTRUMEN PDI- LED UNTUK OPTIMASI
PHOTODINAMIK INAKTIVASI BAKTERI *Vibrio cholera* DENGAN
EKSOGEN PHOTOSENSITIZER *5-Aminolevulinic Acid***

Oleh:

Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si

Drs. Agus Supriyanto, M.Kes

Dr. Eng. Kuwat Triyana, M.Si

Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga, sesuai dengan Surat Keputusan
Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2012
Nomor:2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012

UNIVERSITAS AIRLANGGA

2012

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR

1. Judul Penelitian : Pendayagunaan Instrumen PDI-LED Untuk Optimasi Photodinamik Inaktivasi Bakteri *Vibrio cholerae* Dengan Eksogen 5-Aminolevulinic Acid
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : Dr. Suryani Dyah Astuti, S.Si., M.Si
 - b. Jenis Kelamin : Perempuan
 - c. NIP/NIDN : 196908041994122001/0008046902
 - d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
 - e. Jabatan Struktural : -
 - f. Bidang Keahlian : Biofisika
 - g. Fakultas/Jurusan/Puslit : Fakultas Sains dan Teknologi/Fisika
: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Airlangga
 - h. Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Tim Peneliti


No	NAMA PENELITI	BIDANG KEAHLIAN	FAKULTAS / JURUSAN	PERGURUAN TINGGI
1.	Drs. Agus Supriyano, M.Kes	Mikrobiologi	F Saintek/Biologi	Unair
2.	Dr. Eng. Kuwat Triyana, M.Si	Bio Material	F MIPA/Fisika	UGM

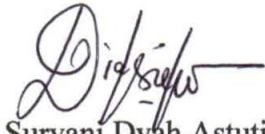
3. Pendanaan dan Jangka Waktu Penelitian
- a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 2 tahun
 - b. Biaya total yang diusulkan : Rp 100.000.000,-
 - c. Biaya yang disetujui tahun II : Rp 35.000.000,-

Surabaya, Oktober 2012

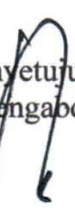
Mengetahui,
Dekan FST

Ketua Peneliti


Prof. Win Darmanto, Ph.D
NIP. 196106161987011001


Dr. Suryani Dyah Astuti, S.Si., M.Si
NIP. 196908041994122001

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Unair


Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si
NIP. 195908051987011001

Pendayagunaan Instrumen PDI-LED Untuk Optimasi Photodinamik Inaktivasi Bakteri *Vibrio cholerae* Dengan Eksogen 5-Aminolevulinic Acid

(Suryani Dyah Astuti, Agus Supriyanto, Kuwat Triyana, 2012, 35 halaman)

RINGKASAN

Bakteri *Vibrio cholerae* telah diketahui memiliki peran penting sebagai penyebab penyakit kolera baik epidemik maupun pandemik pada manusia. Terapi sistemik untuk inaktivasi bakteri dengan menggunakan antibiotik menimbulkan masalah resistensi. Sehingga diperlukan metode terapi yang bersifat efektif dan selektif. Salah satunya adalah metode photodinamik (PDI) dengan penyinaran foton cahaya. Secara alamiah beberapa bakteri menghasilkan *porphyrin* yaitu molekul pengabsorpsi cahaya yang bersifat *photosensitizer* (peka terhadap cahaya). Kombinasi cahaya dengan spektrum panjang gelombang yang sesuai dengan spektrum absorpsi *photosensitizer* akan menyebabkan *photodamage* pada bakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyinaran LED biru 430 nm pada berbagai daya PWM dengan durasi waktu penyinaran 40 menit pada bentuk fisis sel, profil pita protein dan profil lipid membran bakteri *Vibrio cholerae*

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris, disusun menggunakan ancangan acak lengkap dengan variabel bebas adalah penyinaran LED biru pada berbagai daya PWM (0%, 25%, 50%, 100%) dengan durasi waktu penyinaran 40 menit. Uji fisis sel bakteri dengan menggunakan SEM, uji profil protein bakteri dengan SDS-Page dan uji asam lemak jenuh bakteri dengan GC. Analisis data menggunakan uji anova satu arah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyinaran LED biru 430 nm daya PWM 75% durasi waktu 40 menit menyebabkan perubahan pada pita protein 72 kDa, 68 kDa dan 35 kDa dan penurunan kuantitas asam lemak jenuh miristat, palmitat dan laurat serta adanya kerusakan pada dinding sel bakteri. Jadi metode fotodinamik inaktivasi bakteri dapat membunuh bakteri secara selektif.

PDI-LED instrument for the optimization Photodynamic inactivation of the *Vibrio cholerae* bacteria with exogenous photosensitizer 5-aminolevulinic acid

(Suryani Dyah Astuti, Agus Supriyanto, Kuwat Triyana, 2012, 35 pages)

SUMMARY

Vibrio cholerae have been known to have the important role as cholera disease, epidemic and also pandemic at human. Systematical therapy for inactivate of bacteria by using antibiotic cause the bacteria become resistance, so that needed a therapy method having the character of selective. One of the method is photodynamic with the irradiating of light photon. Naturally some bacteria produce the porphyrin that is molecule with the character as photosensitizer (sensitive to light). Light-photosensitizer combination with the wavelength spectrum matching will cause the photodamage of bacteria.

This research aimed to determine the effect of blue LED 430 nm exposure on the physical form of the cell, the profile of protein band and the profile of lipid membranes of *Vibrio cholerae* bacteria.

This research represent experiment laboratory, prepared using a completely randomized design with the independent variable was blue LED 430 nm illumination at various PWM power (0%, 25%, 50%, 100%) with duration of 40 minutes exposure time. Test of bacterial cells physical form of using SEM, test of bacterial protein band profiles by SDS-Page and test of bacteria saturated fatty acid with GC. Data analysis using one-way anova test.

The results showed that irradiating blue LED 430 nm with 75% PWM power and duration 40 minutes causes changes in protein bands 72 kDa, 68 kDa and 35 kDa and a decrease in the quantity of saturated fatty acids myristic, palmitic and lauric as well as the damage to the bacterial cell wall. So the photodynamic inactivation of bacteria method can selectively kill the bacteria

Pendayagunaan Instrumen PDI-LED Untuk Optimasi Photodinamik Inaktivasi Bakteri *Vibrio cholerae* Dengan Eksogen 5-Aminolevulinic Acid

(Suryani Dyah Astuti, Agus Supriyanto, Kuwat Triyana, 2012, 35 halaman)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyinaran LED biru 430 nm pada berbagai daya PWM dengan durasi waktu penyinaran 40 menit pada bentuk fisis sel, profil pita protein dan profil lipid membran bakteri *Vibrio cholerae*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris, disusun menggunakan ancangan acak lengkap dengan variabel bebas adalah penyinaran LED biru pada berbagai daya PWM (0%, 25%, 50%, 100%) dengan durasi waktu penyinaran 40 menit. Uji fisis sel bakteri dengan menggunakan SEM, uji profil protein bakteri dengan SDS-Page dan uji asam lemak jenuh bakteri dengan GC. Analisis data menggunakan uji anova satu arah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyinaran LED biru 430 nm daya PWM 75% durasi waktu 40 menit menyebabkan perubahan pada pita protein 72 kDa, 68 kDa dan 35 kDa dan penurunan kuantitas asam lemak jenuh miristat, palmitat serta adanya kerusakan pada dinding sel bakteri. Jadi metode fotodinamik inaktivasi bakteri (PDI) dapat membunuh bakteri secara selektif.

Kata Kunci: Photodinamik inaktivasi, *Vibrio cholerae*, bentuk fisis sel, profil pita protein, profil asam lemak

PDI-LED instrument for the optimization Photodynamic inactivation of the *Vibrio cholerae* bacteria with exogenous photosensitiser 5-aminolevulinic acid

(Suryani Dyah Astuti, Agus Supriyanto, Kuwat Triyana, 2012, 35 pages)

ABSTRACT

This research aimed to determine the effect of blue LED 430 nm exposure on the physical form of the cell, the profile of protein band and the profile of lipid membranes of *Vibrio cholerae* bacteria. This research represent experiment laboratory, prepared using a completely randomized design with the independent variable was blue LED 430 nm illumination at various PWM power (0%, 25%, 50%, 100%) with duration of 40 minutes exposure time. Test of bacterial cells physical form of using SEM, test of bacterial protein band profiles by SDS-Page and test of bacteria saturated fatty acid with GC. Data analysis using one-way anova test. The results showed that irradiating blue LED 430 nm with 75% PWM power and duration 40 minutes causes changes in protein bands 72 kDa, 68 kDa and 35 kDa and a decrease in the quantity of saturated fatty acids myristic, palmitic and lauric as well as the damage to the bacterial cell wall. So the photodynamic inactivation of bacteria method can selectively kill the bacteria.

Key words: photodynamic inactivation, *Vibrio cholera*, bacterial cell physical form, protein band profile, lipid membran profile

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **Pendayagunaan Instrumen PDI-LED Untuk Optimasi Photodinamik Inaktivasi Bakteri *Vibrio cholerae* Dengan Eksogen 5-Aminolevulinic Acid** yang didanai oleh proyek DIKTI ini. Kegiatan penelitian yang telah dilakukan penulis meliputi penelusuran pustaka, persiapan penelitian, pengambilan data, pembahasan dan diskusi serta penulisan laporan hasil penelitian.

Sehubungan dengan terselesaikannya penelitian ini, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Jakarta, atas kesempatan dan dana yang diberikan pada penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
2. Ketua Lembaga Penelitian dan pengabdian Masyarakat Unair, selaku pengelola penelitian.
3. Dekan dan Ketua Jurusan Fisika Fsaintek Unair, yang telah membantu dalam perijinan dan pelaksanaan penelitian ini
4. Kepala Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unibraw yang telah memberikan ijin untuk pelaksanaan penelitian
5. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya penelitian ini.

Semoga amal baik beliau diterima oleh Tuhan Yang Maha Esa.

Penulis mengharapkan, semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi kemajuan pendidikan dan penelitian, khususnya di Universitas Airlangga.

Laporan penelitian ini tidak luput dari berbagai kesalahan dan kekurangan, maka kritik dan saran yang bersifat positif sangat penulis harapkan demi sempurnanya laporan penelitian ini.

Surabaya, Oktober 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
A. LAPORAN HASIL PENELITIAN	
RINGKASAN DAN SUMMARY.....	iii
ABSTRAK.....	v
PRAKATA.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. <i>Photodynamic Therapy</i>	3
2.2. Porfirin dan Eksogen <i>5-aminolevulinic acid</i>	4
2.3. Interaksi Cahaya dengan porfirin.....	6
2.3.1. Proses fotofisika.....	6
2.3.2. Proses fotokimia.....	8
2.3.3. Proses fotobiologi.....	9
2.4. <i>Light Emitting Diode (LED)</i>	11
2.5. <i>Vibrio cholerae</i>	13
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	14
3.1. Tujuan Penelitian.....	14
3.1.1. Tujuan Umum.....	14
3.1.2. Tujuan Khusus.....	14
3.2. Manfaat Penelitian.....	14
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	15
4.1. Bahan dan alat Penelitian.....	15
4.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	15
4.3. Prosedur Kerja.....	16

4.3.1. Analisis Profil Pita Protein Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm dengan <i>Dodecyl Sulphate-Polyacrilamide Gel Elektrophoresis</i> (SDS-PAGE).....	16
4.3.2. Analisis Profil Asam Lemak Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm Dengan <i>Gas Chromatography</i> (GC).....	18
4.3.3. Analisis Fisik Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm dengan <i>Scanning Microscope Electron</i> (SEM).....	20
4.4. Analisis Statistik.....	20
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
5.1. Hasil Penelitian.....	21
5.1.1. Pengukuran Performansi Sumber Cahaya LED	21
5.1.2. Analisis Profil Pita Protein Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm dengan <i>Dodecyl Sulphate-Polyacrilamide Gel Elektrophoresis</i> (SDS-PAGE).....	22
5.3.3. Analisis Profil Asam Lemak Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm Dengan <i>Gas Chromatography</i> (GC).....	23
5.3.4. Analisis Fisik Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm dengan <i>Scanning Microscope Electron</i> (SEM).....	25
5.2. Pembahasan.....	26
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	31
6.1. Kesimpulan.....	31
6.2. Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	36
B. DRAFT ARTIKEL ILMIAH.....	

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
Tabel 5.1. Distribusi rapat daya LED biru 430 nm pada plat holder	21
Tabel 5.1. Persen luas area asam lemak miristat, palmitat dan laurat bakteri <i>Vibrio cholerae</i> pada perbagai kelompok kontrol dan penyinaran LED biru 430 nm.....	24
Tabel 5.1. Hasil uji anova satu arah pada asam lemak jenuh bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> akibat penyinaran LED biru 430 nm.....	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1. Bagan interaksi cahaya dengan jaringan	4
Gambar 2.2.a. Berbagai intermediate dari lintasan biosintesis heme.....	5
2.b. Mekanisme biosintesis porfirin pada bakteri	5
Gambar 2.3. Karakteristik spektrum absorpsi dan fluoresensi porfirin tipe fotosensitiser.....	5
Gambar 2.4. Diagram <i>Jablonski</i> untuk jalur fotofisika	7
Gambar 2.5. Jalur fotokimia	8
Gambar 2.6.a. Sistein dan metionin dioksidasi menjadi sulfoksida.....	10
6.b. Tirosin melalui kopling oksidatif phenol (2,6-di-tert-butylphenol) menjadi quinon hidroperoksida	10
Gambar 2.7. Peroksidasi lipid yang dimediasi oleh radikal	10
Gambar 2.8. Peroksidasi lipid yang dimediasi oleh oksigen singlet.....	11
Gambar 2.9. Lampu LED (a) Struktur LED dan (b) LED pn-junction.....	12
Gambar 2.10. Gambar dan taksonomi bakteri <i>Vibrio cholerae</i>	13
Gambar 5.1. Grafik regresi durasi waktu penyinaran instrumen LED dengan kalibrator .	22
Gambar 5.2. Grafik regresi temperatur penyinaran instrumen LED dengan kalibrator ...	22
Gambar 5.3 Profil pita protein bakteri <i>Vibrio cholerae</i> pada penyinaran LED biru	23
Gambar 5.4. Hasil pemotretan SEM sel bakteri <i>Vibrio cholerae</i> pada kelompok kontrol dan perlakuan penyinaran LED biru 430 nm	25
Gambar 5.5. Proses induksi cahaya pada jaringan.....	26
Gambar 5.6. Dinding bakteri Gram positif dan negatif.....	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran.I Pengukuran spektrum panjang gelombang LED biru.....	36
Lampiran.II. Pengukuran daya penyinaran LED biru.....	37
Lampiran III. Kalibrasi waktu penyinaran.....	41
Lampiran.IV. Kalibrasi temperatur	42
Lampiran V.1. Profil Pita Protein dengan <i>Dodecyl Sulphate-Polyacrilamide Gel</i> <i>Elektrophoresis</i> (SDS-PAGE).....	43
Lampiran V.2. Kurva baku untuk penentuan berat molekul protein.....	44
Lampiran VI. Hasil uji Fisis Sel Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> dengan <i>Scanning Mikroscope</i> <i>Electron</i> (SEM) type JSM T-160 JEOL Scanning Microscope.....	46
Lampiran VII.1. Data Hasil Asam Lemak Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> Pada Penyinaran LED Biru 430 nm Dengan <i>Gas Chromatography</i> (GC).....	47
Lampiran VII.2. Print out uji asam lemak bakteri Dengan <i>Gas Chromatography</i> (GC).	48
Lampiran VII.3. Hasil analisis statistik.....	60
Lampiran VIII. Foto Penelitian.....	65
Lampiran.IX. Personalia tenaga peneliti.....	68

BAB I

PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang

Vibrio cholerae merupakan bakteri gram negative berbentuk batang bengkok, tumbuh dalam media aerob pada suhu optimum pertumbuhan 18-37°C (Jawetz *et al*, 2001). Bakteri ini menyebabkan penyakit kolera baik epidemik maupun pandemik (Levinson & Jawetz, 2001). Penularan penyakit kolera dapat terjadi sangat cepat dan luas melalui air, makanan dan sanitasi yang buruk, sehingga perlu dilakukan pencegahan dan pengendalian penyebaran penyakit kolera melalui perbaikan sanitasi, vaksinasi dan pengendalian populasi bakteri (Amelia, 2006). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dalam waktu lama untuk inaktivasi bakteri menyebabkan resistensi pada bakteri sehingga perlu dicari metode alternatif yang bersifat efektif dan selektif membunuh bakteri *Vibrio cholerae*.

Secara alamiah beberapa bakteri menghasilkan endogen porfirin fotosensitizer sebagai molekul penyerap cahaya. Papageorgiou *et al* (2000) melaporkan bahwa penyinaran cahaya yang memiliki kesesuaian dengan spektrum absorpsi fotosensitizer akan terjadi fotosensitisasi (Grossweiner, 2005), berupa penyerapan cahaya (proses fotofisika) dan aktivasi molekul porfirin fotosensitizer bakteri, diikuti reaksi fotokimia menghasilkan berbagai spesies oksigen reaktif yang menimbulkan fotoinaktivasi bakteri karena kerusakan membran sitoplasmik, berupa kebocoran isi sel atau inaktivasi sistem transport membran dan enzim (Demidova *et al*, 2005).

Produksi porfirin bakteri dapat ditingkatkan dengan pemberian eksogen fotosensitizer *5-aminolevulinic acid (5-ALA)*, yaitu prekursor alami sintesis endogen porfirin dalam hampir semua sel hidup (Dietel *et al*, 2006). Penelitian Ramberg *et al* (2003), Johansen *et al* (2003), dan Ashkenazi *et al* (2003) menunjukkan peningkatan fotoinaktivasi bakteri *Propionibacterium acnes* dengan pemberian eksogen *5-ALA*.

Penelitian sebelumnya telah terwujud instrumen LED untuk inaktivasi bakteri secara *in vitro* yang dilengkapi mikrokontroler tipe AVR 8535 dengan display LCD untuk pengaturan lama waktu penyinaran dan daya PWM (*Pulse with Modulation*) LED, meratakan penyinaran dan mengendalikan suhu ruang tetap konstan. LED adalah semikonduktor kompleks yang dapat mengkonversi energi listrik menjadi cahaya, *long life* dan reabilitas yang tinggi serta dapat dimodulasi dengan kecepatan tinggi (Ross, 1979).

Penelitian Astuti (2009-2011) menunjukkan bahwa penyinaran LED biru ($429,8 \pm 3,7$ nm) berpotensi fotoinaktivasi pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Vibrio cholera*. Penelitian tahun pertama menghasilkan dosis energi penyinaran LED yang optimal untuk fotoinaktivasi bakteri *Vibrio cholera* dengan eksogen fotosensitiser *5-aminolevulinic acid*. Selanjutnya akan dilakukan uji selektivitas fotoinaktivasi bakteri *Vibrio cholera* dengan eksogen *5-ALA*. Dalam penelitian ini akan dilakukan uji selektivitas fotoinaktivasi bakteri melalui uji profil pita protein membran, uji oksidasi lipid bakteri dan uji fisis fotoinaktivasi bakteri.

1.2. Rumusan Masalah

Secara lebih spesifik masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan dalam pertanyaan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh penyinaran LED biru 430 nm pada bentuk fisis sel bakteri *Vibrio cholerae* ?
2. Bagaimana pengaruh penyinaran LED biru 430 nm pada profil pita protein membran bakteri *Vibrio cholerae*?
3. Bagaimana pengaruh penyinaran LED biru 430 nm pada profil lipid membran bakteri *Vibrio cholerae*?

BAB II

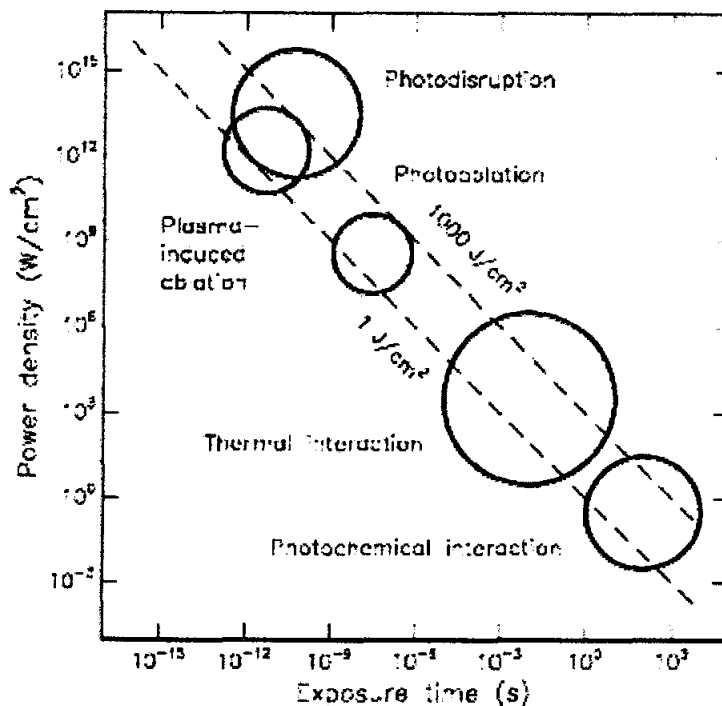
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Photodynamic Therapy (PDT)*

Photodynamic Therapy merupakan suatu metode yang digunakan untuk menghilangkan suatu sel yang berbahaya atau tidak dikehendaki seperti kanker dan penyakit infeksi (Plaetzer *et al.*, 2009). *Photodynamic Inactivation (PDI)* merupakan bagian dari PDT untuk inaktivasi pada mikroba (Hamblin & Hasan, 2003). Kombinasi cahaya dan fotosensitizer tertentu pada PDI akan menyebabkan fotoinaktivasi pada bakteri (Wardle, 2009), yaitu penghambatan aktivitas metabolisme sel karena kerusakan membran sitoplasmik akibat peroksidasi oleh oksigen reaktif (Hamblin & Hasan, 2003).

Mekanisme fotoinaktivasi melibatkan proses fotosensitisasi, yaitu proses penyerapan cahaya oleh molekul yang bersifat fotosensitizer (porfirin) pada bakteri yang selanjutnya mengaktifkan terjadinya reaksi kimia menghasilkan berbagai spesies oksigen reaktif. Fotosensitisasi bergantung pada jenis dan kuantitas dari porfirin yang berperan sebagai molekul penyerap cahaya (Nitzan *et al.*, 2004) dan kesesuaian spektrum cahaya dengan spektrum serap fotosensitizer (Papageorgiou *et al.*, 2000). Pada tingkat molekuler akibat penyinaran diawali oleh peristiwa fotofisika berupa penyerapan cahaya yang selanjutnya mengaktifkan molekul fotosensitizer, diikuti reaksi fotokimia yang menghasilkan berbagai spesies oksigen reaktif (Plaetzer *et al.*, 2009). Oksigen reaktif menyebabkan peroksidasi lipid dan protein mengakibatkan lisis sel atau inaktivasi sistem transport membran dan sistem enzim transport membran pada sel bakteri tersebut (Hamblin & Hasan, 2003).

Pada PDT, cahaya dengan rapat daya dan durasi waktu penyinaran tertentu memegang peran penting pada jenis interaksinya dengan target. Interaksi fotokimia (PDT) terjadi pada rapat daya optik rendah dan reaksi terjadi pada keadaan eksitasi (Niemz, 2007). Berbagai interaksi cahaya dengan target ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Bagan interaksi laser dengan jaringan (Niemz, 2007)

2.2. Porphirin dan Eksogen 5-aminolevulinic acid

Porfirin merupakan senyawa aromatik makrosiklik spesifik (senyawa dengan gabungan cincin aromatik), yang terdiri atas empat cincin *pyrrole* yang terikat pada jembatan metan (=CH-) dan membentuk *coupled system* dari ikatan rangkap (termasuk di dalamnya 18 π elektron yang terlokalisasi (4n + 2, dengan n = 4)) (Makarska and Radzki, 2006). Cincin *pyrrole* membentuk bidang aromatik tertutup, yang berperan sebagai inti dari senyawa porfirin (gambar 2a).

Gambar 2b menunjukkan biosintesis dari porfirin pada bakteri (Hamblin, *et al.*, 2004). (5-ALA) adalah prekursor biosintetik dari semua porfirin alam (Grossweiner, 2005). Sintesis porfirin dimulai dengan pembentukan endogen asam 5-ALA dengan mereaksikan asam amino *glycine* dan *succinyl-CoA* dari lingkaran asam citric. Dua molekul ALA bergabung menjadi *porphobilinogen* (PBG) yang mengandung cincin pyrrole. Empat PBG melalui deamifikasi bergabung menjadi *hydroxymethyl bilane* (HMB), yang selanjutnya dihidrolisis menjadi *circular tetrapyrrole uroporphyrinogen III*. *Coproporphyrin III* C₃₆H₃₈N₄O₈ adalah produk akhir *tetrapyrrole* dari oksidasi spontan jembatan metilena *coproporphynogen*. Modifikasi lebih lanjut menghasilkan *protoporphirin IX* C₃₄H₃₄N₄O₄ (HMD, 2008).

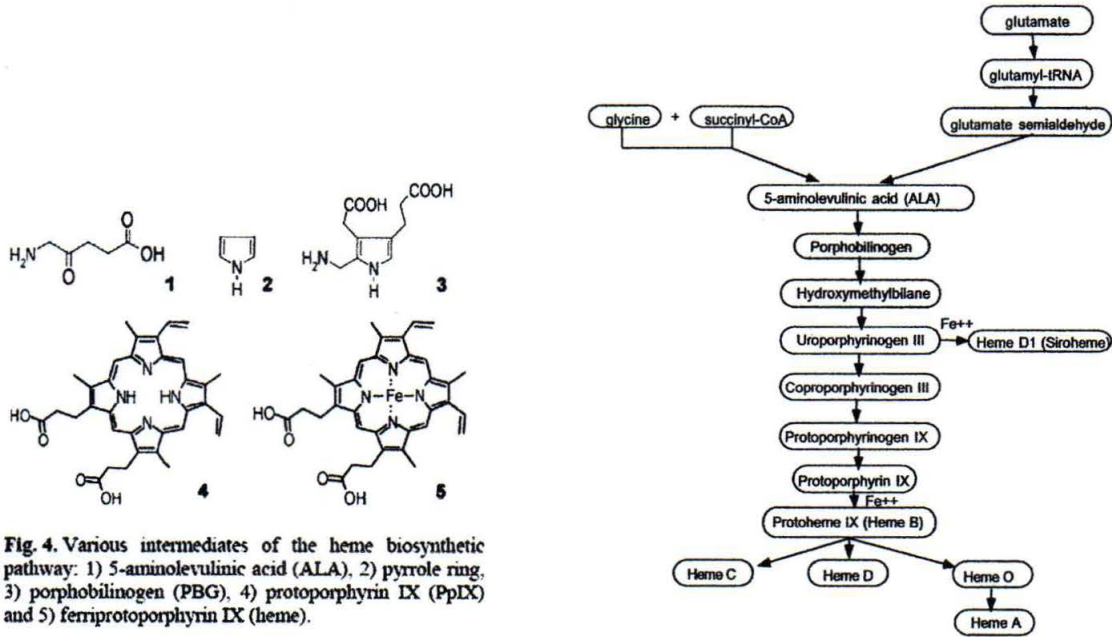
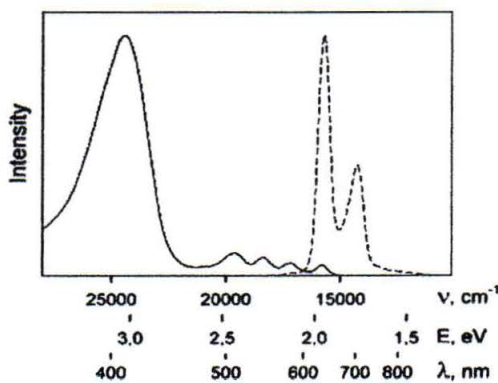


Fig. 4. Various intermediates of the heme biosynthetic pathway: 1) 5-aminolevulinic acid (ALA), 2) pyrrole ring, 3) porphobilinogen (PBG), 4) protoporphyrin IX (PpIX) and 5) ferriprotoporphyrin IX (heme).

Gambar 2.a. Berbagai intermediate dari lintasan biosintesis heme
 2.b. Mekanisme biosintesis porfirin pada bakteri (Hamblin, *et al.*, 2004)

Ada berbagai macam porfirin yang dihasilkan oleh bakteri (Bruce *et al.*, 2009; Wainwright, 2009). Masing-masing bakteri mengakumulasi jenis porfirin tertentu dengan spektrum serap yang bersifat spesifik (Ramberg & Johnsson, 2004). Gambar 2.3 menunjukkan karakteristik spektrum absorpsi dan fluoresensi porfirin tipe fotosensitizer. Pergeseran spektrum panjang gelombang dari spektrum absorpsi ke fluoresensi disebabkan karena adanya mekanisme transisi non radiatif seperti *internal conversion*, *vibrational relaxation* atau *intersystem crossing* dengan melepaskan panas ke lingkungan sehingga terjadi pengurangan energi foton saat terjadi transisi radiatif baik melalui fluoresensi pada eksitasi singlet dan fosforesensi pada eksitasi triplet.



Gambar 2.3. Karakteristik spektrum absorpsi (garis tebal) dan fluoresensi (garis putus-putus) porfirin tipe fotosensitizer (Juzenas, 2002)

2.3. Interaksi Cahaya dengan Porfirin

2.3.1. Proses Fotofisika

Saat penyinaran cahaya, terjadi absorpsi satu foton cahaya oleh molekul porfirin. Peristiwa absorpsi primer berlangsung sangat cepat (berlangsung sekitar 10^{-15} s) diikuti dengan eksitasi molekul pada tingkat energi yang lebih tinggi. Selama transisi elektronik satu dari elektron dieksitasikan dari keadaan dasar dengan energi rendah selanjutnya menempati orbital dengan energi yang lebih tinggi, sehingga elektron memiliki perbedaan energi dari 2 keadaan elektronik molekul absorpsi, yaitu:

$$\Delta E_n = E_n - E_c = N_A h \nu = \frac{N_A h c}{\lambda} \quad (1)$$

Dengan h = konstanta Planck = $6,626 \cdot 10^{-34}$ J.S

ν = frekuensi, c = kecepatan cahaya dalam ruang hampa = $3 \cdot 10^8$ m.s⁻¹

N_A = bil. Avogadro = $6,023 \cdot 10^{23}$ mol⁻¹

Elektron tiap orbital dikarakterisasikan oleh spin yang direpresentasikan oleh satu dari dua nilai diskrit $s=+1/2$ dan $s=-1/2$. Total bilangan kuantum spin dari orbital didefinisikan sebagai jumlah dari spin elektron $S=\sum s_i$ yang mengindikasikan sebagai keadaan elektron. Keadaan elektron kebanyakan molekul organik berada pada keadaan singlet dengan penjumlahan spin $S=1$, semua elektron dalam molekul adalah spin berpasangan. Dalam kuantum, keadaan singlet digambarkan:

$$|s = 0; m = 0\rangle = \frac{1}{\sqrt{2}} (\uparrow\downarrow - \downarrow\uparrow)$$

Keadaan triplet dengan penjumlahan spin $S=1$, keadaan elektron memiliki spin yang tidak berpasangan. Dalam kuantum, keadaan triplet digambarkan:

$$|s = 1, m = 1\rangle = \uparrow\uparrow$$

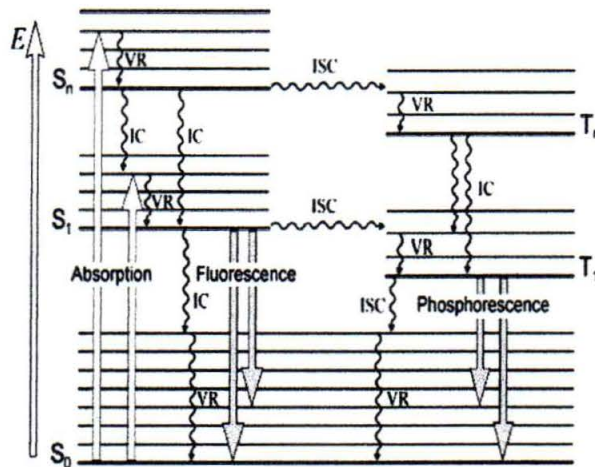
$$|s = 1, m = 0\rangle = \frac{1}{2} (\uparrow\downarrow + \downarrow\uparrow)$$

$$|s = 1, m = -1\rangle = \downarrow\downarrow$$

Absorpsi radiasi oleh molekul akan mengeksitasi molekul tersebut dari level vibrasional dalam keadaan dasar singlet elektronik S_0 ke salah satu level vibrasional dalam keadaan eksitasi elektronik. Eksitasi molekul menuju keadaan energi yang lebih tinggi harus kembali ke keadaan dasar meskipun terlibat pada reaksi kimia atau berubah bentuk. Pada molekul polyatomik (seperti porfirin) ada beberapa jalur bagi molekul tereksitasi untuk mengeluarkan energi eksitasi. Jalur yang berbeda ini dikelompokkan pada proses

fotofisika molekul tereksitasi elektronik, yang dikenal sebagai diagram *Jablonski* (gambar 2.4) (Grossweiner, 2005).

Keadaan dasar molekul (S_0) berada pada energi vibrasi terendah. Keadaan energi yang lebih tinggi S_1, S_2, S_3, \dots muncul akibat absorpsi cahaya. Panjang panah vertikal menunjukkan transisi energi foton. Keadaan vibrasi yang tinggi menunjukkan keadaan molekul yang tidak setara (*equilibrium*) dengan keadaan sekitarnya. Energi vibrasi yang berlebih ditransfer pada medium dalam bentuk panas melalui relaksasi vibrasi (VR) yang ditunjukkan melalui panah berombak. Keadaan vibrasi terendah dari S_1 berada pada keadaan setara termal dengan lingkungan dan bertahan selama 10^{-8} s. Emisi cahaya dari keadaan S_1 (yang ditunjukkan oleh panah menuju bawah) menuju S_0 menunjukkan proses fluoresensi (Grossweiner, 2005).



Gambar 2.4. Diagram *Jablonski* untuk jalur fotofisika. $S_1 \dots S_n$ adalah keadaan singlet; $T_1 \dots T_n$ adalah keadaan triplet; Level vibrasi ditunjukkan oleh garis horizontal tipis; Keadaan energi elektronik ditunjukkan oleh garis horizontal tebal; transisi non radiatif ditunjukkan oleh panah bergelombang, yang terdiri atas *vibrational relaxation* (VR), *internal conversion* (IC), dan *intersystem crossing* (isc) (Juzenas, 2002).

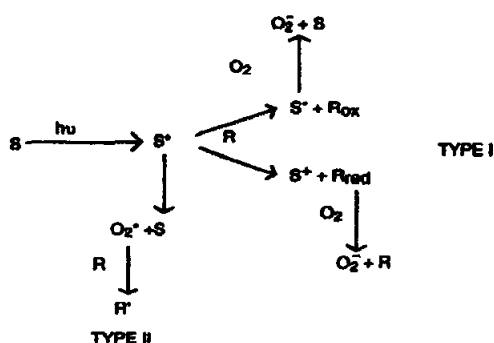
Selain proses fluoresensi, kelebihan energi dikeluarkan dalam bentuk panas dan *radiationless transfer*, yaitu *internal conversion*, transisi menuju tingkat vibrasi yang tinggi pada S_0 dan *intersystem crossing*, yaitu transisi menuju keadaan triplet. Keadaan triplet T_n memiliki energi elektronik yang lebih rendah daripada keadaan singlet eksitasi yang berhubungan S_n . Probabilitas terjadinya *intersystem crossing* meningkat jika level vibrasi dari dua keadaan ini overlap, misalnya level vibrasional singlet terendah dapat overlap dengan satu dari level vibrasional yang lebih tinggi dari keadaan triplet (Juzenas, 2002). Sebuah molekul dalam level vibrasional tinggi dari keadaan eksitasi triplet dapat

kehilangan energi pada saat bertumbukan dengan molekul lain, meninggalkannya pada level vibrasional paling rendah dari keadaan triplet. Kemudian molekul tersebut dapat mengalami *intersystem crossing* kedua pada level vibrasional tinggi dari keadaan dasar elektronik S_0 . Akhirnya molekul kembali ke level vibrasional paling rendah dari keadaan dasar elektronik S_0 oleh relaksasi vibrasi. Karena transisi T_1 menuju S_0 terlarang, maka keadaan triplet memiliki *lifetime* yang lebih lama. Karena memiliki energi yang lebih, maka terjadi reaksi biokimia pada fotosensitizer.

2.3.2. Proses Fotokimia

Fotokimia merupakan perubahan kimia yang disebabkan oleh cahaya (Coyle, 1991), yaitu radiasi elektromagnetik (EM) pada range Ultraviolet (UV) dan visible. Perubahan kimia hanya terjadi jika cahaya diabsorpsi oleh sistem. Perubahan kimia merupakan peristiwa yang muncul pada tingkatan molekuler akibat absorpsi oleh foton, meskipun foton tidak berperan dalam keseluruhan perubahan kimia. Proses fotokimia memiliki kaitan erat dengan proses fotofisika, yang berperan dalam perubahan energi dan struktur elektronik akibat eksitasi molekul setelah peristiwa absorpsi. Mekanisme fotokimia (Gambar 2.5) dibagi menjadi dua (Grossweiner, 2005):

Tipe 1, molekul photosensitif pertama yang tereksitasi bereaksi dengan komponen mayor sistem lain selanjutnya bereaksi dengan molekul oksigen. Fotosensitizer yang tereksitasi S^* mengoksidasi atau mereduksi molekul substrat (R). Substrat tereduksi (R_{red}) dan photosensitizer tereduksi (S^-) dapat berubah menjadi superoksida (O_2^-) melalui reaksi dengan molekul oksigen yang selanjutnya menyebabkan kerusakan biomolekul tetangganya.



Gambar 2.5. Jalur fotokimia. (Grossweiner, 2005)

Tipe 2, fotosensitizer pada keadaan tereksitasi (S^*) mentransfer energi ke molekul oksigen, menjadi oksigen singlet (O^*_2) yang kemudian bereaksi dengan molekul substrat (R), menghasilkan produk R' . Oksigen singlet tereksitasi (O^*_2) dihasilkan dari fotosensitizer dengan energi gap antara keadaan triplet dasar dan eksitasi yang lebih besar daripada energi E_Δ yang diperlukan untuk eksitasi oksigen ke keadaan singlet tereksitasi.

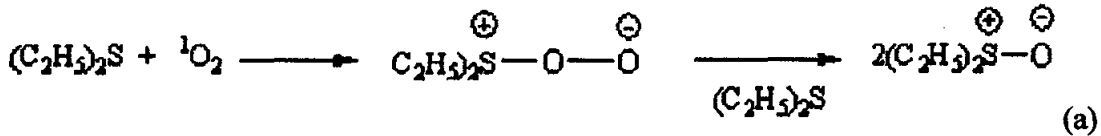
2.3.3. Proses Fotobiologi

Efek cahaya tampak pada organisme telah banyak diinvestigasi pada tingkat kompleksitas yang berbeda-beda. Produk fotokimia berupa *radical oxygen singlet* (ROS) adalah agen pengoksidasi yang dapat secara langsung bereaksi dengan banyak molekul biologi. Residu asam amino dalam protein adalah target yang penting seperti cysteine, methionine, tyrosine, histidine dan tryptophan. Oksigen singlet (1O_2) adalah elektrofilik dan bereaksi dengan molekul yang kaya elektron menyebabkan kerusakan membran akibat peroksidasi membran lipid, mengakibatkan kebocoran isi dan kandungan pada sel serta menginaktivasi sistem transport membran dan enzim-enzim, gangguan sintesis dinding sel dan munculnya struktur multilamellar disisi sekat sel-sel yang membelah, seiring dengan bocornya ion-ion potasium dari dalam sel (Demidova and Hamblin, 2005)

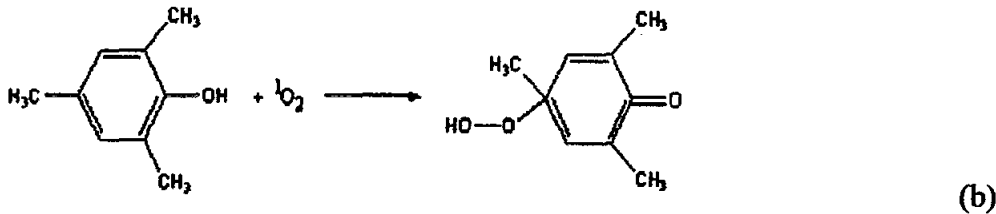
Efek cahaya tampak pada organisme telah banyak diinvestigasi pada tingkat kompleksitas yang berbeda-beda. Berbagai molekul fotosensitif telah dikenal dan banyak di antaranya bereaksi pada sistem biologis yang berbeda-beda, dari biologi molekul *in vitro* hingga organisme keseluruhan (Hamblin & Hasan, 2003) dan hampir semuanya menampakkan kontribusinya dalam menimbulkan perubahan fisiologis pada sistem biologi. Kerusakan yang disebabkan oleh PDI pada paling banyak disebabkan oleh:

1. Kerusakan Protein

Oksigen singlet bersifat elektrofilik dan bereaksi cepat dengan 5 asam amino yaitu triptofan, histidin, tirosin, metionin dan sistein untuk membentuk peroksida. Kecepatan reaksi oksigen singlet dan protein sangat tergantung pada jumlah dan jenis asam amino yang mempunyai ikatan rangkap atau atom sulfur kaya elektron. Triptofan, histidin, tirosin mempunyai ikatan rangkap sedang metionin dan sistein mempunyai atom sulfur dengan 4 elektron tidak berikatan. Asam amino lain bereaksi dengan oksigen singlet dengan kecepatan 2 - 3 kali lebih rendah daripada triptofan, histidin, tirosin, metionin atau sistein (Min & Boff, 2002). Beberapa reaksi 1O_2 dengan protein adalah (Grossweiner, 2005) ditunjukkan pada Gambar 2.6:



Gambar 2.6. a. Sistein dan metionin dioksidasi menjadi sulfoksida (Grossweiner, 2005)

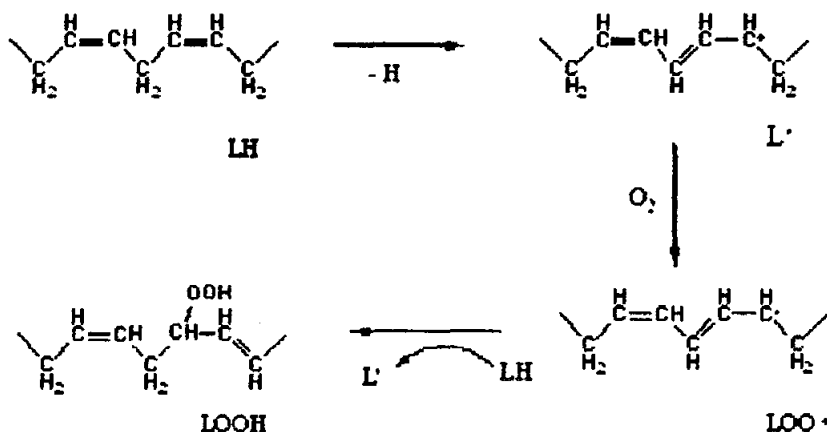


Gambar 2.6.b. Tirosin melalui kopling oksidatif phenol (2,6-di-tert-butylphenol) menjadi quinon hidroperoksida (Grossweiner, 2005)

3. Kerusakan membran

Membran biologi adalah penting untuk kehidupan. Membran mengatur aliran material dan informasi antar sel dan antara sel dengan lingkungannya. Kerusakan pada membran sitoplasma mengakibatkan lisis sel dan menginaktivasi sistem transport membran dan sistem enzim transport membran (Valduga *et al.*, 1999) dan Bertoloni *et al.*, 1990), menyebabkan gangguan sintesis dinding sel dan munculnya struktur multilamellar disisi sekat sel-sel yang membelah seiring dengan bocornya ion-ion kalium dari dalam sel (Demidova & Hamblin, 2005).

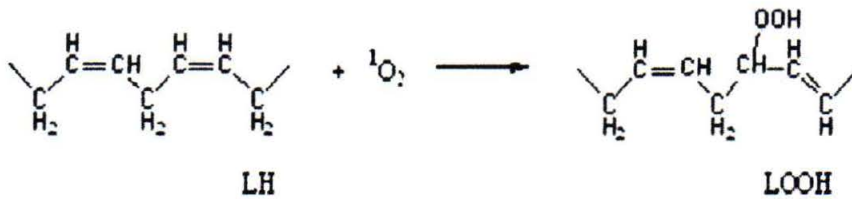
Asam lemak adalah bentuk paling sederhana dari lipid yang berisi grup *carboxylate* yang berhimpitan pada rantai hidrokarbon panjang. Peroksidasi lipid yang dimediasi oleh ROS (reaksi fotokimia tipe I) ditunjukkan oleh Gambar 2.7..



Gambar 2.7. Peroksidasi lipid yang dimediasi oleh radikal (Grossweiner, 2005)

Fotooksidasi dari kelompok *phospholipid linoleoyl* (LH) dimulai dengan reaksi fotosensitiser tereksitasi triplet dengan lipid yang selanjutnya menempatkan lipid pada keadaan tereksitasi triplet (L^*). Reaksi oksidasi lipid dengan oksigen menghasilkan radikal *peroxyl* (LOO^*) yang dapat menginisiasi penambahan oksidasi melalui serangkaian reaksi yang menghasilkan hidropiroksida lipid (LOOH) (Grossweiner, 2005)

Mediasi peroksidasi lipid oleh oksigen singlet 1O_2 ditunjukkan oleh Gambar 2.8. Lipid (LH) langsung bereaksi dengan oksigen singlet menghasilkan hidropiroksida lipid (LOOH). Oksigen singlet 1O_2 teridentifikasi berpengaruh pada membran plasma dan membran intraselular, terutama pada fosfolipid, kolesterol dan membran protein.

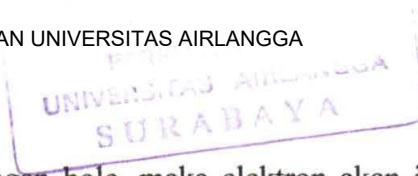


Gambar 2.8. Peroksidasi lipid yang dimediasi oleh oksigen singlet (Grossweiner, 2005)

2.4. LED (*Light-emitting diode*)

Light Emitting Diode (LED), adalah suatu piranti semikonduktor berupa diode semikonduktor yang mengemisikan spektrum cahaya dari fenomena *electroluminescence* (emisi radiasi optikal sebagai hasil eksitasi oleh medan listrik atau arus listrik) (Ross, 1979), LED dapat mengkonversi energi listrik menjadi energi cahaya karena sifat konduktivitas pada material semikonduktornya dan beroperasi pada tegangan yang relatif rendah antara 1 - 4 V, serta arus antara 10 - 40 mA (Schubert, 2006). LED terdiri dari chip LED berupa dioda, kawat LED sebagai terminal dan lensa penyebar yang melingkupinya (Gambar 2.9a). Chip LED berupa bahan semikonduktor yang disisipi dengan ketidakmurnian untuk menciptakan sebuah struktur yang disebut p-n junction. Daerah p didominasi muatan listrik positif dan daerah n didominasi muatan listrik negatif. *Junction* bertindak sebagai sekat antara daerah p dan daerah n (Gambar 2.9b).

Ketika suatu tegangan yang cukup diberikan, maka arus mulai mengalir, elektron dalam daerah n mempunyai cukup energi untuk berpindah melewati *junction* ke dalam daerah p. Sekali berada pada daerah p elektron segera tertarik pada muatan positif menurut gaya tarik Coulomb antara dua muatan listrik yang berbeda. Ketika suatu elektron bergerak cukup dekat dengan suatu muatan positif pada daerah p, dua muatan tersebut

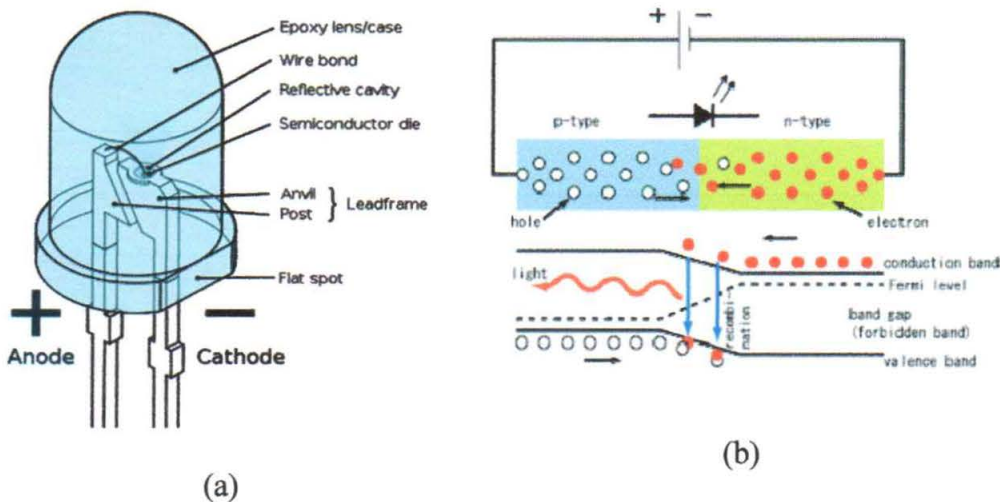


berekombinasi. Saat elektron bertemu dengan hole, maka elektron akan jatuh ke tingkat energi yang lebih rendah, dan melepas energi dalam bentuk foton (Sze, 1985).

Energi listrik pembangkit LED bergantung pada besarnya tegangan yang diberikan karena tegangan listrik (V) merupakan sumber energi yang menyebabkan elektron dapat melewati sambungan p-n. Sehingga energi bandgap dari LED dipengaruhi oleh banyaknya muatan listrik (q) dari bahan semikonduktor yang digunakan dan tegangan listrik yang diberikan (V) yaitu:

$$E = qV \quad (2)$$

dengan $q = -1.6 \times 10^{-19}$ *Coulomb*. Panjang gelombang dan warna dari cahaya yang dipancarkan, tergantung dari energi bandgap dari bahan yang membentuk p-n junction (Krane, 1992). Sebuah dioda normal, biasanya terbuat dari silikon atau germanium, memancarkan cahaya tampak dekat-inframerah, tetapi bahan yang digunakan untuk sebuah LED memiliki energi bandgap antara cahaya dekat-inframerah, tampak, dan dekat-ultraungu.



Gambar 2.9 Lampu LED (a) Struktur LED dan (b) LED pn-junction
(<http://www.wikipedia.com/LED>)

Energi foton cahaya yang dipancarkan sebanding dengan energi bandgap dari bahan yang membentuk p-n junction. Besarnya energi foton adalah :

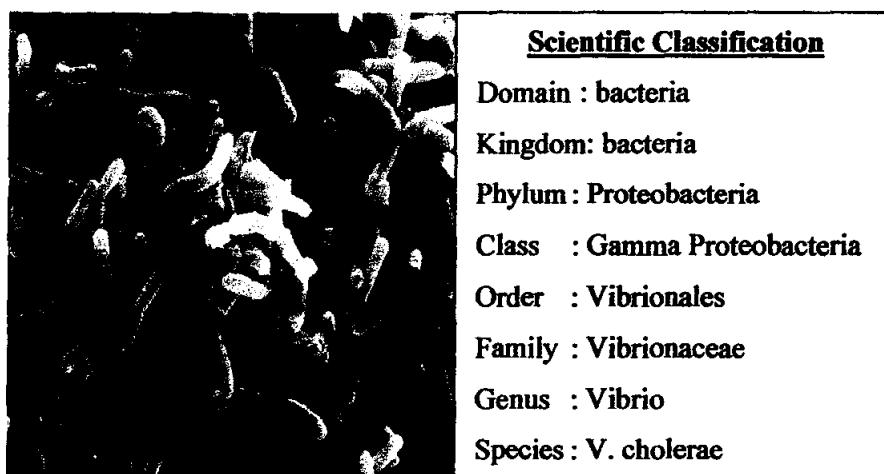
$$E = h \frac{c}{\lambda} = hv \quad (3)$$

Sehingga frekuensi cahaya yang dihasilkan oleh LED dapat ditentukan sebagai berikut: $v = \frac{c}{\lambda}$ dengan c adalah kecepatan cahaya ($3 \times 10^8 \text{ m/s}$) dan λ adalah panjang

gelombang cahaya yang dihasilkan oleh LED yang dapat diukur dengan spektrometer (orde nm atau 10^{-9} m).

2.5. *Vibrio cholerae*

Vibrio cholerae merupakan bakteri gram negatif, fakultatif anaerob, berbentuk batang bengkok seperti koma dengan ukuran 2-4 μ m jika dilihat dengan mikroskop (gambar 2.10), tidak membentuk spora, meragi sukrosa, manosa dan nitrit, menghasilkan cholera toxin (Ryan, 2004) yaitu enterotoxin yang beraksi pada epithelium mukosa masuk ke dalam usus halus menyebabkan meningkatnya sekresi cairan dan elektrolit sehingga menimbulkan diare masif, dehidrasi, syok, gangguan elektrolit dan kematian. Pada kultur dijumpai koloni cembung (convex), halus dan bulat keruh (opaque) dan bergranul jika disinari (Jawetz, 2001).



Gambar 2.10. Gambar dan taksonomi bakteri *Vibrio cholerae* (Ryan, 2004)

Bakteri ini dapat bergerak sangat aktif karena mempunyai flagella polar yang halus (monotrikih). Suhu optimum pertumbuhan bakteri 18-37°C pH 7.0, meskipun dapat tumbuh pada pH yang sangat tinggi (8.5 – 9.5) dan tumbuh baik pada agar thiosulfate citrate bile sucrose (TCBS) menghasilkan koloni berwarna kuning.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN TAHUN KE-2 (2012)

3.1. Tujuan Penelitian

3.1.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan prototipe instrumen LED yang efektif dan selektif untuk photoinaktivasi pada bakteri patogen

3.1.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh penyinaran LED biru 430 nm pada bentuk fisis sel bakteri *Vibrio cholerae*
2. Mengetahui pengaruh penyinaran LED biru 430 nm pada profil pita protein membran bakteri *Vibrio cholerae*
3. Mengetahui pengaruh penyinaran LED biru 430 nm pada profil lipid membran bakteri *Vibrio cholerae*

3.2. Manfaat Penelitian

- Dari sisi teori, pengembangan ilmu

Mendapatkan metode inaktivasi yang bersifat spesifik pada mikroba secara *in vitro*

- Dari sisi praktis

Melengkapi kemanfaatan penemuan ilmiah ilmu biofisika untuk dapat dimanfaatkan secara aplikatif di bidang medis.

BAB IV

METODE PENELITIAN

Berdasarkan hasil uji efektivitas penyinaran LED diperoleh data mengenai dosis energi penyinaran LED biru dan kuantitas eksogen *5-Aminolevulinic acid* (5-ALA) yang efektif menyebabkan fotoinaktivasi pada bakteri *Vibrio cholerae*. Untuk mengetahui selektivitas fotoinaktivasi bakteri maka dilakukan uji fisis bentuk sel bakteri, uji profil pita protein membran dan uji profil asam lemak sel bakteri setelah dilakukan penyinaran LED biru.

4.1. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur murni bakteri *Vibrio cholerae*, media bakteri berupa Media TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Sucrose*) broth dan agar, *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 6.5, cawan plastik steril diameter 3.5 cm, kapas, aluminium foil, tissue, ose disposable steril, eppendorf, konikel berbagai ukuran. Bahan kimia untuk preparasi asam lemak bakteri yaitu hexane, NaOH, BF₃, NH₄Cl. Standar asam lemak jenuh miristat 510 ppm, palmitat 500 ppm, laurat 503 ppm. Bahan untuk elektroforesis: *Stacking gel*, *separating gel*, *running buffer*, larutan *staining* dan *destaining*.

Peralatan yang diperlukan antara lain untuk kultur, perlakuan dan penghitungan koloni bakteri: neraca analitik Shimadzu, *Autoclave* Ogawa Seiki, Water bath, *Biological safety cabinet* (laminer), spektrofotometer Pharmacia LKB-Novaspech 2 Biotech, Stuart Scientific *Colony counter*, inkubator, cawan petri, *breaker glass*, pipet, tabung reaksi, gelas ukur, bunsen, inkubator dan shaker inkubator, vortek dan seperangkat instrumen sumber cahaya LED untuk penyinaran. Seperangkat peralatan elektroforesis gel poliakrilamid, Seperangkat peralatan SEM tipe JSM T-100 Jeol Scanning Microscope, dan GC tipe Agilent 6890 Plus GC version A.03.08

4. 2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian pengukuran asam lemak dilakukan di laboratorium Analisis Kimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, penelitian uji profil pita protein bakteri dengan elektroforesis dilaksanakan di laboratorium Rekayasa Tumbuhan di Fakultas Saintek

Universitas Airlangga dan penelitian fisik bakteri dengan SEM dilaksanakan di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Keseluruhan penelitian dilaksanakan pada tahun 2012.

4.3. Prosedur Kerja

Langkah pertama adalah menyiapkan media *Nutrient Broth* steril, mengambil isolat dari agar miring dengan ose steril, dimasukkan pada 500 ml media *Nutrient Broth* steril dan dihomogenkan dengan pemvortekan sampai diperoleh $OD_{660} = 0,20-0,25$ serta diinkubasi pada shaker inkubator temperatur 37°C sampai di peroleh $OD_{660} = 0,46$. Suspensi bakteri dibagi dalam 5 bagian masing-masing 50 ml. Prosedur penelitian yang dilakukan pada tiap bagian adalah sebagai berikut:

4.3.1. Analisis Profil Pita Protein Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm dengan *Dodecyl Sulphate-Polyacrilamide Gel Elektrophoresis* (SDS-PAGE)

Analisis profil pita protein bakteri menggunakan SDS-PAGE, yaitu salah satu metode karakterisasi protein berdasarkan berat molekulnya. Elektrofosis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik, dengan kecepatan gerak bergantung pada bentuk dan ukuran molekul. Dengan demikian elektrofosis dapat digunakan untuk separasi makro molekul seperti protein dan asam nukleat (Rosenberg, 1996). Tahapan penelitian ini sebagai berikut:

1. Preparasi protein menggunakan metode Pourkomainlin (1998):
 - a. 50 ml suspensi bakteri $OD_{660\text{nm}} = 0.46$. Selanjutnya dilakukan penyinaran dengan LED biru 430 nm pada berbagai daya PWM dengan durasi waktu 40 menit. 50 ml kultur yang lain digunakan sebagai kontrol
 - b. Pemanenan bakteri dilakukan dengan sentrifugasi 4°C pada putaran 10.000 rpm selama 1 menit.
 - c. Sel dicuci dengan 50 ml dari 20 mmol/l Tris HCl pH 7.1, pelet diresuspensi dengan 6 ml dari 20 mmol/l Tris HCl EDTA (0.372%) pH 7.1
 - d. Pemecahan sel bakteri dilakukan menggunakan teknik sonikasi 7 x 25 detik dengan 45 detik istirahat.
 - e. Sentrifugasi pada temperatur 4°C putaran 18000 rpm selama 30 menit. Pelet yang merupakan membran protein diambil, supernatan disimpan pada temperatur -20°C .

- f. Pengukuran konsentrasi protein dengan metode Biuret (Skogg, 2004). Masing-masing sampel dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan 3 ml pereaksi Biuret (Pereaksi Biuret: *Copper sulfate pentahydrate* sebanyak 3 g dan *sodium-potasium tartrate* sebanyak 9 g dilarutkan dalam 500 ml 0.2 NaOH yang mengandung 5 g *potassium iodide*, setelah larut ditambah aquades sampai volume 1000 ml). Sampel protein 1000 μ l (10 μ l sampel dilarutkan dalam 990 μ l NaCl 0,9 %) dimasukkan dalam tabung reaksi. Untuk blanko diisi dengan 1000 μ l NaCl 0,9 %. Setelah pemvortekan, diinkubasi dengan temperatur kamar selama 30 menit dan diukur nilai absorbansinya dengan spektroskopi UV-Vis pada $\lambda = 500$ nm. Berdasarkan nilai absorbansi dapat dihitung kadar protein masing-masing sampel dengan bantuan persamaan garis linier dari kurva standar kadar protein.
2. Tahapan elektroforesis (Rosenberg, 1996) adalah sebagai berikut:
- Persiapan sampel. Sampel protein ditambah dengan sampel buffer dengan perbandingan 1:1 dalam tabung eppendorf, dan dipanaskan pada 100°C selama 5 menit, dan dibiarkan dingin.
 - Persiapan *separating* dan *stacking gel* (Bollag, 1991). Langkah pertama adalah merangkai 2 plat kaca berjarak kurang lebih 1 mm. Pembuatan *separating gel* 12,5 % (3,125 ml stok poli akrilamid dan 2,75 ml 1M Tris pH 8,8 dalam kondisi tabung ditutup dan digoyang. Aquabides 1,505 ml, 75 μ l SDS 10%, 75 μ l APS 10%, 6,25 μ l TEMED) dimasukkan dengan cara yang sama. Larutan dituang dalam plate pembentuk gel menggunakan mikropipet 1 ml sampai batas plate, dipasang sisir untuk membuat sumuran dalam *stacking gel* dan ditambah aquades di atas larutan gel dalam plate agar permukaan gel tidak bergelombang. Gel dibiarkan memadat selama kurang lebih 30 menit, air yang menutup *separating* dibuang. Membuat *stacking gel* 3% (30% akrilamid-bis 0,45 ml, 1 M Tris pH 6.8 0,38 ml, aquabides 2,11 ml, 10% SDS 30 μ l, TEMED 5 μ l dan 10% APS 30 μ l) dengan cara yang sama dengan pembuatan *separating gel*.
 - Memasukkan sampel pada sumur gel. Plate yang telah berisi gel dimasukkan dalam chamber elektroforesis. *Running buffer* dituang sampai semua bagian gel terendam.
 - Running*. Perangkat elektroforesis dihubungkan dengan power supply. Anoda dihubungkan dengan reservoir atas (*upper reservoir*) dan katoda dihubungkan dengan reservoir bawah (*lower reservoir*). *Running* dilakukan dengan arus konstan

20 mA, 150 Volt selama kurang lebih 40-50 menit atau telah sampai $\pm 0,5$ cm dari dasar gel. Setelah selesai *running buffer* dituang dan gel diambil dari *plate*.

3. Tahap pewarnaan gel. Pewarnaan dapat dilakukan dengan menggunakan *Comassie blue* yang dapat mendeteksi 1-10 μg protein dalam satu band, sedang untuk mendeteksi protein dengan kadar yang sangat kecil (10-100 ng) menggunakan pewarnaan perak nitrat yang 100 kali lebih peka. Untuk tahap ini diperlukan larutan *staining* untuk mewarnai protein pada gel dan larutan *destaining* untuk menghilangkan warna pada gel dan memperjelas band protein yang terbentuk. Pewarnaan dengan *Coomassie brilliant blue* (CBB):
 - a. mempersiapkan larutan *staining* (*Coomassie Blue* R-250 1 g, methanol 450 ml, aquades 450 ml, asam asetat glasial 100 ml) dan larutan *destaining* (methanol 100 ml, asam asetat glasial 100 ml dan aquades 800 ml).
 - b. Gel direndam dalam 20 ml larutan *staining* sambil digoyang dalam shaker putaran lambat selama kurang lebih 15 menit dan larutan *staining* diambil.
 - c. Setelah dicuci berulang kali dengan air, gel direndam dalam 50 ml larutan *destaining* sambil digoyang dengan shaker putaran lambat selama kurang lebih 30 menit atau sampai pita-pita protein dengan berat molekul yang berbeda-beda terlihat jelas.
4. Penentuan berat molekul protein. Berat molekul protein dapat ditentukan dengan mengukur mobilitas protein dalam gel poli akrilamid, berdasarkan kurva standar berat molekul dari protein standar (marker). Prosedur penentuan berat molekul adalah:
 - a. *Mobilitas rate* (M_r atau R_f) diukur dengan menggunakan persamaan: $R_f = \text{jarak pergerakan pita protein dari tempat awal} / \text{jarak pergerakan warna pelacak dari tempat awal}$. Protein dengan berat molekul tertentu memiliki R_f tertentu.
 - b. Nilai R_f dimasukkan sebagai sumbu x dalam persamaan garis linier $y = a + bx$, dengan sumbu y adalah berat molekul standar, sehingga diperoleh kurva standar mobilitas relatif (R_f) terhadap berat molekul protein marker.
 - c. Berat molekul protein dapat diketahui dengan mengplotkan secara langsung pada kurva standar berat molekul. Dengan membandingkan profil pita protein kelompok perlakuan dengan kontrol dapat diketahui protein dengan berat molekul tertentu yang terdegradasi akibat penyinaran LED biru (430 ± 4) nm.

4.3.2. Analisis Profil Asam Lemak Bakteri *Vibrio cholerae* Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm Dengan *Gas Chromatography* (GC)

Pada penelitian ini analisis profil asam lemak jenuh bakteri menggunakan kromatografi gas (*Gas Chromatography*) Agilent 6890 Plus GC Version A.0308 dengan metode *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME-ULP), pelarut hexane dan tiga standar asam lemak jenuh yaitu miristat 510 ppm, palmitat 500 ppm dan laurat 503 ppm. Tiga standar asam lemak jenuh masing-masing diambil 2 ml dan dipekatan dengan dialiri gas N₂ untuk meningkatkan konsentrasi asam lemak. Tahapan preparasi sampel adalah sebagai berikut (White & Frerman, 1967):

1. 4 kultur bakteri masing-masing 50 ml disinari dengan LED biru 430 nm pada berbagai daya PWM dengan waktu penyinaran 40 menit. 50 ml kultur digunakan sebagai kontrol. Setelah penyinaran, dilakukan sentrifugasi dingin untuk mendapatkan pelet bakteri.
3. Pelet ditimbang untuk mendapatkan berat sampel yang sama.
4. Sampel dan standar diresuspensi dan divortek dengan penambahan 1.5 ml NaOH 0,5 dan dipanaskan dalam water bath suhu 90° selama 10 menit dan didinginkan.
5. Penambahan 2 ml BF₃ dalam methanol dan dipanaskan dalam water bath suhu 80-90°C selama 10 menit dan didinginkan.
6. Sampel dan standar diekstraksi dengan 1 ml hexane dan disentrifugasi, fase hexane diambil.
7. Fase hexane dicuci dengan 2 ml NH₄Cl, disentrifugasi 5000 rpm selama 5 menit, fase hexane diambil.
8. Membuat larutan standar campuran dari 500 µl masing-masing larutan standar sehingga jumlah volum 1500 µl. Selanjutnya dilakukan pemekatan dengan dialiri N₂ sampai volum 500 µl.
9. Membuat larutan standar dengan 300 µl hexane dan 10 µl larutan standar
10. Kontrol dibuat dari 300 µl larutan kontrol (tanpa perlakuan penyinaran) dicampurkan dengan 10 µl larutan standar.
11. Sampel dibuat dari 300 µl larutan sampel (setelah dilakukan penyinaran LED biru dosis optimal) dicampurkan dengan 10 µl larutan standar
12. Sampel dan standar siap *dirunning* dengan GC.

4.3.3. Analisis Fisik Bakteri *Vibrio cholerae* Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm dengan *Scanning Microscope Electron* (SEM)

Kultur bakteri yang telah disinari dengan LED biru dosis optimal dan kontrol tanpa penyinaran selanjutnya discan dengan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscop*) tipe JSM T-160 Jeol Scanning Microscope. Sebelum dilakukan *scanning* dengan SEM, terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel bakteri sebagai berikut:

1. Pelet bakteri baik kelompok kontrol maupun perlakuan dimasukkan dalam larutan fiksasi *glutaraldehyde* 2% selama 2-3 jam, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan rendah 15 menit suhu 4°C.
2. Bakteri dicuci dengan larutan buffer fosfat pH 7,4 selama 5 menit dan diulang 3 kali dan selanjutnya di sentrifugasi kecepatan rendah selama 15 menit 4°C.
3. Fiksasi dengan larutan *osmic acid* 1% selama 1-2 jam dan disentrifugasi dengan kecepatan rendah selama 15 menit suhu 4°C.
4. Pencucian dengan larutan *phosphate* pH 7,4 selama 5 menit 3 kali.
5. Dehidrasi dengan alkohol bertingkat 30%, 50% dan 70% masing-masing selama 15-20 menit. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan rendah selama 15 menit suhu 4°C.
6. Dehidrasi dengan alkohol 80%, 90% dan larutan absolut 2 kali selama 15 menit, disentrifugasi dengan kecepatan rendah selama 15 menit suhu ruang.
7. Pengawetan dengan *amyl acetate absolut* sambil menunggu pengeringan
8. Bakteri dipipet dengan pipet Pasteur dan ditetaskan pada obyek gelas dengan luas 16 mm² yang telah dibersihkan dengan alkohol.
9. Pengeringan sampel dengan *Critical Point Drying* (CPD).
10. Penempelan sampel pada stub (holder) dengan menggunakan lem khusus
11. Pelapisan dengan emas murni atau karbon menggunakan vacuum evaporator.
12. Pemotretan dengan SEM pada perbesaran yang dipilih.

4.4. Analisis Statistik

Analisis data penelitian menggunakan analisis statistik SPSS (*Statistical Package For Social Science*) 13.0 for window. Adapun uji statistik yang digunakan adalah uji one way anova, untuk mengetahui pengaruh penyinaran sumber cahaya LED biru 430 nm pada asam lemak jenuh bakteri.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Pengukuran Performansi Instrumen Sumber Cahaya LED

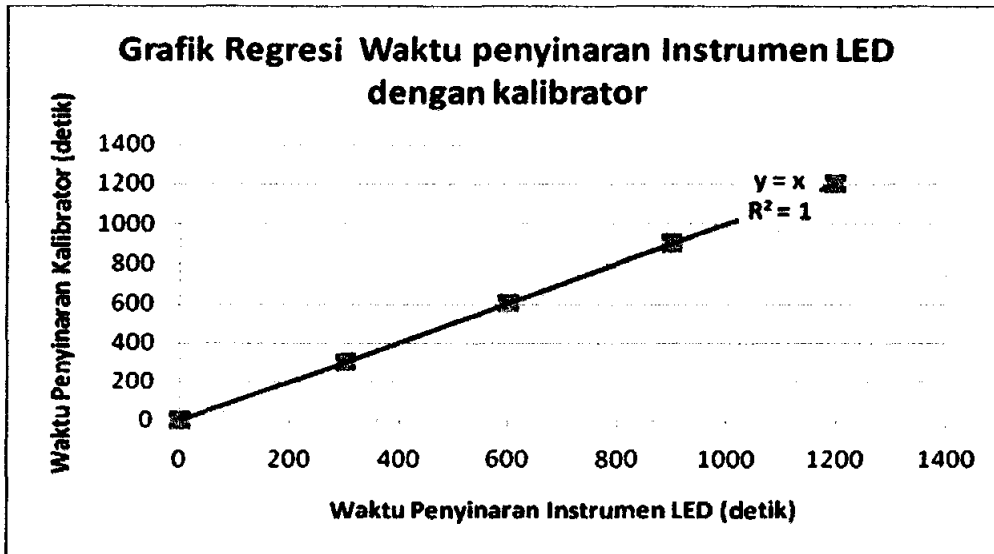
Instrumen LED untuk penyinaran hasil rakitan dilengkapi dengan rangkaian sumber cahaya LED biru dan merah *super bright* produk lokal dengan spesifikasi arus 15 mA, tegangan tiap LED 5 V dan hambatan 330Ω. Rangkaian LED berdimensi 15 x 15 cm yang terdiri dari 20 x 18 LED, dengan puncak emisi 430 nm dan (629 ± 6) nm dengan bandwidth 65 nm dan 30 nm diukur menggunakan Wavelength Meter SR 530 Stanford Research System Inc, kalibrator He-Ne laser 543 nm Newport 811. Hasil pengukuran performansi dan kalibrasi sumber cahaya LED terdapat pada lampiran 1-4.

Rapat daya penyinaran LED diukur dengan alat ukur Silicon detector 818 SL Newport SN 5592 range panjang gelombang 400-1100 nm dengan kalibrator He-Ne laser 543 nm Newport 811 pada berbagai *Pulse Width Modulation* (PWM) sebanyak 100 kali pengukuran dengan jarak pengukuran 2, 3, 4 dan 5 cm dari sumber cahaya LED. Hasil pengukuran daya penyinaran instrumen sumber cahaya LED pada berbagai *Pulse Width Modulation* (PWM) dan jarak penyinaran ditunjukkan oleh Tabel 5.1 di bawah.

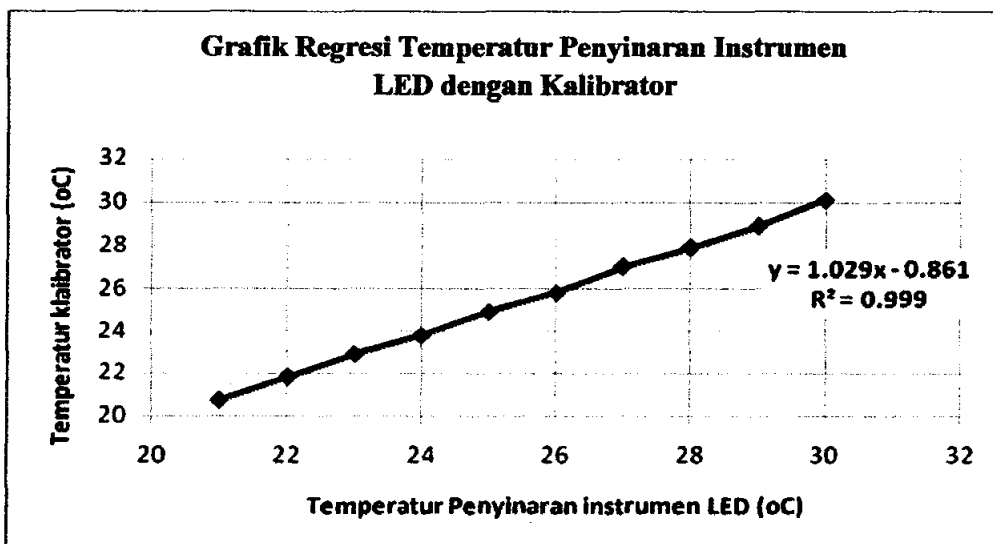
Tabel 5.1. Distribusi rapat daya LED biru 430 nm pada plat holder

Jarak Penyinaran	Rapat daya rata-rata (mW/cm ²)							
	PWM 25%	% error	PWM 50%	% error	PWM 75%	% error	PWM 100%	% error
5 cm	28,04 ± 0,49	1,75	56,00 ± 0,59	1,00	75,07 ± 0,68	0,91	96,00 ± 0,72	0,75
4 cm	28,15 ± 0,48	1,71	56,04 ± 0,55	0,98	75,12 ± 0,62	0,83	96,01 ± 0,67	0,70
3 cm	28,25 ± 0,47	1,67	56,06 ± 0,50	0,89	75,23 ± 0,58	0,77	96,02 ± 0,61	0,64
2 cm	28,39 ± 0,47	1,66	56,12 ± 0,49	0,87	75,27 ± 0,57	0,76	96,06 ± 0,58	0,60
Rerata		1,70		0,94		0,82		0,67

Data hasil pengukuran durasi waktu penyinaran LED dengan data waktu kalibrator Stopwatch Digital Enko Sport Timer pada lampiran 3 selanjutnya dibuat grafik regresi yang ditunjukkan oleh Gambar 5.1. Sedangkan data hasil pengukuran temperatur penyinaran LED dengan data temperatur kalibrator termometer digital *Atech Thermo L87AD* pada lampiran 4 selanjutnya dibuat grafik regresi (Gambar 5.2).



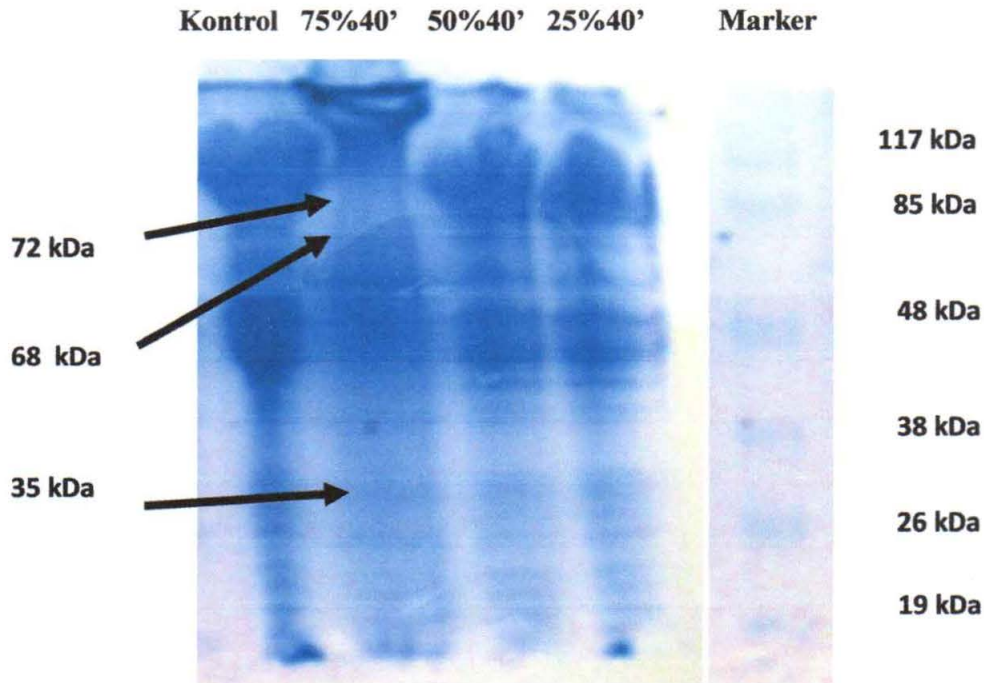
Gambar 5.1. Grafik regresi durasi waktu penyinaran instrumen LED dengan kalibrator



Gambar 5.2. Grafik regresi temperatur penyinaran instrumen LED dengan kalibrator

5.1.2. Analisis Profil Pita Protein Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm dengan *Dodecyl Sulphate-Polyacrilamide Gel Elektrophoresis* (SDS-PAGE)

Metode SDS-Page adalah salah satu metode karakterisasi protein berdasarkan berat molekulnya. Pada penelitian ini digunakan akrilamid 15% untuk melihat fraksi protein dengan BM 10-95 kDa. Sedangkan untuk pembuatan kurva linear antara log BM dan Rf digunakan protein standar pada BM 95-11 kDa. Penghitungan log berat molekul (BM), jarak migrasi dan relative of mobility (Rf) dari protein standar terdapat pada lampiran 5. Hasil penelitian profil pita protein untuk protein marker, kelompok kontrol dan perlakuan ditunjukkan pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3. Profil pita protein bakteri *Vibrio cholerae* pada penyinaran LED biru 430 nm

5.1.3. Analisis Profil Asam Lemak Bakteri *Vibrio cholerae* Pada Penyinaran LED Biru 430 nm Dengan *Gas Chromatography* (GC)

Pada penelitian ini digunakan uji kromatografi gas dengan *Gas Chromatography* merk Agilent 6890 Plus GC Version A.0308 dengan metode *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME-ULP), pelarut hexane dan tiga standar asam lemak jenuh yaitu Miristat 510 ppm, Palmitat 500 ppm dan Laurat 503 ppm. Hasil print out data asam lemak bakteri *Vibrio cholerae* ditunjukkan pada lampiran 6. Data % luas area ditunjukkan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Persen luas area asam lemak miristat, palmitat dan laurat bakteri *Vibrio cholerae* pada berbagai kelompok kontrol dan penyinaran LED biru 430 nm

Nama sampel	% Luas Area		
	Miristat	Palmitat	Laurat
kontrol 1	100,2168	105,5582	216,9058
kontrol 2	98,3580	109,2993	219,2891
Mean	99,2874±1,3144	107,4288±2,6454	218,0975±1,6852
SA25%40' 1	92,8533	92,1493	189,4209
SA 25%40' 2	99,4254	96,0851	191,5025
Mean	96,1394±4,6472	94,1172±2,7830	190,4617±1,4719
% Penurunan	2,2556	13,8904	13,1458
SA50%40' 1	24,6747	42,0264	148,7899
SA 50%40' 2	26,8242	40,0667	146,3567
Mean	25,7495±1,5199	41,0466±1,3857	147,5733±1,7205

% Penurunan	73,8206	62,4457	32,7038
SA75%40' 1	11,1787	19,1491	66,3907
SA 75%40' 2	10,8859	21,4707	75,2152
Mean	11,0323±0,2070	20,3099±1,6416	70,8030±6,2399
% Penurunan	88,7835	81,4181	67,7125
SA100%40' 1	58,6421	43,7554	65,6851
SA 100%40' 2	66,8846	58,2056	81,7485
Mean	62,7634±5,8283	50,9805±10,2178	73,7168±11,3585
% Penurunan	36,1888	53,3570	66,3837

Hasil uji statistik asam lemak bakteri *Vibrio cholerae* ditunjukkan pada lampiran 7. Analisis data menggunakan uji anova faktorial, untuk mengetahui pengaruh masing-masing faktor dan interaksi antar faktor. Syarat dari uji anova faktorial adalah data berskala interval dan rasio serta terdistribusi normal. Hasil uji normalitas data *Kolmogorov-Smirnov Test* menunjukkan signifikansi (p) = 0,133 yaitu $> \alpha$ (0.05), yang berarti bahwa data jumlah koloni bakteri pada penyinaran LED biru terdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji one way anova. Kesimpulan hasil uji statistik pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3. Hasil uji anova satu arah pada asam lemak jenuh bakteri *Vibrio cholerae* akibat penyinaran LED biru 430 nm

Faktor	Kelompok	N	Rata-rata	SD	Analisis Statistik	
					Hasil	Kesimpulan
Miristat	Control ^(d)	2	99.2874	1.3144	Tukey F= 269.215 p=0,000	Beda bermakna
	SA25%40 ^(d)	2	96.1394	4.6472		
	SA50%40 ^(b)	2	25.7495	1.5199		
	SA75%40 ^(a)	2	11.0323	.2070		
	SA100%40 ^(c)	2	62.7634	5.8283		
	Total	10	294.9720	1.3098		
Palmitat	Control ^(c)	2	107.4288	2.6454	Tukey F= 108.894 p=0,000	Beda bermakna
	SA25%40 ^(c)	2	94.1172	2.7830		
	SA50%40 ^(b)	2	41.0465	1.3857		
	SA75%40 ^(a)	2	20.3099	1.6416		
	SA100%40 ^(b)	2	50.9805	10.2178		
	Total	10	313.8829	18.6735		
Laurat	Control ^(d)	2	218.0974	1.6853	Tukey F= 254.159 p=0,000	Beda bermakna
	SA25%40 ^(c)	2	190.4617	1.4719		
	SA50%40 ^(b)	2	147.5733	1.7205		
	SA75%40 ^(a)	2	70.8030	6.2399		
	SA100%40 ^(a)	2	73.7168	11.3585		
	Total	10	700.6522	22.4761		

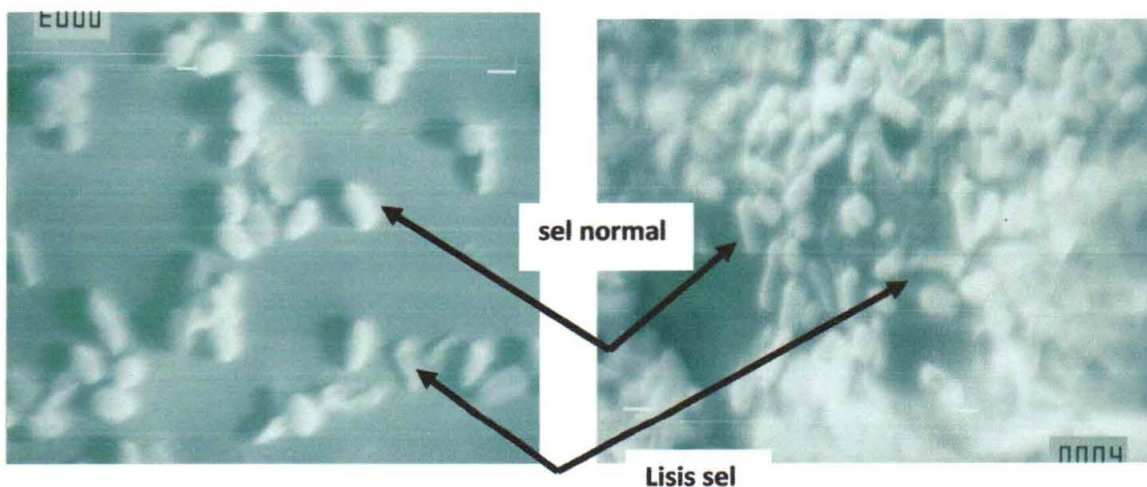
Keterangan : N=jumlah sampel. SD=standar deviasi. *Superscript* yang sama menunjukkan beda tidak bermakna dari hasil uji Tukey

Hasil uji anova satu arah menunjukkan bahwa interaksi antar kelompok perlakuan penyinaran LED biru pada berbagai daya dan lama waktu penyinaran pada asam lemak miristat, palmitat dan laurat memiliki taraf signifikansi $p = 0,000$ yaitu $< 0,05$, yang berarti bahwa terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan dengan penyinaran LED biru (430 ± 4) nm.

Selanjutnya untuk melihat pasangan kelompok perlakuan mana yang berbeda maka digunakan uji perbandingan berganda. Pada SPSS for window menggunakan *Post Hoc Multiple Comparison*. Adapun uji Post Hoc yang digunakan dalam analisis ini adalah uji Tukey. Hasil uji menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dengan variasi daya PWM 75% (75 mW/cm^2) durasi waktu penyinaran 40 menit menghasilkan penurunan kandungan asam miristat 89% dan asam palmitat 81% yang berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan yang lain. Sedangkan pada asam laurat perlakuan penyinaran LED biru pada daya PWM 75% (75 mW/cm^2) dan durasi waktu penyinaran 40 menit menghasilkan penurunan sebesar 68% yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan penyinaran LED biru pada daya PWM 100% (96 mW/cm^2) dan durasi waktu penyinaran 40 menit yang menghasilkan penurunan sebesar 66%.

5.1.3. Analisis Fisik Bakteri *Vibrio cholerae* Setelah Penyinaran LED Biru 430 nm dengan *Scanning Microscope Electron* (SEM)

Mikroskop elektron yang digunakan dalam penelitian ini adalah type JSM T-160 JEOL Scanning Microscope. Adapun hasil scanning untuk kelompok kontrol dan perlakuan ditunjukkan pada Gambar 5.4.

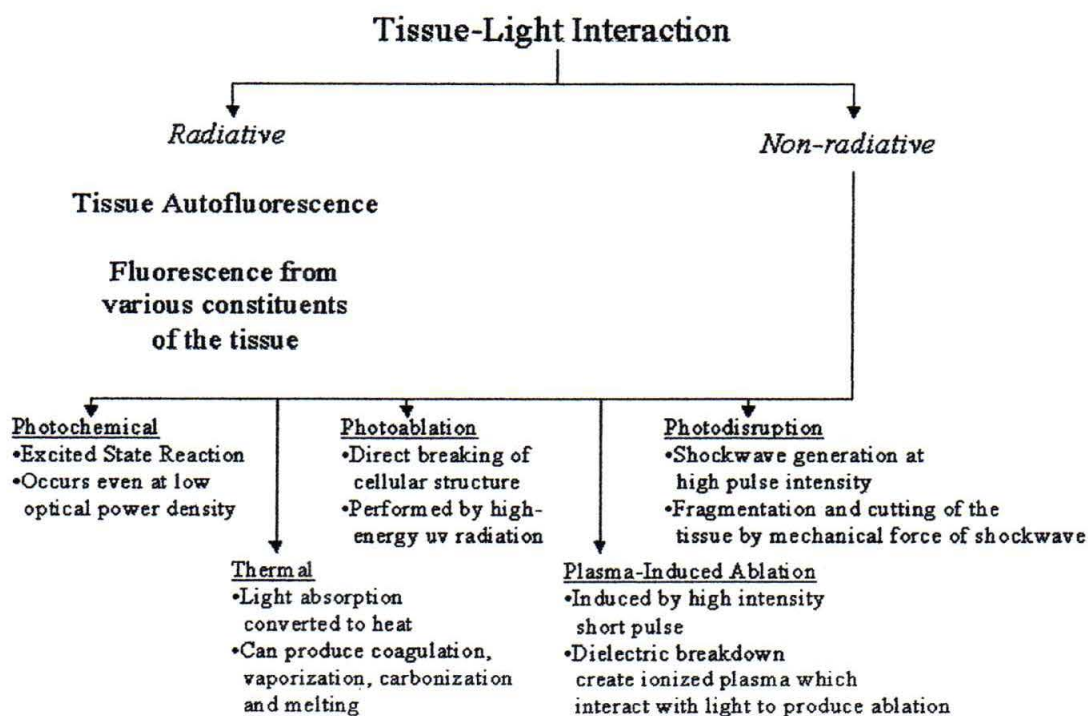


5.2. Pembahasan

Instrumen sumber cahaya LED yang digunakan untuk penyinaran dilengkapi dengan rangkaian sumber cahaya LED biru *super bright* produk lokal berdimensi 15 x 15 cm yang terdiri dari 20 x 18 LED, dengan puncak emisi 430 nm dan (629 ± 6) nm serta bandwidth 65 nm dan 30 nm diukur menggunakan Wavelength Meter SR 530 Stanford Research System Inc, kalibrator He-Ne laser 543 nm Newport 811.

Papageorgiou *et al.* (2000) melaporkan bahwa spektrum serap porfirin tipe fotosensitiser pada 400 nm sampai 650 nm. Sumber cahaya LED yang digunakan memiliki spektrum 430 nm, sehingga sumber cahaya LED biru 430 nm dapat diaplikasikan untuk fotoinaktivasi pada bakteri *Vibrio cholerae* dengan porfirin.

Pengukuran intensitas daya penyinaran LED menghasilkan daya penyinaran yang berada pada rentang mW. Interaksi fotokimia (PDT) terjadi pada durasi waktu pemaparan > 1 s dengan rapat daya berada pada rentang mW (Niemz, 2007). Sehingga instrumen LED yang dirancang telah memenuhi persyaratan untuk terjadinya mekanisme fotodinamik pada bakteri (Gambar 5.5). Hasil pengukuran distribusi intensitas LED menunjukkan persentasi error yang semakin mengecil untuk daya PWM yang semakin besar. Hal ini menunjukkan bahwa ketelitian pengukuran intensitas dari kalibrator semakin baik pada daya PWM besar.



Gambar 5.5. Proses induksi cahaya pada jaringan (Prasad, 2005)

Mekanisme awal fotosensitisasi pada bakteri *Vibrio cholerae* akibat penyinaran LED biru 430 nm berupa penyerapan foton. Absorpsi foton oleh molekul fotosensitiser akan mengeksitasi molekul tersebut dari tingkat vibrasional pada keadaan dasar singlet elektronik ke salah satu tingkat vibrasional dalam keadaan eksitasi elektronik. Pada keadaan eksitasi triplet ini, molekul porfirin tidak serta merta bertransisi ke ground state karena dilarang oleh aturan Pauli (Grossweiner, 2005), sehingga memiliki life time yang cukup lama (sekitar $10^{-2} - 10^2$ detik). Fotokimia merupakan perubahan kimia yang disebabkan oleh cahaya (Coyle, 1991), dan hanya terjadi jika cahaya diabsorpsi oleh sistem (Wardle, 2009). Perubahan kimia merupakan peristiwa yang muncul pada tingkatan molekuler akibat absorpsi oleh foton. Proses fotokimia memiliki kaitan erat dengan proses fotofisika, yang berperan dalam perubahan energi dan struktur elektronik akibat eksitasi molekul setelah peristiwa absorpsi. Reaksi fotokimia yang dimediasi oleh porfirin paling banyak terjadi dari keadaan triplet tereksitasi.

Molekul oksigen dapat berada pada keadaan eksitasi triplet, sehingga dapat bereaksi secara langsung dengan fotosensitiser triplet menghasilkan oksigen singlet. Oksigen singlet sangat reaktif dengan bio molekul, memiliki life time $< 1\mu\text{s}$ dan dalam sel atau jaringan dengan jarak difusi yang sangat kecil $< < \mu\text{m}$ sehingga letak fotosensitiser sangat menentukan lokasi kerusakan akibat reaksi fotokimia yang menghasilkan respon biologi. Umumnya porfirin fotosensitiser berlokasi pada membran sel, mitokondria, membran plasma dan lisosom (Wilson, 2005).

Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik, dengan kecepatan gerak bergantung pada muatan dan ukuran molekul, sehingga metode ini dapat digunakan untuk separasi makro molekul seperti protein dan asam nukleat (Rosenberg, 1996). Protein terdiri dari rangkaian dan kombinasi 20 asam amino. Setiap jenis protein mempunyai jumlah dan urutan asam amino yang khas. Dalam sel, protein terdapat baik pada dinding sel, membran plasma, maupun membran internal yang menyusun organel sel dengan fungsi yang berbeda-beda (Michaeli & Feitelson, 1997).

Hasil penelitian profil pita protein untuk protein marker, kelompok kontrol dan perlakuan ditunjukkan pada Gambar 5.3. Hasil penelitian profil pita protein membran menunjukkan adanya perubahan pada pita protein 72 kDa, 68 kDa dan 35 kDa akibat penyinaran LED biru 430 nm daya PWM 75% durasi waktu 40 menit (Gambar 5.3). Pourkomialian (1998) melaporkan bahwa pita protein 35 kDa berhubungan dengan sistem transport sel bakteri. Perubahan profil pita protein membran ini mengindikasikan bahwa

membran protein merupakan salah satu target ROS dan oksigen singlet yang dihasilkan dari mekanisme fotosensitisasi dengan penyinaran LED biru. Hasil penelitian ini diperkuat oleh Bhandari & Sharma (2007) yang melaporkan adanya perubahan profil pita protein membran 45 dan 50 kD pada *cyanobacteria* (*Nostoc spongiaeform* dan *Phormidium corium*) akibat pemaparan sinar matahari.

Grossweiner (2005) juga melaporkan bahwa oksigen singlet $^1\text{O}_2$ hasil reaksi fotokimia teridentifikasi berpengaruh pada membran sitoplasma dan membran intraselular, terutama pada fosfolipid, kolesterol dan membran protein. Sedangkan Ehrenberg, *et.al* (1993) melaporkan efek depolarisasi listrik yang menyebabkan kerusakan membran protein dan selanjutnya menyebabkan kematian sel.

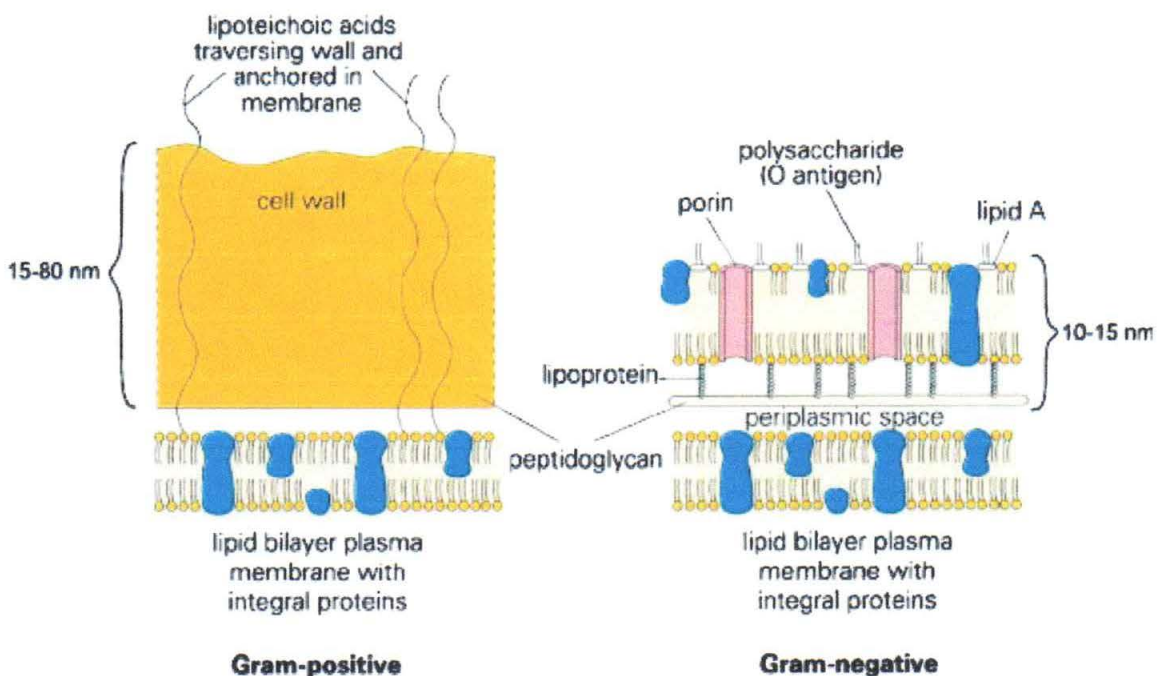
Hasil penelitian berupa persen luas area asam lemak miristat, palmitat dan laurat bakteri *Vibrio cholerae* pada berbagai kelompok kontrol dan penyinaran LED biru ditunjukkan pada tabel 5.2. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa perlakuan antar asam lemak (miristat, palmitat dan laurat) dan antar perlakuan daya PWM penyinaran LED menunjukkan adanya perbedaan bermakna. Hasil uji interaksi jenis asam lemak dan perlakuan dengan variasi daya PWM penyinaran LED menunjukkan adanya perbedaan bermakna. Uji post hoc Tukey menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dengan variasi daya PWM 75% (75 mW/cm^2) durasi waktu penyinaran 40 menit menghasilkan penurunan kandungan asam miristat 89% dan asam palmitat 81% yang berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan yang lain. Sedangkan pada asam laurat perlakuan penyinaran LED biru pada daya PWM 75% (75 mW/cm^2) dan durasi waktu penyinaran 40 menit menghasilkan penurunan sebesar 68% yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan penyinaran LED biru pada daya PWM 100% (96 mW/cm^2) dan durasi waktu penyinaran 40 menit yang menghasilkan penurunan sebesar 66%.

Pada penelitian ini digunakan asam lemak jenuh miristat, palmitat dan laurat sebagai marker karena asam lemak jenuh bersifat stabil. Pada asam lemak jenuh, oksidasi oleh radikal merupakan salah satu reaksi yang sangat mungkin terjadi. Sedangkan asam lemak tak jenuh bersifat tidak stabil dan mudah berubah oleh pengaruh suhu, kelembaban maupun oksidasi. Sehingga perubahan pada profil asam lemak tak jenuh tidak hanya disebabkan oleh oksidasi radikal. Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan profil dari asam lemak jenuh miristat, palmitat maupun laurat yang mengindikasikan bahwa penyinaran LED biru berpengaruh terhadap konsentrasi dan distribusi asam lemak jenuh pada bakteri.

penyinaran LED biru berpengaruh terhadap konsentrasi dan distribusi asam lemak jenuh pada bakteri.

Hasil ini diperkuat oleh penelitian Bhandari & Sharma (2007) yang melaporkan pengaruh pemaparan sinar matahari secara terus menerus pada *cyanobacteria* (*Nostoc spongiaeform* dan *Phormidium corium*) pada membran sel yang disebabkan oleh penurunan kandungan asam lemak jenuh dan sistem transport membran. Paardekooper *et al.* (1992) juga melaporkan kerusakan fotodinamik yang terjadi pada plasma dan membran sel yang disebabkan oleh depolarisasi listrik yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran dan kerusakan membran dan selanjutnya terjadi lisis sel bakteri.

Hasil pemotretan SEM menunjukkan adanya kerusakan dinding dan lisis sel akibat penyinaran LED biru (Gambar 5.4). Bakteri *Vibrio cholerae* merupakan bakteri Gram negatif. Dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif ditunjukkan pada Gambar 5.6. Dinding luar bakteri gram positif memiliki ketebalan 15-80 nm terdiri dari 100 lapis peptidoglikan (lipid) yang terbuat dari asam *lipoteichoic* dan *teichuronic* (Jori *et al.*, 2006). Dinding ini memiliki derajat porositas tinggi untuk difusi berbagai makromolekul seperti glikopeptida dan polisakarida dengan berat molekul 30.000-60.000 ke dalam membran plasma.



Gambar 5.6. Dinding bakteri Gram positif dan negatif (Jori *et al.*, 2006)

(dalam air 3×10^{-6} s) (Juzeniene *et al.*, 2006) dan dalam sitoplasma *life time* maksimum adalah 1×10^{-7} s (Moan, 1991). Konstanta difusi D untuk oksigen singlet dalam sel adalah 1.4×10^{-5} cm²/s dengan radius reaktif maksimum (δ) adalah 30 nm yang dihitung dari persamaan (Moan, 1991):

$$\delta = \sqrt{6D\tau}$$

90% oksigen singlet bereaksi pada lipid bilayer sel (Hoebeke, 1998). *Life time* intrinsik oksigen singlet dalam lapisan lipid (13-35 μ s) bergantung pada tipe lipid (Ehrenberg, *et.al*, 1998). Sebagai konsekuensi, letak intrasellular dari fotosensitiser sangat menentukan letak kerusakan yang disebabkan oleh PDT (Plaetzer *et al.*, 2009).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

Penyinaran LED biru 430 nm dengan dosis energi optimal berpengaruh terhadap karakteristik sel bakteri *Vibrio cholerae* sebagai berikut:

- a. analisis secara kimiawi dengan SDS-PAGE menunjukkan bahwa penyinaran LED biru 430 nm daya PWM 75% durasi waktu 40 menit menyebabkan perubahan pada pita protein 72 kDa, 68 kDa dan 35 kDa
- b. Analisis secara kimiawi dengan *Gas Chromatography* menunjukkan adanya penurunan kuantitas asam lemak jenuh miristat, palmitat dan laurat akibat penyinaran LED biru 430 nm daya PWM 75% durasi waktu 40 menit
- c. Analisis fisis dengan *Scanning Microscope Electron* menunjukkan adanya kerusakan pada dinding sel bakteri

6.2. Saran

Dengan terwujudnya instrumen LED membuka peluang untuk dilakukan penelitian lanjut mencakup :

1. Fotoinaktivasi bakteri patogen dengan sumber cahaya putih (cahaya matahari secara langsung, solar simulator, LED atau sumber yang lain)
2. Optimasi fotoinaktivasi bakteri *Vibrio cholerae* dengan pemberian eksogen fotosensitisasi yang lain
3. Karakteristik fotoinaktivasi melalui pengukuran konsentrasi oksigen singlet hasil fotosensitisasi

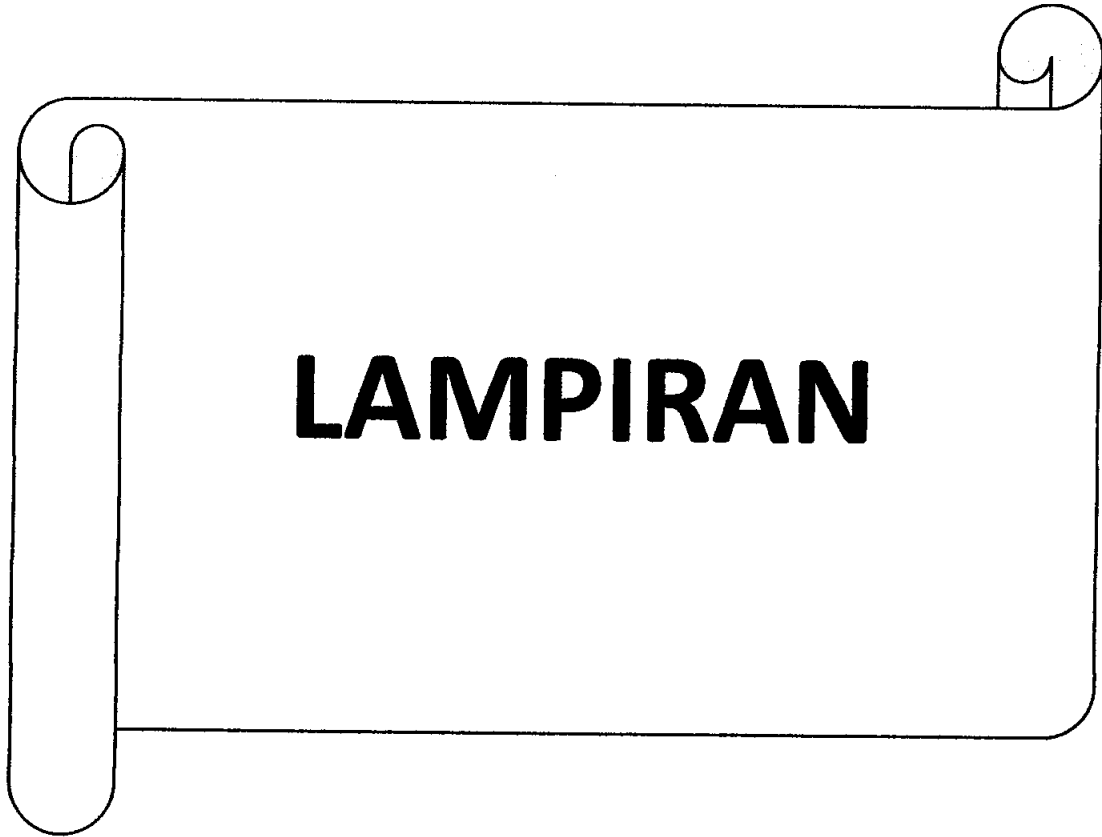
DAFTAR PUSTAKA

- Amelia S, 2006, *Vibrio cholerae*, USU Repository
- Ashkenanzi H., Malik Z., Harth Y., Nitzan Y., 2003, Eradication of *Propionibacterium acnes* by its Endogenic Porphyrin after Illumination with High Intensity Blue Light, *FEMS Immunology Med. Microbiology* : 35 p. 684-688
- Astuti SD. Ni'matuzahroh, Suhariningsih, Rudyardjo D.I., Zainuddin M., 2011, Potensi Photodinamik Inaktivasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio Cholerae* Dengan Endogen Photosensitizer Pada Penyinaran LED Biru ($429,8 \pm 3,7$)nm Dan Merah (628.7 ± 6.3) nm, *Jurnal Berkala Penelitian Hayati*, Vol 12 no.2
- Astuti SD. Robiyati E., Supriyanto A., 2010, Photodinamik Inaktivasi Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*) Dengan Endogen Photosensitizer Pada Penyinaran LED biru ($429,8 \pm 3,7$) nm, *Seminar Nasional Fisika II*, Universitas Airlangga, Surabaya
- Astuti, S.D., Puspitasari A.T., Supriyanto A., 2009, The Optimal Lethal Dose of Blue Light (454 nm) Exposure with Light Emitting Diodes (LED) Device in *Staphylococcus Aureus* Bacteria, *Second International conference and Workshops on Basic and Applied Sciences & Regional Annual Fundamental Science Seminar*, UTM
- Bhandari R. & Sharma P.K., 2007, Effect of UV-B and High Visual Radiation on Photosynthesis in Freshwater (*Nostoc spongiaeforme*) and Marine (*Phormidium corium*) Cyanobacteria, *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 44:231-239
- Bertoloni G, Rossi F, Valduga G, Jori G, van Lier J, 1990, Photosensitizing Activity of Water and Lipid Soluble Pthalocyanines on *E.coli*, *FEMS Microbiol. Letter* 59, 149-155
- Bollag D.M., Edelstein S.J., 1991, *Protein Methods*, John Wiley & sons Inc., USA
- Bruce-Micah R., Huttenberger D., Freitag L., Cullun J., Foth H-J., 2009, Pharmacokinetic of ALA and h-ALA Induced Porphyrins in the Models *Mycobacterium phlei* and *Mycobacterium*, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 97, 1-7
- Coyle, John D. 1991. *Introduction to Organic Photochemistry*. John Willey Sons: London

- Demidova, T.N., Hamblin, M.R., 2005, Effect of cell-Photosensitizer Binding cell Density on Microbial Photoinactivation, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol.49 no.6, p.2329-2335
- Dietel W., Pottier R., Pfister W., Schleier P., Zinner K., 2006, 5-aminolevulinic acid (ALA) induced Formation of Different Fluorescent Porphyrins: A Study The Biosynthesis of Porphyrins by Bacteria of The Human Digestive Tract, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, vol 86:p.77-86
- Ehrenberg, B., E. Gross, Y. Nitzan, and Z. Malik. 1993, Electric Depolarization of Photosensitized Cells: Lipid vs. Protein Alterations. *Journal of Photochemistry and Photobiology. Acta.* 1151:257-264.
- Ehrenberg, B., J. L. Anderson, and C. S. Foote. 1998, Kinetics and Yield of Singlet Oxygen Photosensitized by Hypericin in Organic and Biological Media. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 68:135-140.
- Grossweiner, L.I. 2005, *The Science of Phototherapy: An Introduction*, Springer: USA
- Hamblin, M.R., Hasan, T., 2003, Photodynamic Therapy: a New Antimicrobial Approach to Infectious Disease?, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, Science*, 3,436-450
- HMD, 2008, *Human Metabolome Database Coproporphyrin III and Protoporphyrin IX*
- Hoebcke, M., J. Piette, and A. Vandevorst, 1998, Photosensitized Production of Singlet Oxygen by Merocyanine 540 Bound to Liposomes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B. Biology* 9:281-294
- <http://www.wikipedia.com/LED>
- Jawetz, Melnick, Alderberg's, 2001, *Medical Microbiology*, McGraw-Hill Companies Inc. 22nd edition, 235-23
- Johansen Y, Widerøe H.C, Krane J, Johnsson A., 2003, Proton Magic Angle Spinning NMR Reveals New Features in Photodynamically Treated Bacteria, *Z. Naturforsch*, 58c, 401-407
- Jori G., Fabris C., Soncin M., Ferro S., Coppelotti O., Dei D., Fantetti L., Chiti G., Roncucci G., 2006, Photodynamic Therapy in The Treatment of Microbial Infections: Basic Principles and Perspective Applications, *Laser in Surgery and Medicine* 38: 468-481
- Juzeniene A., Nielsen K.P., Moan J., 2006, Biophysical Aspects of Photodynamic Therapy, *Journal of Environmental Pathology Toxicology Oncology*, 25:7-28

- Juzenas P., 2002, *Investigation of Endogenous Photosensitizer Protoporphyrin IX in Hairless Mouse Skin by Means of Fluorescence Spectroscopy*, Group of Photodynamic Therapy Departement of Biophysics, Institute for Cancer Research The Norwegian Radium Hospital
- Krane, S. K., 1992, *Modern Physics: The Particle Theory of Light*, John Wiley and Son Inc
- Levinson W., & jawetz E., 2001, *Medical Microbiology & Immunology*, Mc.Graw-Hill Companies, Seventh Edition, pp.125-126
- Makarska, M. & Radzki S., 2002, *Water-soluble Porphyrins and Their Metal Complexes*. Annales Universitatis Mariae Curie-Sklowdoska Lublin, Polonia. Vol. LVII, 17
- Michaeli A. and Feitelson J., 1997, Reactivity of Singlet Oxygen Toward Proteins: The effect of Structure in Basic Pancreatic Trypsin Inhibitor and Ribonuclease A., *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Chemistry*, 65:309-315
- Min D.B. and Boff J.M., 2002, Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Food, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol.1. 2002
- Moan J., Berg K., 1991, The Photodegradation of Porphyrin in Cells Can Be Used to Estimate The Lifetime of Singlet Oxygen, *Journal of Photochemistry and Photobiology P: Physics*, Elsevier, 53 (1991) 549-553
- Niemz M.H., 2007, *Laser-Tissue Interaction, Fundamentals and Applications*, Third enlarged edition, Springer-Verlag Berlin
- Nitzan Y., Divon M.S., Shporen E., Malik Z., 2004, ALA Induced Photodynamic Effect on Gram Positive and Negative Bacteria, *Journal of Photochemistry and Photobiology P: Physics.*, vol 3, pp. 430-435
- Papageorgiu, P. et al. 2000. Phototherapy with Blue (415nm) and Red (660nm) Light in The Treatment of Acne Vulgaris, *British Journal of Dermatology*
- Paardekooper, M., P. J. Van den Broek, A. W. De Bruijne, J. G. Elferink, T. M. A. R. Dubbelman, and J. Van Steveninck. 1992. Photodynamic Treatment of Yeast Cells with The Dye Toluidine Blue: All-or-None Loss of Plasma Membrane Barrier Properties. *Biochim. Biophys. Acta.* 1108: 86–90.
- Plaetzer K., Krammer B., Berlanda J., Berr F., 2009, Photophysics and Photochemistry of Photodynamic Therapy: Fundamental Aspects, *Journal of Laser Medical Sciences*, 24: 259-268
- Pourkomailin B., 1998, Possible Link Between a 35 kDa Protein and Osmolyte Transport in *Staphylococcus aureus*, *Letters in Applied Microbiology*, 26:149-152

- Prasad P.N., 2005, *Photobiology for Biophotonics: Advances In Biophotonics*, IOS Press, p.123-147
- Ramberg K., Melø T.B., Johnsson A., 2004, In Situ Assesment of Porphyrin Photosensitizer in *P.acnes*, *Z.Naturforsch*, 59C,93-98
- Rosenberg I.M., 1996, *Protein Analysis and Purification Benchtop Techniques*, Birkhauser, Boston, USA
- Ross, D.A., 1979, *Optoelectronic Devices and Optical Imaging Techniques*, The Macmillan Press Ltd, pp.11-19
- Ryan KJ., Ray CG., 2004, *Sherris Medical Microbiology*, McGrawhill company, 4th edition
- Schubert E.F., 2006, *Light Emitting Diodes*, 2nd ed., Cambridge University Press, USA
- Sze, S.M., 1985, *Semiconductor Devices: Physics and Technology*, John Wiley & Sons, p.70 -109
- Valduga G, Breda B, Giacometti G.M, Jori G, Reddi E, 1999, Photosensitization of Wild and Mutant Strains of *E.coli* by Meso-tetra (N-methyl-4-pyridyl) Porphine, *Biochem.Biophys. Res. Commun.*, 256, p.84-88
- Wainwright M., 2009, *Photosensitizers in Biomedicines*, John Wiley & Sons Ltd.
- Wardle B., 2009, *Principles and Applications of Photochemistry*, John Wiley & sons Ltd
- White D.C. & Frerman F.E., 1967, Extraction, Characterization, and Cellular Localization of Lipids of *Staphylococcus aureus*, *Journal of bacteriology*, vol.94, 6, p.1854-67
- Wilson, B.C., 2005, *Photodynamic Therapy: Advances in Biophotonics*, IOS Press, p.241-2



LAMPIRAN I

PENGUKURAN SPEKTRUM PANJANG GELOMBANG LED BIRU

Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui spektrum panjang gelombang LED biru sebagai sumber cahaya. Alat yang digunakan untuk mengkalibrasi instrumen ini adalah wavelength meter tipe SR 530.

SPEKIFIKASI ALAT KALIBRASI

Nama : Wavelength Meter SR 530 Stanford Research System Inc.

Kalibrator : He-Ne laser 543 nm Newport 811

Power : 5 mW

Data pengukuran spektrum panjang gelombang LED biru

No.	Panjang gelombang (nm)	No.	Panjang gelombang (nm)	No.	Panjang gelombang (nm)
1	427.3564	41	427.3564	21	427.3564
2	427.3564	42	430.2631	22	427.3564
3	430.2631	43	430.2631	23	438.9833
4	430.2631	44	424.4496	24	433.1698
5	424.4496	45	433.1698	25	427.3564
6	421.5429	46	436.0766	26	424.4496
7	427.3564	47	433.1698	27	427.3564
8	424.4496	48	427.3564	28	430.2631
9	433.1698	49	433.1698	29	433.1698
10	433.1698	50	430.2631	30	430.2631
11	436.0766	51	430.2631	31	430.2631
12	427.3564	52	430.2631	32	430.2631
13	433.1698	53	427.3564	33	433.1698
14	436.0766	54	427.3564	34	430.2631
15	427.3564	55	424.4496	35	433.1698
16	433.1698	56	427.3564	36	433.1698
17	433.1698	57	427.3564	37	427.3564
18	433.1698	58	424.4496	38	424.4496
19	427.3564	59	427.3564	39	427.3564
20	436.0766	60	430.2631	40	433.1698
λ rata-rata					429.7786
$\Delta\lambda$					3.675463

LAMPIRAN II

PENGUKURAN DAYA PENYINARAN LED BIRU

Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui daya penyinaran sumber cahaya LED biru. Alat yang digunakan untuk mengukur daya penyinaran LED biru adalah Silicon detector 818 SL, Newport SN 5592, panjang gelombang 400 nm -1100 nm.

SPESIFIKASI ALAT KALIBRASI

Nama : Silicon Detector 818 SL, Newport SN 5592
 Kalibrator : He-Ne laser 543 nm Newport 811
 Power : 5 mW

Data pengukuran rapat daya penyinaran LED biru pada daya PWM 25%

No.	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 2 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 3 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 4 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 5 cm
1	28,58	28,58	28,58	28,58
2	28,58	28,58	28,58	28,58
3	27,79	27,79	27,79	27,79
4	28,58	28,58	28,58	28,58
5	29,00	28,58	28,58	28,58
6	27,79	27,79	27,79	27,79
7	29,00	28,58	28,58	28,58
8	27,79	27,43	27,79	27,79
9	28,10	28,10	28,10	28,10
10	29,00	28,58	27,83	27,83
11	28,10	28,10	28,10	28,10
12	29,00	29,00	27,83	27,83
13	28,10	28,10	27,83	27,83
14	28,58	28,58	28,58	28,58
15	28,58	28,58	28,58	28,58
16	28,58	28,58	27,43	27,43
17	29,00	28,58	26,88	26,88
18	28,10	28,10	28,10	28,10
19	27,79	27,43	27,79	27,79
20	27,79	27,43	27,43	27,43
P rerata	28,39	28,25	28,15	28,04
ΔP	0,47	0,47	0,48	0,49

Data pengukuran rapat daya penyinaran LED biru pada daya PWM 50%

No.	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 2 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 3 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 4 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 5 cm
1	56,68	56,03	56,03	56,23
2	56,68	56,06	56,06	56,23
3	55,58	55,58	55,58	55,58
4	56,23	56,23	56,23	56,23
5	56,68	56,68	56,68	56,68
6	55,58	55,58	55,58	54,83
7	56,68	56,68	56,68	56,68
8	55,58	54,83	54,83	54,83
9	56,06	56,06	56,06	56,06
10	56,68	56,68	56,68	56,68
11	55,58	56,03	56,03	56,06
12	56,68	56,68	56,68	56,68
13	55,58	56,03	56,03	56,06
14	56,23	56,23	56,23	56,23
15	56,23	56,23	56,23	56,23
16	56,23	56,23	56,06	56,06
17	56,68	56,68	56,68	56,23
18	55,58	55,58	56,03	56,06
19	55,58	55,58	55,58	55,58
20	55,58	55,58	54,83	54,83
P rerata	56,12	56,06	56,04	56,00
ΔP	0,49	0,50	0,55	0,59

Data pengukuran rapat daya penyinaran LED biru pada daya PWM 75%

No.	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 2 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 3 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 4 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 5 cm
1	75,16	75,08	75,08	75,08
2	75,16	75,08	75,08	75,08
3	74,59	74,59	74,06	74,06
4	75,16	75,08	75,08	75,08
5	76,14	76,14	76,14	76,14
6	75,16	75,08	75,08	75,08
7	76,14	76,14	76,14	76,14
8	74,66	74,66	74,66	74,66
9	75,16	75,08	75,08	75,08
10	76,14	76,14	76,14	76,14
11	75,16	75,08	75,08	75,08
12	76,14	76,14	76,14	76,14
13	75,16	75,08	75,08	75,08
14	74,59	74,59	74,06	74,06
15	75,16	75,08	75,08	75,08
16	75,16	75,08	75,08	75,08
17	76,14	76,14	75,16	75,16
18	75,16	75,08	75,08	75,08
19	74,59	74,59	74,59	74,06
20	74,59	74,59	74,59	74,06
P rerata	75,27	75,22	75,12	75,07
ΔP	0,57	0,58	0,62	0,68

Data pengukuran rapat daya penyinaran LED biru pada daya PWM 100%

No.	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 2 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 3 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 4 cm	Rapat daya LED (mW/cm ²) pada jarak 5 cm
1	96,56	96,56	96,56	96,56
2	96,56	96,56	96,56	96,56
3	95,33	94,80	94,80	94,80
4	96,56	96,56	96,70	96,56
5	96,70	96,73	96,70	96,70
6	95,33	95,39	94,80	95,33
7	96,73	96,73	96,70	96,73
8	95,33	95,33	95,33	95,33
9	96,56	96,08	96,08	96,56
10	96,56	96,56	96,70	96,73
11	96,08	96,08	96,08	96,08
12	96,56	96,73	96,70	96,73
13	96,08	96,08	96,08	96,08
14	95,39	95,39	95,39	95,39
15	96,08	96,08	96,08	96,08
16	96,08	96,08	96,08	96,08
17	96,70	96,56	96,70	96,73
18	95,39	95,39	95,39	95,39
19	95,33	95,33	95,33	94,80
20	95,33	95,33	95,33	94,80
P rerata	96,06	96,02	96,01	96,00
ΔP	0,58	0,61	0,67	0,72

LAMPIRAN III

KALIBRASI WAKTU PENYINARAN

Kalibrasi waktu penyinaran dilakukan untuk menguji kesesuaian waktu yang dihitung oleh alat atau instrumen pemaparan cahaya LED biru. Alat yang digunakan untuk mengkalibrasi instrumen ini adalah Stopwatch Digital.

SPESIFIKASI ALAT KALIBRASI

Name : Enko Sport Timer
 Precision : 1/100 second with split counter (for first 30 minutes)
 Power : battery LR44

Data durasi waktu penyinaran pada instrumen LED dan kalibrator

Durasi waktu (t)	Pengukuran durasi waktu (t) (detik)										$t_{\text{Rata-rata}}$	waktu kalibrator (detik)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300
600	600	600	600	600	600	600	600	600	600	600	600	600	600
900	900	900	900	900	900	900	900	900	900	900	900	900	900
1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200	1200

LAMPIRAN IV

KALIBRASI TEMPERATUR

Kalibrasi suhu dilakukan untuk menguji kesesuaian temperatur yang dihitung oleh alat atau instrumen pemaparan cahaya LED biru. Alat yang digunakan untuk mengkalibrasi instrumen ini adalah termometer digital *Atech Thermo L87AD*.

SPESIFIKASI ALAT KALIBRASI

Name : *Atech Thermo L87AD*.

Measured Range : -10°C to +50°C (Indoor)

-50°C to +70°C (Outdoor)

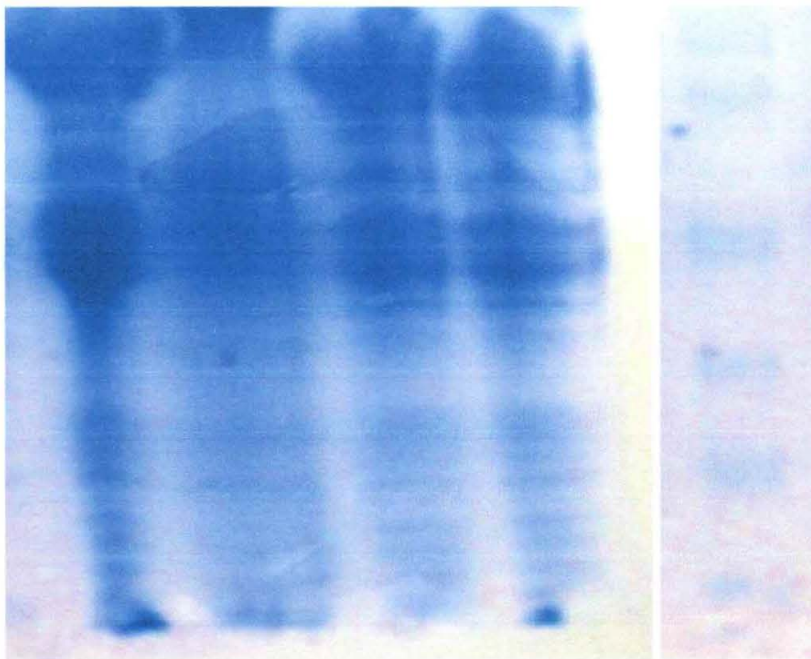
Data temperatur penyinaran pada instrumen LED dan kalibrator

Temperatur (°C)	Pengukuran Temperatur (T) (°C)										T rata- rata	ΔT	Temperatur pada kalibrator
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
21	20	20	20	21	21	21	21	21	21	21	20.7	0.48	21
22	22	22	21	21	22	22	22	22	22	22	21.8	0.42	22
23	23	23	22	24	22	23	23	23	23	23	22.9	0.57	23
24	23	23	24	24	24	24	24	24	24	24	23.8	0.67	24
25	25	25	25	25	24	25	25	25	25	25	24.9	0.32	25
26	26	26	26	25	25	26	26	26	26	26	25.8	0.42	26
27	27	27	27	28	27	27	26	27	27	27	27	0.47	27
28	28	28	28	28	27	28	28	28	28	28	27.9	0.32	28
29	29	29	28	28	29	29	29	29	29	30	28.9	0.57	29
30	30	30	30	30	30	30	30	31	30	30	30.1	0.32	30

LAMPIRAN V.1

Profil Pita Protein dengan *Dodecyl Sulphate-Polyacrilamide Gel Elektrophoresis* (SDS-PAGE)

Kontrol 75%40' 50%40' 25%40' Marker



LAMPIRAN V.2

KURVA BAKU UNTUK PENENTUAN BERAT MOLEKUL PROTEIN

1. Tabel penghitungan log berat molekul (BM), jarak migrasi dan Relatif of mobility (Rf) dari protein standar

No	Berat molekul (kDa)	Log BM	jarak migrasi sesudah pewarnaan (cm)	Rf
1	117	2,07	0,9	0,15
2	85	1,93	1,4	0,23
3	48	1,68	2,6	0,43
4	34	1,53	3,5	0,57
5	26	1,42	4,4	0,72
6	19	1,28	5,2	0,85

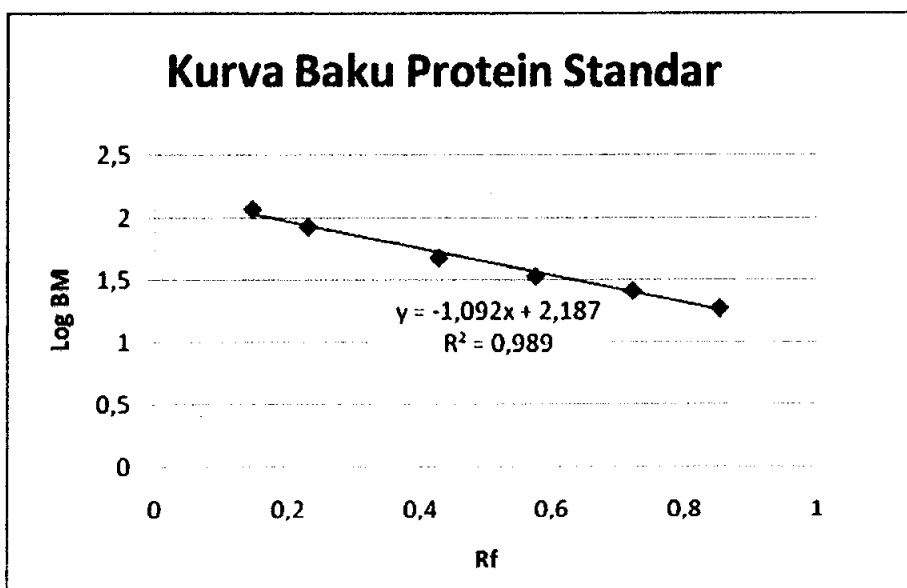
Panjang akrilamid beku setelah pewarnaan = 6 cm

Panjang akrilamid beku sebelum pewarnaan = 6,6 cm

Jarak warna cat = 6,6 cm

$$R_f = \frac{\text{jarak migrasi sesudah pewarnaan}}{\text{panjang akrilamid beku sesudah pewarnaan}} \times \frac{\text{panjang akrilamid beku sebelum pewarnaan}}{\text{jarak warna cat}}$$

Kurva garis regresi relatif of mobility terhadap log BM adalah sebagai berikut:



Dari kurva di atas diperoleh persamaan: $Y = -1,092X + 2,187$

Dengan $Y = \log \text{BM}$

$$X = R_f$$

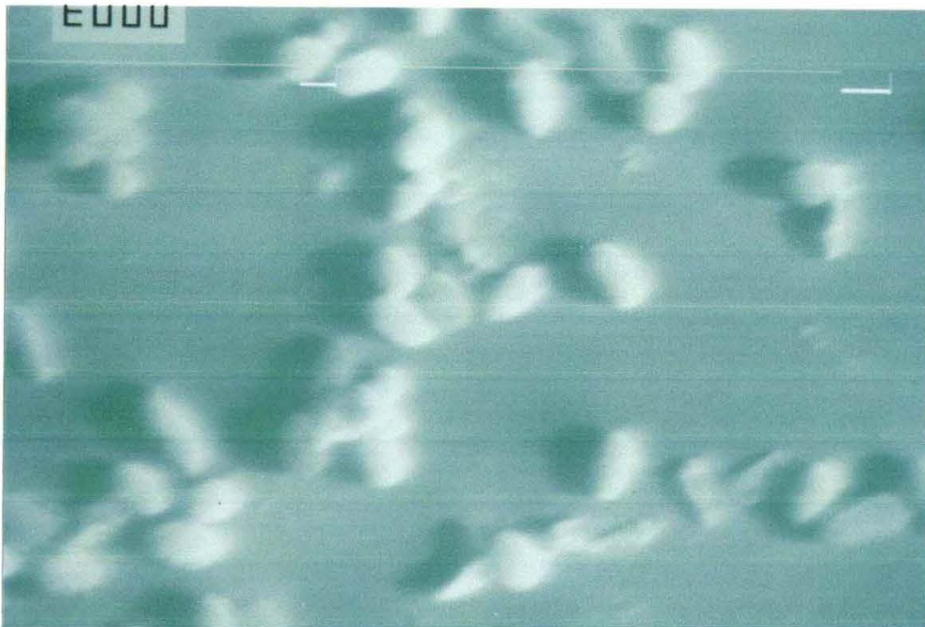
Selanjutnya dari persamaan di atas digunakan untuk menghitung berat molekul fraksi protein bakteri yang ditunjukkan oleh tabel berikut:

2. Tabel penghitungan berat molekul fraksi protein bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Jarak migrasi (cm)	Rf	log BM	BM (kDa)
1	0,6	0,10	2,08	119,62
2	0,8	0,13	2,04	110,00
3	0,9	0,15	2,02	105,49
4	1	0,17	2,01	101,16
5	1,2	0,20	1,97	93,03
6	1,4	0,23	1,93	85,55
7	1,8	0,30	1,86	72,34
8	2,1	0,35	1,80	63,80
9	2,3	0,38	1,77	58,67
10	2,4	0,40	1,75	56,26
11	2,5	0,42	1,73	53,95
12	2,6	0,43	1,71	51,74
13	2,7	0,45	1,70	49,61
14	2,8	0,47	1,68	47,58
15	2,9	0,48	1,66	45,62
16	3	0,50	1,64	43,75
17	3,3	0,55	1,59	38,58
18	3,4	0,57	1,57	37,00
19	3,5	0,58	1,55	35,48
20	3,6	0,60	1,53	34,03
21	3,9	0,65	1,48	30,01
22	4,4	0,73	1,39	24,33
23	4,7	0,78	1,33	21,46
24	5,4	0,90	1,20	16,00

LAMPIRAN VI

Hasil uji Fisis Sel Bakteri *Vibrio cholerae* dengan *Scanning Mikroscope Electron* (SEM) type JSM T-160 JEOL Scanning Microscope



a. Kontrol (perbesaran 7000x)



(b) Perlakuan penyinaran daya PWM 75% 40 menit (perbesaran 7000x)

LAMPIRAN VII.1

Data Hasil Asam Lemak Bakteri *Vibrio cholerae* Pada Penyinaran LED Biru 430 nm Dengan Gas Chromatography (GC)

Pada penelitian ini digunakan uji kromatografi gas Agilent 6890 Plus GC Version A.0308 dengan metode *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME-ULP), pelarut hexane dan tiga standar asam lemak jenuh yaitu Miristat 510 ppm, Palmitat 500 ppm dan Laurat 503 ppm.

Metode : Fatty Acid Methyl Ester (FAME-ULP)
Pelarut : Hexane
Standart : Miristat, palmitat, laurat
Sampel : Bakteri *Vibrio cholerae*

Nama sampel	% Luas Area			Retention time		
	Miristat	Palmitat	Laurat	Miristat	Palmitat	Laurat
blanko 1	52,1931	45,7568	68,4509	4,537	7,077	11,924
blanko 2	50,4594	45,1952	69,4292	4,542	7,088	11,944
Mean	51,3263±1,2259	45,476±0,3971	68,9401±0,6918			
kontrol 1	100,2168	105,5582	216,9058	4,532	7,080	11,945
kontrol 2	98,3580	109,2993	219,2891	4,533	7,078	11,944
Mean	99,2874±1,3144	107,4288±2,6454	218,0975±1,6852			
SA25%40' 1	92,8533	92,1493	189,4209	4,538	7,084	11,949
SA 25%40' 2	99,4254	96,0851	191,5025	4,537	7,081	11,939
Mean	96,1394±4,6472	94,1172±2,7830	190,4617±1,4719			
SA50%40' 1	24,6747	42,0264	148,7899	4,531	7,070	11,920
SA 50%40' 2	26,8242	40,0667	146,3567	4,527	7,063	11,915
Mean	25,7495±1,5199	41,0466±1,3857	147,5733±1,7205			
SA75%40' 1	11,1787	19,1491	66,3907	4,522	7,063	11,906
SA 75%40' 2	10,8859	21,4707	75,2152	4,542	7,080	11,928
Mean	11,0323±0,2070	20,3099±1,6416	70,8030±6,2399			
SA100%40' 1	58,6421	43,7554	65,6851	4,542	7,088	11,944
SA 100%40' 2	66,8846	58,2056	81,7485	4,530	7,070	11,917
Mean	62,7634±5,8283	50,9805±10,2178	73,7168±11,3585			

LAMPIRAN VII.2

PRINT OUT ASAM LEMAK BAKTERI DENGAN GAS CHROMATOGRAPHY

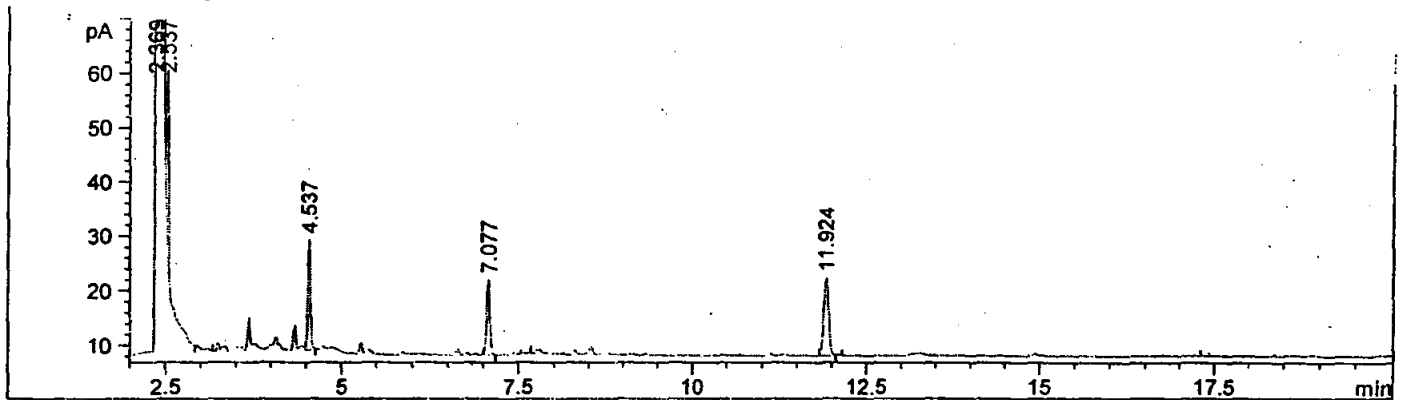
Data File D:\DATA\TUTU05JUNE001.D

Sample Name: SA Blanko 1

10 mikroliter

.....
 Injection date : 05/6/12 09:15:32 AM
 Sample Name : SA Blanko 1
 Acq. Operator : Tuti
 Location : vial 1
 Inj : 1
 Inj Volume : manually
 Acq. Method : C:\HPCHEM2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 2/4/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.369	BB S	0.0470	1.86614e6	6.79941e5	99.98713
2	2.537	BB X	0.0380	73.78981	33.11995	0.00395
3	4.537	VB	0.0400	52.19306	20.26745	0.00280
4	7.077	BB	0.0516	45.75681	13.82926	0.00245
5	11.924	BP	0.0734	68.45097	14.16630	0.00367

Totals : 1.86638e6 6.80023e5

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***

Data File D:\DATA\TUTTI05JUNE002.D

Sample Name: SA Blanko 1

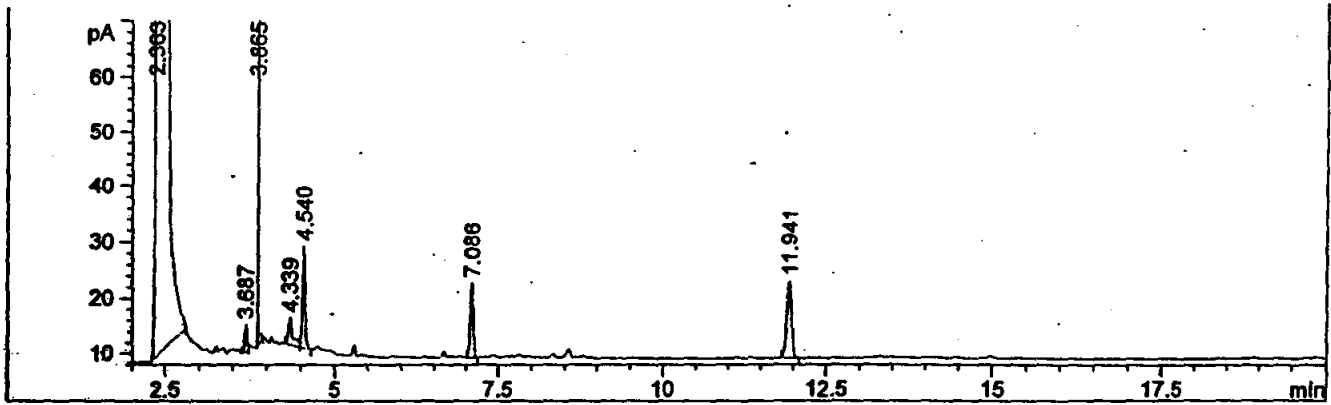
10 mikroliter

Injection date : 05/6/12 12:45:15 AM
 Sample Name : SA Blanko 2
 Acq. Operator : Tuti

Location : vial 1
 Inj : 1
 Inj Volume : manually

Acq. Method : C:\HPCHEM2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 2/4/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.363	PB S	0.0505	2.04971e6	6.92438e5	99.98835
2	3.687	VV	0.0408	12.95288	5.07140	0.00063
3	3.865	PB	5.79e-3	38.72196	161.70627	0.00189
4	4.339	BV	0.0626	22.02130	4.98135	0.00107
5	4.540	VP	0.0432	50.45942	18.29868	0.00246
6	7.086	BB	0.0521	45.19523	13.49786	0.00220
7	11.941	BB	0.0809	69.42916	13.75514	0.00339

Totals : 2.04995e6 6.92656e5

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Data File D:\DATA\TUTU\7JUNE001.D

Sample Name: SA Kontrol 1

10 mikroliter

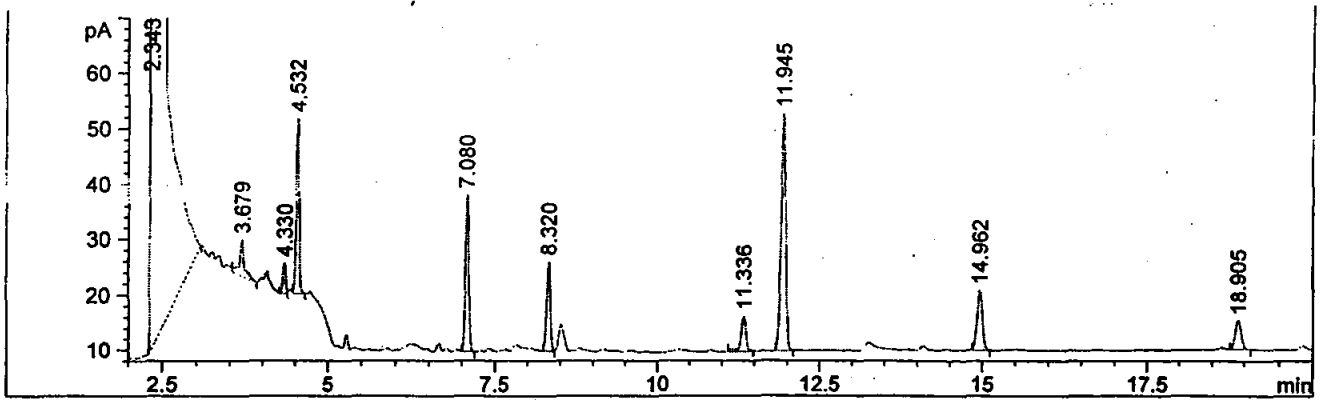
.....

Injection date : 7/6/12 09:30:12 AM
 Sample Name : SA Kontrol 1
 Acq. Operator : Tuti

Location : vial 1
 Inj : 1
 Inj Volume : manually

Acq. Method : C:\HPCHEM2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 2/4/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.343	PB S	0.0653	3.10316e6	8.36997e5	99.97840
2	3.679	VB	0.0760	34.92520	6.57430	0.00113
3	4.330	VV	0.0477	16.38894	5.50970	0.00053
4	4.532	VB	0.0510	100.21675	31.62886	0.00323
5	7.080	BB	0.0581	105.55820	28.58562	0.00340
6	8.320	PV	0.0618	63.49473	16.16870	0.00205
7	11.336	BB	0.0803	35.43362	6.52663	0.00114
8	11.945	BB	0.0801	216.90584	42.82510	0.00699
9	14.962	BB	0.0886	62.30385	10.91718	0.00201
10	18.905	PP	0.1025	35.33105	5.39046	0.00114

Totals : 3.10383e6 8.37151e5

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***

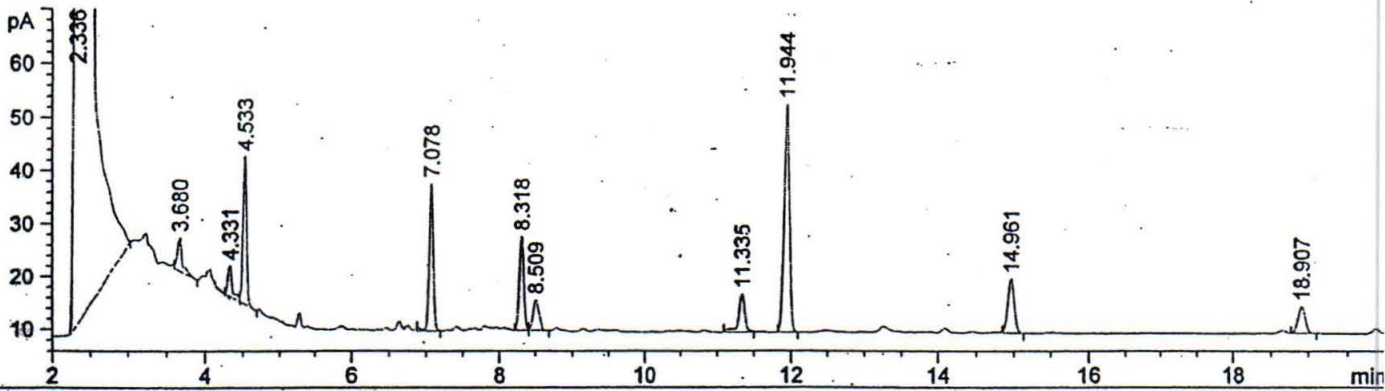
Data File D:\DATA\TUTU\7JUNE002.D

Sample Name: SA Kontrol 2

10 mikroliter

.....
 Injection date : 7/6/12 01:05:30 AM
 Sample Name : SA Kontrol 2
 Acq. Operator : Tuti
 Location : vial 1
 Inj : 1
 Inj Volume : manually
 Acq. Method : C:\HPCHEM2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 2/4/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.336	PB S	0.0629	3.40815e6	8.48588e5	99.97890
2	3.680	VP	0.0576	26.67243	6.39634	0.00078
3	4.331	VV	0.0664	24.87662	5.87093	0.00073
4	4.533	VP	0.0580	98.35796	27.99799	0.00289
5	7.078	BB	0.0596	109.29926	27.97900	0.00321
6	8.318	PV	0.0674	73.87077	17.78995	0.00217
7	8.509	VB	0.0796	31.44706	5.76732	0.00092
8	11.335	BB	0.0869	41.63265	7.15011	0.00122
9	11.944	BB	0.0795	219.28912	43.02483	0.00643
10	14.961	BB	0.0930	59.87804	10.27754	0.00176
11	18.907	PB	0.0998	34.07451	5.10766	0.00100

Totals : 3.40887e6 8.48746e5

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***

Data File D:\DATA\TUTU\11JUNE001.D

Sample Name: SA 25% 40 menit

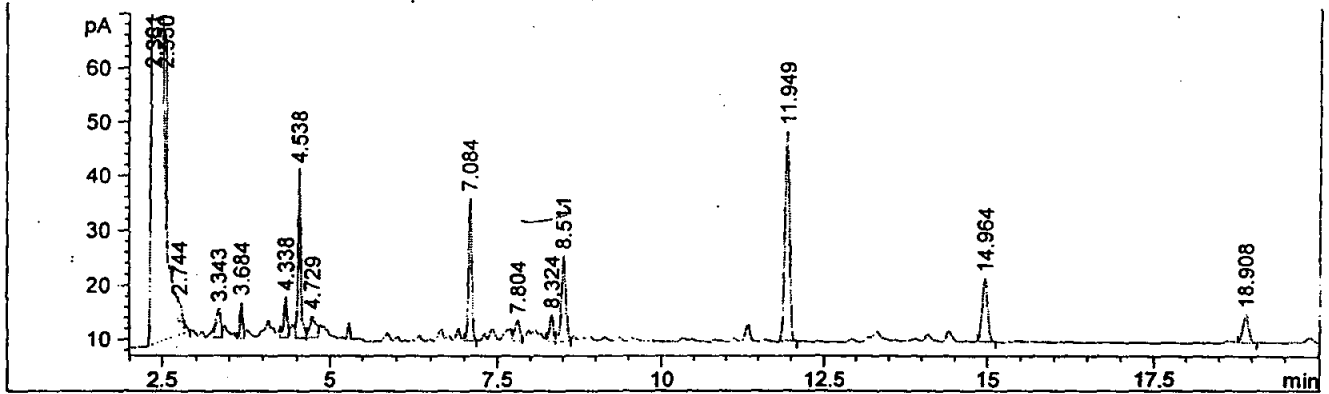
10 mikroliter

Injection date : 11/6/12 09:17:05 AM
 Sample Name : SA PWM 25% 40 menit (1)
 Acq. Operator : Tuti

Location : vial 1
 Inj : 1
 Inj Volume : manually

Acq. Method : C:\HPCHEM2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 1/6/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.361	PB S	0.0521	2.15875e6	7.16789e5	99.96414
2	2.530	BB X	0.0440	69.94897	26.47155	0.00324
3	2.744	BB X	0.0589	13.74390	3.89070	0.00064
4	3.343	VV	0.0709	27.38933	5.61896	0.00127
5	3.684	VV	0.0422	18.69464	6.98899	0.00087
6	4.338	VV	0.0529	27.07021	7.72577	0.00125
7	4.538	VV	0.0459	92.85332	31.03239	0.00430
8	4.729	VV	0.0855	26.38621	4.13407	0.00122
9	7.084	VB	0.0549	92.14933	26.29935	0.00427
10	7.804	VV	0.0767	21.17597	4.00599	0.00098
11	8.324	VV	0.0626	20.82524	4.99758	0.00096
12	8.511	VV	0.0687	72.22599	15.70481	0.00334
13	11.949	BB	0.0770	189.42091	38.74984	0.00877
14	14.964	BB	0.0801	67.62534	11.76099	0.00313
15	18.908	PP	0.0997	34.84848	5.44025	0.00161

Totals : 2.15953e6 7.16982e5

Results with enhanced integrator! Suryani Dyah Astuti

*** End of Report ***

Data File D:\DATA\TUT\11JUNE002.D

Sample Name: SA 25% 40 menit

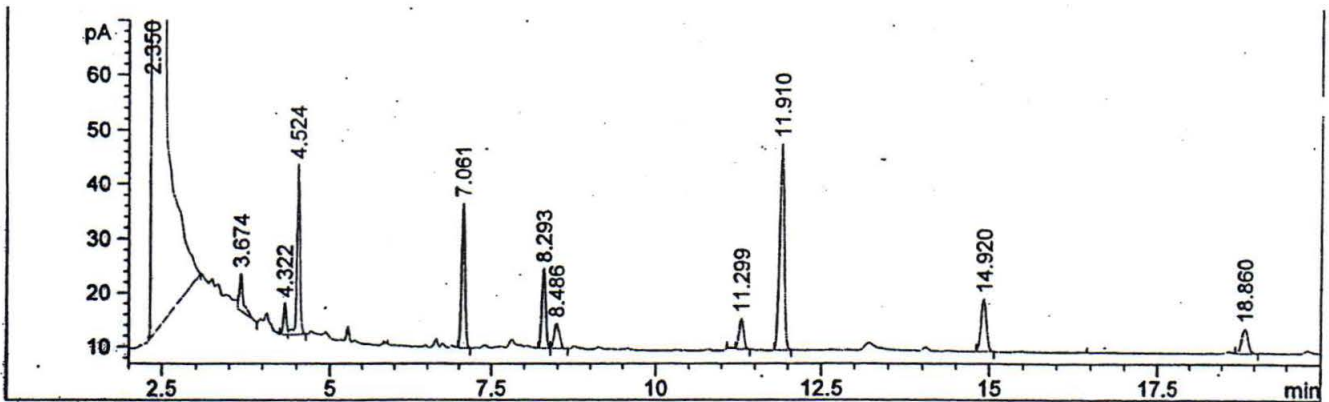
10 mikroliter

Injection date : 11/6/12 12:59:52 AM
 Sample Name : SA PWM 25% 40 menit (2)
 Acq. Operator : Tuti

Location : vial 1
 Inj : 1
 Inj Volume : manually

Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 1/6/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.350	PB S	0.0602	2.82015e6	8.17529e5	99.97791
2	3.674	VP	0.0569	26.70034	6.93367	0.00095
3	4.322	VV	0.0450	16.65841	5.88464	0.00059
4	4.524	VB	0.0489	99.42545	31.41324	0.00352
5	7.061	BB	0.0549	96.08507	26.78486	0.00341
6	8.293	PV	0.0641	58.37951	14.77722	0.00207
7	8.486	VB	0.0767	24.19147	4.57236	0.00086
8	11.299	BB	0.0731	26.13327	5.53528	0.00093
9	11.910	BB	0.0794	191.50253	38.23875	0.00679
10	14.920	BB	0.0875	54.20517	9.66185	0.00192
11	18.860	PB	0.1066	29.94726	4.44336	0.00106

Totals : 2.82077e6 8.17677e5

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

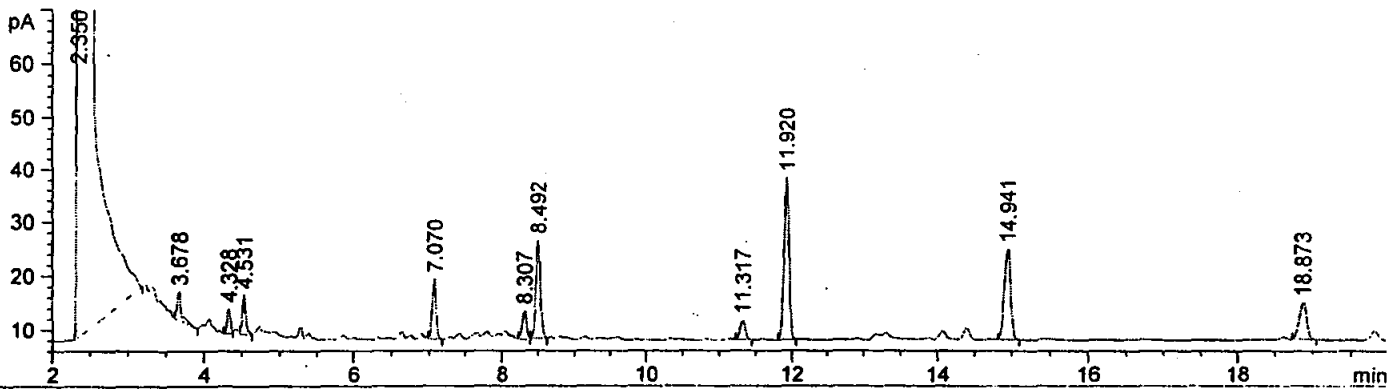
Data File D:\DATA\TUTU15JUNE001.D

Sample Name: SA 50% 40 menit

10 mikroliter

.....
 Injection date : 15/6/12 8:59:52 AM
 Sample Name : SA PWM 50% 40 menit (1) Location : vial 1
 Acq. Operator : Tuti Inj : 1
 Inj Volume : manually
 Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 2/6/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



=====
 Area Percent Report
 =====

Integrator : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Attenuation : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.350	PB S	0.0567	2.53073e6	7.82312e5	99.97982
2	3.678	VP	0.0514	19.58931	5.39469	0.00077
3	4.328	VV	0.0485	14.36031	4.71555	0.00057
4	4.531	VV	0.0489	24.67474	7.40008	0.00097
5	7.070	VB	0.0564	42.02644	11.29471	0.00166
6	8.307	BV	0.0620	21.61192	5.36818	0.00085
7	8.492	VP	0.0651	78.89038	18.36213	0.00312
8	11.317	PB	0.0722	17.21104	3.63863	0.00068
9	11.920	BB	0.0769	148.78989	30.49529	0.00588
10	14.941	BB	0.0864	98.02687	16.95553	0.00387
11	18.873	PB	0.0965	45.54933	6.95048	0.00180

Area 1 : 2.53124e6 7.82422e5

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***

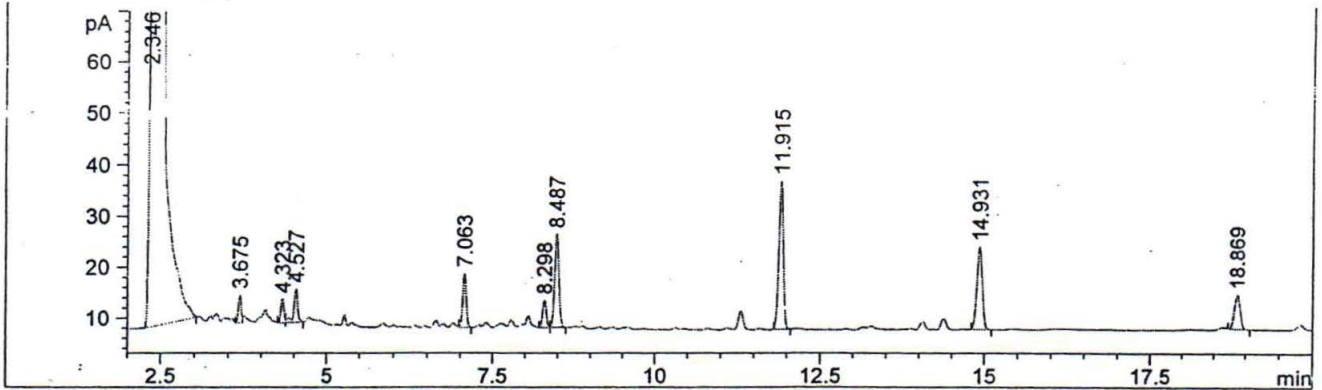
Data File D:\DATA\TUTI\15JUNE002.D

Sample Name: SA 50% 40 menit

10 mikroliter

.....
 Injection date : 15/6/12 11:20:12 AM
 Sample Name : SA PWM 50% 40 menit (2) Location : vial 1
 Acq. Operator : Tuti Inj : 1
 Inj Volume : manually
 Acq. Method : C:\HPCHEM2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 2/6/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.346	PB S	0.0596	2.69783e6	7.94734e5	99.98192
2	3.675	VV	0.0443	17.02104	5.47598	0.00063
3	4.323	VV	0.0479	14.60580	4.74740	0.00054
4	4.527	VP	0.0608	26.82417	6.69037	0.00099
5	7.063	VB	0.0560	40.06671	10.86263	0.00148
6	8.298	VV	0.0634	21.83461	5.48709	0.00081
7	8.487	VP	0.0677	80.77349	18.58836	0.00299
8	11.915	BP	0.0765	146.35670	29.70669	0.00542
9	14.931	BB	0.0924	95.09681	16.69844	0.00352
10	18.869	PP	0.1041	45.31008	7.04112	0.00168

Totals : 2.69832e6 7.94839e5

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***

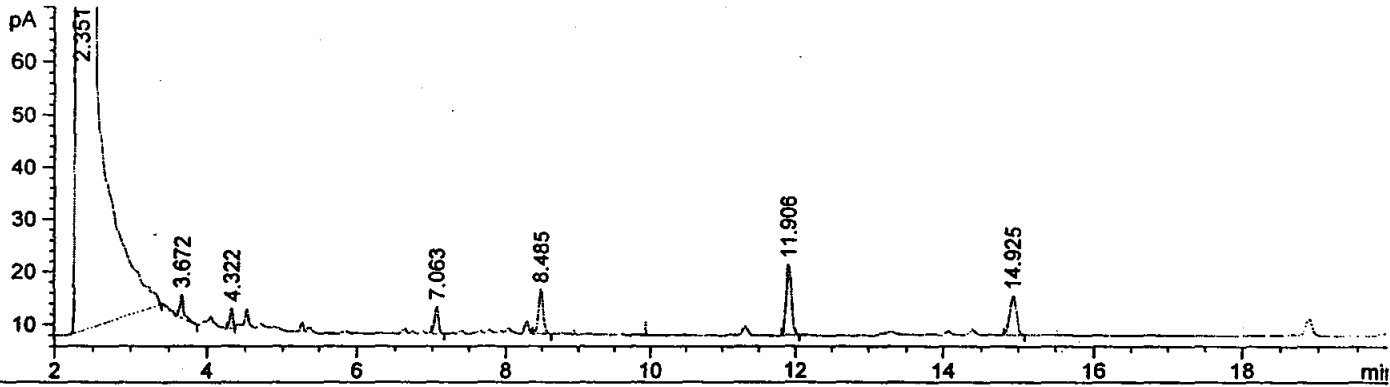
Data File D:\DATA\TUTU18JUNE001.D

Sample Name: SA 75% 40 menit

10 mikroliter

.....
 Injection date : 18/6/12 9:25:12 AM
 Sample Name : SA PWM 75% 40 menit (1) Location : vial 1
 Acq. Operator : Tuti Inj : 1
 Inj Volume : manually
 Acq. Method : C:\HPCHEM2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 2/4/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.351	PB S	0.0567	2.37109e6	7.15509e5	99.99191
2	3.672	PP	0.0497	15.37070	4.52155	0.00065
3	4.322	PV	0.0430	11.17872	3.95427	0.00047
4	7.063	BB	0.0538	19.14913	5.22105	0.00081
5	8.485	VP	0.0674	37.43069	8.33236	0.00158
6	11.906	BB	0.0771	66.39068	13.33263	0.00280
7	14.925	BB	0.0908	42.30231	7.38586	0.00178

Totals : 2.37128e6 7.15552e5

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***

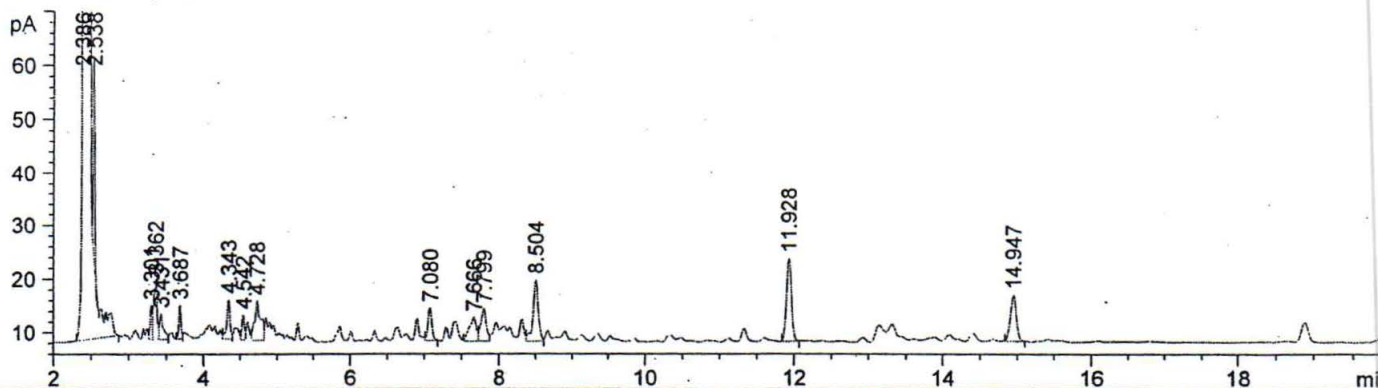
Data File D:\DATA\TUTM18JUNE002.D

Sample Name: SA 75% 40 menit

10 mikroliter

.....
 Injection date : 18/6/12 12:57:16 AM
 Sample Name : SA PWM 75% 40 menit (2) Location : vial 1
 Acq. Operator : Tuti Inj : 1
 Inj Volume : manually
 Acq. Method : C:\HPCHEM2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 2/4/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.386	BB S	0.0334	1.05794e6	5.05050e5	99.95513
2	2.538	BV X	0.0256	61.54053	38.61803	0.00581
3	3.301	VV	0.0264	11.11963	6.34468	0.00105
4	3.362	VV	0.0449	36.25542	11.15686	0.00343
5	3.431	VV	0.0495	17.61708	4.84038	0.00166
6	3.687	VV	0.0312	12.39398	6.23446	0.00117
7	4.343	VV	0.0451	22.53080	7.48869	0.00213
8	4.542	VV	0.0363	10.88590	4.65511	0.00103
9	4.728	VV	0.0758	42.69836	7.35128	0.00403
10	7.080	BB	0.0546	21.47072	6.17250	0.00203
11	7.666	VV	0.0865	28.47102	4.51678	0.00269
12	7.799	VV	0.0744	31.65995	6.11373	0.00299
13	8.504	VV	0.0707	56.00283	11.53106	0.00529
14	11.928	BB	0.0766	75.21516	15.50990	0.00711
15	14.947	PB	0.0837	47.03786	8.61290	0.00444

Totals : 1.05842e6 5.05190e5

Results obtained with enhanced integrator! Laporan Penelitian Pendayagunaan Instrumen PDI-LED...

Suryani Dyah Astuti

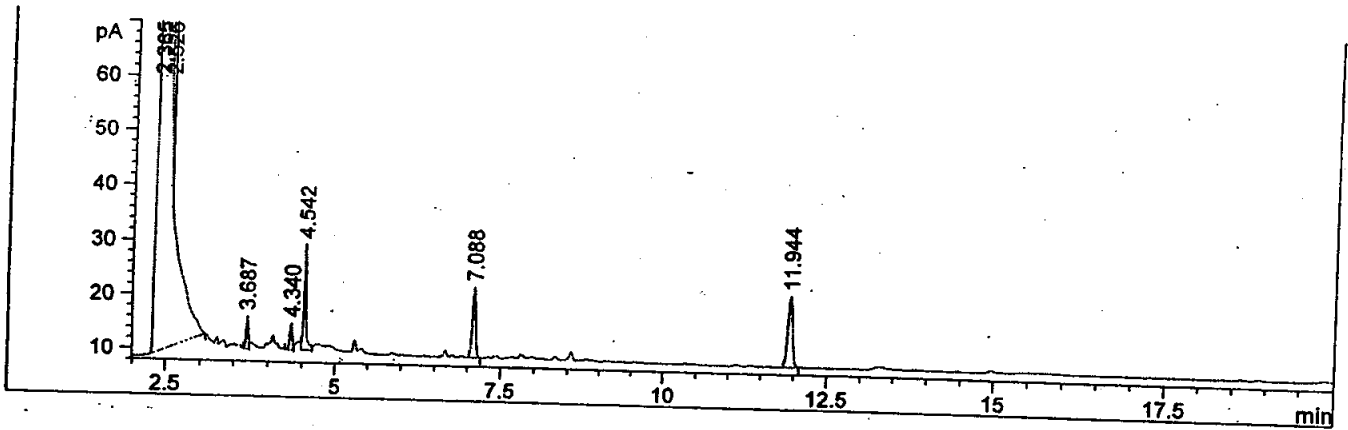
Data File D:\DATA\TUTRI118JUNE001.D

Sample Name: SA 100% 40 menit

10 mikroliter

.....
 Injection date : 18/6/12 9:59:52 AM
 Sample Name : SA PWM100% 40 menit (1) Location : vial 1
 Acq. Operator : Tuti Inj : 1
 Inj Volume : manually
 Acq. Method : C:\HPCHEM2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 4/6/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.365	PB S	0.0503	2.08330e6	7.07585e5	99.98685
2	2.526	BB X	0.0446	77.84801	27.88626	0.00374
3	3.687	VV	0.0381	14.67905	6.09235	0.00070
4	4.340	VV	0.0417	13.30483	5.04802	0.00064
5	4.542	VV	0.0458	58.64207	19.64635	0.00281
6	7.088	BB	0.0528	43.75540	13.16583	0.00210
7	11.944	BB	0.0773	65.68510	13.15098	0.00315

Totals : 2.08357e6 7.07670e5

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***

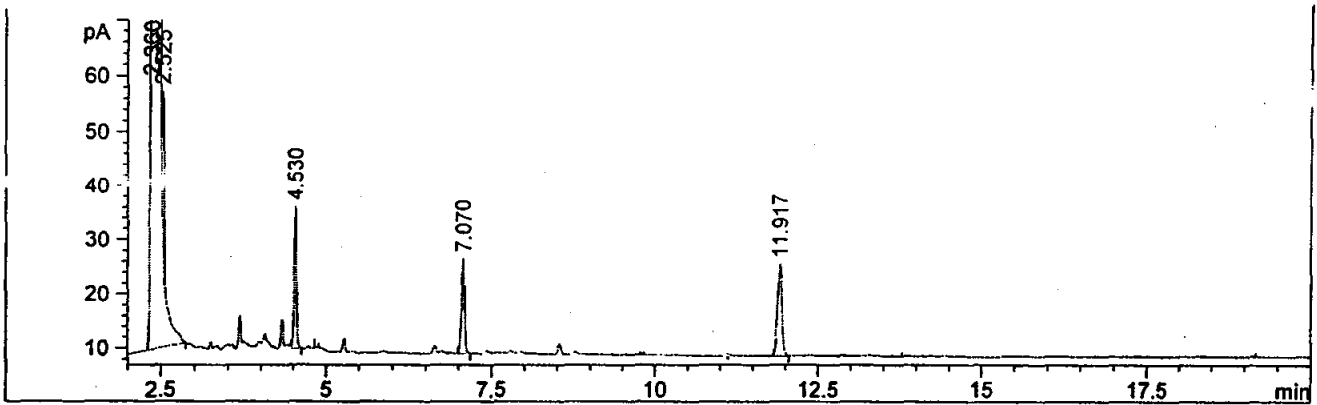
Data File D:\DATA\TUTU118JUNE002.D

Sample Name: SA 100% 40 menit

10 mikroliter

.....
 Injection date : 18/6/12 01:02:13 AM
 Sample Name : SA PWM100% 40 menit (2) Location : vial 1
 Acq. Operator : Tuti Inj : 1
 Inj Volume : manually
 Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\FAME-ULP.M
 Last changed : 4/6/12 2:41:18 PM by tuti
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CUCI-KOL.M
 Last changed : 3/26/12 1:16:56 PM by imam
 (modified after loading)

Method for cooling



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier : 1.0000
 Dilution : 1.0000

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	2.360	BB S	0.0473	2.05158e6	7.19664e5	99.98693
2	2.525	BB X	0.0385	61.31157	26.02668	0.00299
3	4.530	VB	0.0396	66.88460	26.33702	0.00326
4	7.070	BB	0.0516	58.20558	17.57193	0.00284
5	11.917	BB	0.0735	81.74850	16.87301	0.00398

Totals : 2.05185e6 7.19750e5

Results obtained with enhanced integrator!

=====
 *** End of Report ***

LAMPIRAN VII.3

HASIL ANALISIS STATISTIK

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test				
		Miristat	Palmitat	Laurat
N		10	10	10
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	58.9944	62.7766	140.1304
	Std. Deviation	37.86787	34.80962	63.19725
Most Extreme Differences	Absolute	.214	.208	.222
	Positive	.202	.208	.222
	Negative	-.214	-.201	-.182
Kolmogorov-Smirnov Z		.678	.657	.703
Asymp. Sig. (2-tailed)		.748	.782	.707
a. Test distribution is Normal.				
b. Calculated from data.				

Oneway

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Miristat	kontrol	2	99.2874	1.31437	.92940	87.4783	111.0965	98.36	100.22
	SA25%40'	2	96.1394	4.64718	3.28605	54.3861	137.8926	92.85	99.43
	SA50%40'	2	25.7495	1.51993	1.07475	12.0935	39.4054	24.67	26.82
	SA75%40'	2	11.0323	.20704	.14640	9.1721	12.8925	10.89	11.18
	SA100%40'	2	62.7634	5.82833	4.12125	10.3979	115.1288	58.64	66.88
	Total	10	58.9944	37.86787	11.97487	31.9053	86.0834	10.89	100.22
Palmitat	kontrol	2	107.4288	2.64536	1.87055	83.6612	131.1963	105.56	109.30
	SA25%40'	2	94.1172	2.78303	1.96790	69.1127	119.1217	92.15	96.09
	SA50%40'	2	41.0465	1.38572	.97985	28.5964	53.4967	40.07	42.03
	SA75%40'	2	20.3099	1.64162	1.16080	5.5605	35.0593	19.15	21.47
	SA100%40'	2	50.9805	10.21783	7.22510	-40.8231	142.7841	43.76	58.21
	Total	10	62.7766	34.80962	11.00777	37.8753	87.6779	19.15	109.30
Laurat	kontrol	2	218.0974	1.68525	1.19165	202.9561	233.2388	216.91	219.29
	SA25%40'	2	190.4617	1.47191	1.04080	177.2371	203.6863	189.42	191.50
	SA50%40'	2	147.5733	1.72053	1.21660	132.1149	163.0317	146.36	148.79
	SA75%40'	2	70.8030	6.23986	4.41225	14.7400	126.8659	66.39	75.22
	SA100%40'	2	73.7168	11.35854	8.03170	-28.3356	175.7692	65.69	81.75
	Total	10	140.1304	63.19725	19.98473	94.9218	185.3390	65.69	219.29

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Miristat	.	4	.	.
Palmitat	.	4	.	.
Laurat	4.863E15	4	5	.000

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Miristat	Between Groups	12846.136	4	3211.534	269.215	.000
	Within Groups	59.646	5	11.929		
	Total	12905.782	9			
Palmitat	Between Groups	10781.623	4	2695.406	108.894	.000
	Within Groups	123.762	5	24.752		
	Total	10905.385	9			
Laurat	Between Groups	35769.118	4	8942.279	254.159	.000
	Within Groups	175.919	5	35.184		
	Total	35945.037	9			

Robust Tests of Equality of Means					
		Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Miristat	Welch	1226.823	4	2.044	.001
	Brown-Forsythe	269.215	4	2.184	.002
Palmitat	Welch	297.319	4	2.407	.001
	Brown-Forsythe	108.894	4	1.390	.031
Laurat	Welch	354.902	4	2.408	.001
	Brown-Forsythe	254.159	4	1.702	.008

a. Asymptotically F distributed.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons								
Dependent Variable		(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
Miristat	Tukey HSD	kontrol	SA25%40'	3.14805	3.45387	.881	-10.7072	17.0033
			SA50%40'	73.53795*	3.45387	.000	59.6827	87.3932
			SA75%40'	88.25510*	3.45387	.000	74.3999	102.1103
			SA100%40'	36.52405*	3.45387	.001	22.6688	50.3793
		SA25%40'	kontrol	-3.14805	3.45387	.881	-17.0033	10.7072
			SA50%40'	70.38990*	3.45387	.000	56.5347	84.2451
			SA75%40'	85.10705*	3.45387	.000	71.2518	98.9623
			SA100%40'	33.37600*	3.45387	.001	19.5208	47.2312
		SA50%40'	kontrol	-73.53795*	3.45387	.000	-87.3932	-59.6827
			SA25%40'	-70.38990*	3.45387	.000	-84.2451	-56.5347
			SA75%40'	14.71715*	3.45387	.040	.8619	28.5724
			SA100%40'	-37.01390*	3.45387	.001	-50.8691	-23.1587
		SA75%40'	kontrol	-88.25510*	3.45387	.000	-102.1103	-74.3999
			SA25%40'	-85.10705*	3.45387	.000	-98.9623	-71.2518

		SA100%40'	SA50%40'	-14.71715*	3.45387	.040	-28.5724	-.8619	
			SA100%40'	-51.73105*	3.45387	.000	-65.5863	-37.8758	
			kontrol	-36.52405*	3.45387	.001	-50.3793	-22.6688	
			SA25%40'	-33.37600*	3.45387	.001	-47.2312	-19.5208	
			SA50%40'	37.01390*	3.45387	.001	23.1587	50.8691	
			SA75%40'	51.73105*	3.45387	.000	37.8758	65.5863	
	Games-Howell	kontrol	SA25%40'	3.14805	3.41495	.867	-60.0159	66.3120	
			SA50%40'	73.53795*	1.42087	.001	62.3403	84.7356	
			SA75%40'	88.25510*	.94086	.012	66.3980	110.1122	
			SA100%40'	36.52405	4.22475	.130	-51.0361	124.0842	
		SA25%40'	kontrol	-3.14805	3.41495	.867	-66.3120	60.0159	
			SA50%40'	70.38990*	3.45734	.040	12.1696	128.6102	
			SA75%40'	85.10705	3.28931	.050	-.2686	170.4827	
			SA100%40'	33.37600	5.27094	.079	-9.5686	76.3206	
		SA50%40'	kontrol	-73.53795*	1.42087	.001	-84.7356	-62.3403	
			SA25%40'	-70.38990*	3.45734	.040	-128.6102	-12.1696	
			SA75%40'	14.71715	1.08468	.090	-11.2311	40.6654	
			SA100%40'	-37.01390	4.25908	.123	-119.4298	45.4020	
		SA75%40'	kontrol	-88.25510*	.94086	.012	-110.1122	-66.3980	
			SA25%40'	-85.10705	3.28931	.050	-170.4827	.2686	
			SA50%40'	-14.71715	1.08468	.090	-40.6654	11.2311	
			SA100%40'	-51.73105	4.12385	.104	-159.1635	55.7014	
		SA100%40'	kontrol	-36.52405	4.22475	.130	-124.0842	51.0361	
			SA25%40'	-33.37600	5.27094	.079	-76.3206	9.5686	
			SA50%40'	37.01390	4.25908	.123	-45.4020	119.4298	
			SA75%40'	51.73105	4.12385	.104	-55.7014	159.1635	
		Palmitat	kontrol	SA25%40'	13.31155	4.97519	.190	-6.6464	33.2695
				SA50%40'	66.38220*	4.97519	.000	46.4242	86.3402
				SA75%40'	87.11885*	4.97519	.000	67.1609	107.0768
				SA100%40'	56.44825*	4.97519	.001	36.4903	76.4062
			SA25%40'	kontrol	-13.31155	4.97519	.190	-33.2695	6.6464
				SA50%40'	53.07065*	4.97519	.001	33.1127	73.0286
				SA75%40'	73.80730*	4.97519	.000	53.8493	93.7653
				SA100%40'	43.13670*	4.97519	.002	23.1787	63.0947
			SA50%40'	kontrol	-66.38220*	4.97519	.000	-86.3402	-46.4242
				SA25%40'	-53.07065*	4.97519	.001	-73.0286	-33.1127
				SA75%40'	20.73665*	4.97519	.043	.7787	40.6946
				SA100%40'	-9.93395	4.97519	.381	-29.8919	10.0240
			SA75%40'	kontrol	-87.11885*	4.97519	.000	-107.0768	-67.1609
				SA25%40'	-73.80730*	4.97519	.000	-93.7653	-53.8493
SA50%40'				-20.73665*	4.97519	.043	-40.6946	-.7787	
SA100%40'				-30.67060*	4.97519	.009	-50.6286	-10.7126	
SA100%40'			kontrol	-56.44825*	4.97519	.001	-76.4062	-36.4903	
			SA25%40'	-43.13670*	4.97519	.002	-63.0947	-23.1787	
			SA50%40'	9.93395	4.97519	.381	-10.0240	29.8919	
			SA75%40'	30.67060*	4.97519	.009	10.7126	50.6286	
Games-Howell	kontrol		SA25%40'	13.31155	2.71507	.117	-7.6403	34.2634	
			SA50%40'	66.38220*	2.11165	.011	42.5743	90.1901	
			SA75%40'	87.11885*	2.20146	.005	65.7969	108.4408	

		SA100%40'	56.44825	7.46331	.144	-88.5203	201.4168
		kontrol	-13.31155	2.71507	.117	-34.2634	7.6403
	SA25%40'	SA50%40'	53.07065*	2.19835	.018	27.0885	79.0528
		SA75%40'	73.80730*	2.28475	.008	50.6862	96.9284
		SA100%40'	43.13670	7.48830	.191	-98.3937	184.6671
		kontrol	-66.38220*	2.11165	.011	-90.1901	-42.5743
	SA50%40'	SA25%40'	-53.07065*	2.19835	.018	-79.0528	-27.0885
		SA75%40'	20.73665*	1.51907	.018	8.6630	32.8103
		SA100%40'	-9.93395	7.29124	.728	-184.4945	164.6266
		kontrol	-87.11885*	2.20146	.005	-108.4408	-65.7969
	SA75%40'	SA25%40'	-73.80730*	2.28475	.008	-96.9284	-50.6862
		SA50%40'	-20.73665*	1.51907	.018	-32.8103	-8.6630
		SA100%40'	-30.67060	7.31775	.290	-199.8864	138.5452
		kontrol	-56.44825	7.46331	.144	-201.4168	88.5203
	SA100%40'	SA25%40'	-43.13670	7.48830	.191	-184.6671	98.3937
		SA50%40'	9.93395	7.29124	.728	-164.6266	184.4945
		SA75%40'	30.67060	7.31775	.290	-138.5452	199.8864
		SA25%40'	27.63575*	5.93160	.028	3.8411	51.4304
		SA50%40'	70.52415*	5.93160	.000	46.7295	94.3188
	kontrol	SA75%40'	147.29450*	5.93160	.000	123.4999	171.0891
		SA100%40'	144.38065*	5.93160	.000	120.5860	168.1753
		kontrol	-27.63575*	5.93160	.028	-51.4304	-3.8411
	SA25%40'	SA50%40'	42.88840*	5.93160	.004	19.0938	66.6830
		SA75%40'	119.65875*	5.93160	.000	95.8641	143.4534
		SA100%40'	116.74490*	5.93160	.000	92.9503	140.5395
		kontrol	-70.52415*	5.93160	.000	-94.3188	-46.7295
	SA50%40'	SA25%40'	-42.88840*	5.93160	.004	-66.6830	-19.0938
		SA75%40'	76.77035*	5.93160	.000	52.9757	100.5650
		SA100%40'	73.85650*	5.93160	.000	50.0619	97.6511
		kontrol	-147.29450*	5.93160	.000	-171.0891	-123.4999
	SA75%40'	SA25%40'	-119.65875*	5.93160	.000	-143.4534	-95.8641
		SA50%40'	-76.77035*	5.93160	.000	-100.5650	-52.9757
		SA100%40'	-2.91385	5.93160	.985	-26.7085	20.8808
		kontrol	-144.38065*	5.93160	.000	-168.1753	-120.5860
	SA100%40'	SA25%40'	-116.74490*	5.93160	.000	-140.5395	-92.9503
		SA50%40'	-73.85650*	5.93160	.000	-97.6511	-50.0619
		SA75%40'	2.91385	5.93160	.985	-20.8808	26.7085
		SA25%40'	27.63575*	1.58218	.011	15.2059	40.0656
		SA50%40'	70.52415*	1.70298	.002	57.4148	83.6335
	kontrol	SA75%40'	147.29450*	4.57034	.027	60.5080	234.0810
		SA100%40'	144.38065	8.11962	.067	-46.7197	335.4810
		kontrol	-27.63575*	1.58218	.011	-40.0656	-15.2059
	SA25%40'	SA50%40'	42.88840*	1.60106	.005	30.2248	55.5520
		SA75%40'	119.65875*	4.53334	.037	27.5314	211.7861
		SA100%40'	116.74490	8.09886	.085	-78.6359	312.1257
		kontrol	-70.52415*	1.70298	.002	-83.6335	-57.4148
	SA50%40'	SA25%40'	-42.88840*	1.60106	.005	-55.5520	-30.2248
		SA75%40'	76.77035	4.57691	.057	-9.1383	162.6790
		SA100%40'	73.85650	8.12332	.134	-116.5006	264.2136

	SA75%40'	kontrol	-147.29450*	4.57034	.027	-234.0810	-60.5080
		SA25%40'	-119.65875*	4.53334	.037	-211.7861	-27.5314
		SA50%40'	-76.77035	4.57691	.057	-162.6790	9.1383
		SA100%40'	-2.91385	9.16385	.995	-101.7938	95.9661
	SA100%40'	kontrol	-144.38065	8.11962	.067	-335.4810	46.7197
		SA25%40'	-116.74490	8.09886	.085	-312.1257	78.6359
		SA50%40'	-73.85650	8.12332	.134	-264.2136	116.5006
		SA75%40'	2.91385	9.16385	.995	-95.9661	101.7938

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Miristat						
	perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Tukey HSD ^a	SA75%40'	2	11.0323			
	SA50%40'	2		25.7495		
	SA100%40'	2			62.7634	
	SA25%40'	2				96.1394
	kontrol	2				99.2874
	Sig.			1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Palmitat					
	perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	SA75%40'	2	20.3099		
	SA50%40'	2		41.0465	
	SA100%40'	2		50.9805	
	SA25%40'	2			94.1172
	kontrol	2			107.4288
	Sig.			1.000	.381

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Laurat						
	perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Tukey HSD ^a	SA75%40'	2	70.8030			
	SA100%40'	2	73.7168			
	SA50%40'	2		147.5733		
	SA25%40'	2			190.4617	
	kontrol	2				218.0974
	Sig.			.985	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

LAMPIRAN VIII

FOTO PENELITIAN

Pengkulturan bakteri *Vibrio cholerae* dan Penyinaran dengan LED biru 430 nm

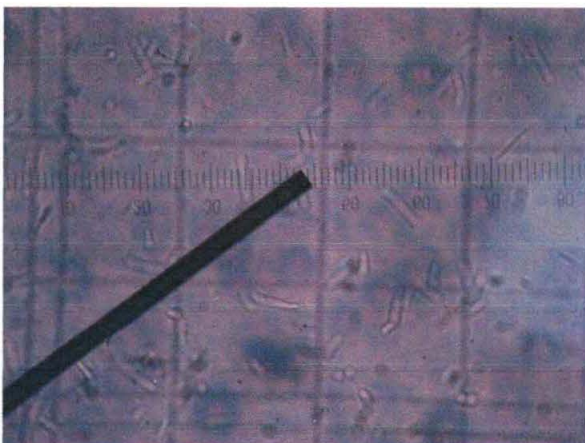


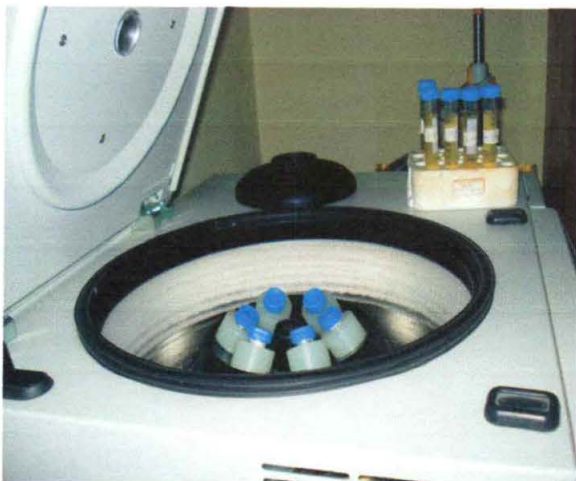
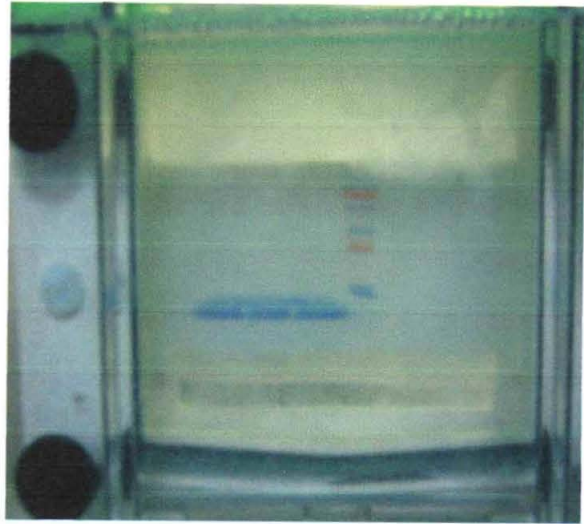
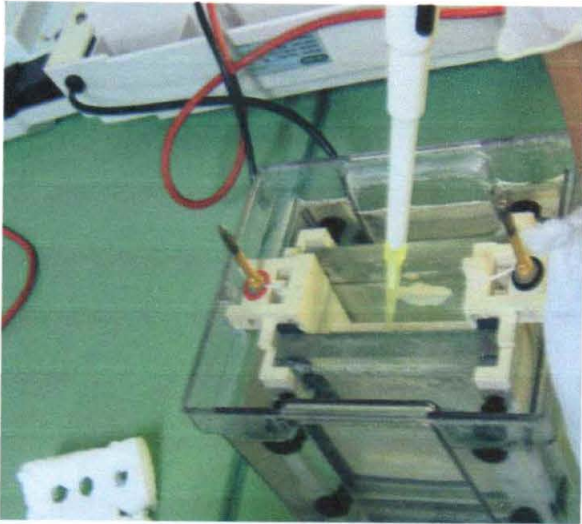
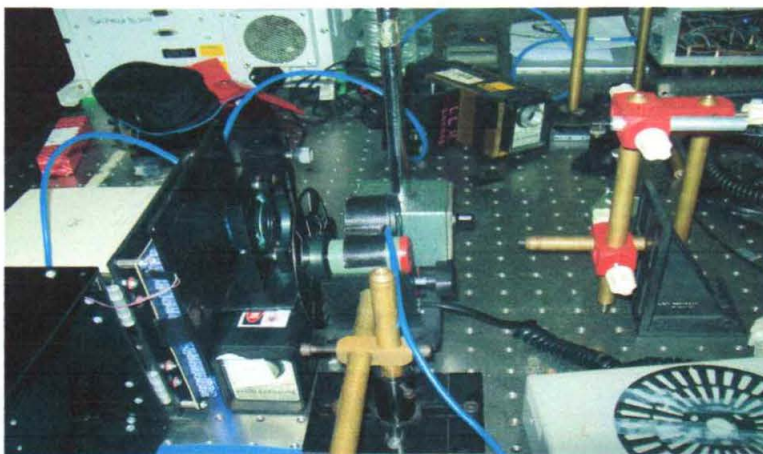
FOTO PENELITIAN**Preparasi sampel dan uji SDS-Page**

FOTO PENELITIAN

Kalibrasi instrumen LED



RIWAYAT HIDUP PENELITI UTAMA

Nama Lengkap : Dr. Suryani Dyah Astuti, S.Si., M.Si
 NIP/NIDN : 196908041994122001/0008046902
 Tempat/tanggal lahir : Klaten/04-08-1969
 Jenis kelamin : Perempuan
 Bidang keahlian : Instrumentasi Biofisika
 Kantor/Unit kerja : FST Universitas Airlangga
 Alamat Kantor : kampus C Unair Jl. Mulyorejo Surabaya 60115
 Telepon/Fax : 031-5936501/031-5936502
 Alamat rumah : Citra Pesona Buduran Blok B2 no.9 Sidoarjo Jawa Timur 61252
 Telepon/HP/fax : 031-8066236/08155506329/-
 E-mail : suryanidyah@yahoo.co.id

Pendidikan

No	Tempat Pendidikan	Kota/negara	Tahun lulus	Bidang Studi
1.	S-1, Universitas Gadjah Mada	Yogyakarta	2004	Fisika
2.	S-2, Institut Teknologi Bandung	Bandung	1999	Fisika
3.	S-3, Universitas Airlangga	Surabaya	2011	Ilmu MIPA

Pengalaman kerja profesional serta kedudukan saat ini

INSTITUSI	JABATAN	PERIODE KERJA
Universitas Airlangga	Dosen	1994-sekarang

Pengalaman Riset

Tahun	Judul Penelitian	Ketua/anggota	Sumber Dana
2000	Karakteristik Keramik Dengan Metode Spektroskopi Defleksi Fototermal	Anggota Tim	DIK Suplemen
2000	Seismik Tomografi V dengan Metode Inversi ART untuk Merekonstruksi Struktur Lapisan Batuan Bumi	Ketua Tim	DIP Rutin
2001	A New Rehabilitation Method of Dementia with Transcutaneous Electrical Stimulation Through Qing Ming Point	Ketua	JSPS-DIKTI
2002	Penentuan Dosis Serap Dan Faktor Build-up Pada Sumber Radiasi Pemancar Foton Dengan Metode Monte Carlo	Ketua Tim	DIK Suplemen
2002	Identifikasi Kadar Mineral Material Gigi Berdasarkan Kondisi dan Usia Dengan Metode Difraksi Sinar-X (XRD)	Anggota Tim	DIK Suplemen
2003	Analisis Profil Potensial Listrik Titik Akupunktur Sebagai Indikator Disfungsi Organ	Anggota Tim	DIK Rutin

2003	Analisis Profil Potensial Listrik Titik Akupunktur Sebagai Indikator Kelainan Fungsional Organ	Anggota Tim	LITMUD
2004	Optimasi Elektro-stimulator Dengan Tampilan Digital Untuk Meningkatkan Efektifitas Terapi Akupunktur	Ketua Tim	LITMUD
2005	Identifikasi Mineral Magnetik Pada Sedimen DAS Brantas Dengan Metode XRD dan SEM/EDX	Anggota Tim	LITMUD
2005	Pendayagunaan Spektrometri Gama Untuk Penentuan Distribusi Radionuklida Pada Sedimen DAS Brantas	Anggota Tim	LITMUD
2006	Optimasi Elektroakupunktur untuk mengendalikan kadar gula dari mencit	Ketua Tim	Riset Grant A-2
2007	Analisis Pengaruh Pemberian Medan Magnet Pada Saluran Bahan Bakar Terhadap Emisi Gas Buang	Anggota Tim	DIPA-Unair
2007	Analisis Pengaruh Pemaparan Gelombang Ultrasonik dan Gelombang Mikro Untuk Mempercepat Reaksi Transesterifikasi Minyak Jarak Pada Pembuatan Biodiesel	Anggota Tim	Riset Grant A-2
2008	Karakterisasi Potensi Photodamage Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Dengan Menggunakan Light Emitting Diode (LED) Biru	Ketua	Hibah Penelitian Program Doktor
2009	Optimasi Dosis Energi <i>Light Emitting Diode</i> (LED) Biru Terhadap Potensi <i>Photodamage</i> Bakteri <i>Vibrio Cholerae</i>	Ketua Tim	Hibah penelitian Sesuai Prioritas Nasional Batch II
2011	Pendayagunaan Instrumen PDI-LED Untuk Optimasi Photodinamik Inaktivasi Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> Dengan Eksogen <i>5-Aminolevulinic Acid</i>	Ketua Tim	Hibah Bersaing

Publikasi hasil penelitian

No.	Judul	Majalah/Prosiding Seminar	Tahun
1	A New Rehabilitation Method of Dementia with Transcutaneous Electrical Stimulation Through Qing Ming Point	Seminar hasil penelitian JSPS di Nagaoka, Niigata	Dec 2001
2	Spektroskopi Defleksi Fototermal Untuk Karakterisasi Aluminium	Jurnal MIPA vol. 8 no.1	April 2003
3	Pengukuran Radioaktivitas Dan Kadar Kation Pada Mata Air Daerah Berkapur Di Ponorogo	Jurnal Kimia Lingkungan, vol.6 no.1	Agustus 2004
4	Pengaruh Ozonisasi Terhadap Peningkatan Kualitas Limbah Organik Cair	Prosiding Seminar Nasional Kimia Lingkungan VII	Mei 2005
5	Optimasi Elektroakupunktur Untuk Efektivitas Terapi Akupunktur	Seminar Nasional Hasil Penelitian Dosen Muda	Mei 2005
6	Rancang Bangun Elektrostimulator Dengan Tampilan Frekuensi dan Intensitas Secara Digital Untuk Meningkatkan Efektifitas Terapi Akupunktur	Seminar Nasional Basic Science II	Juli 2006
7	Optimization of Electroaccupuncture to Control Blood Sugar Level of Mice	International Seminar of Basic Science	August 2007

8	The Optimal Lethal Dose of Blue Light (454 nm) Exposure with Light Emitting Diodes (LED) Device in <i>Staphylococcus Aureus</i>	ICORAFSS University Technology malaysia	June 2009
9	Potensi Photodinamik Inaktivasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Dengan Endogen Photosensitizer Pada Penyinaran LED Biru (429,8 ± 3,7)nm Dan Merah (628.7 ± 6.3) nm	Basic Science National Seminar VII Universitas Brawijaya	February 2010
10	Photodinamik Inaktivasi Bakteri Gram Positif (<i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Staphylococcus epidermidis</i>) Dengan Endogen Photosensitizer Pada Penyinaran LED biru (429,8 ± 3,7) nm	Seminar Nasional Fisika II	July, 2010
11	Potensi Photodinamik Inaktivasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Vibrio Cholerae</i> Dengan Endogen Photosensitizer Pada Penyinaran LED Biru (429,8 ± 3,7)nm Dan Merah (628.7 ± 6.3) nm	Jurnal Berkala Penelitian Hayati terakreditasi, SK DIKTI no. 43/DIKTI/Kep./2008, Vol 12 no.2	Juni 2011
12	Potensi blue LED untuk Fotoinaktivasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan porfirin endogen	Jurnal Biosains Pascasarjana Vol.13 no.3	Sept 2011
13	Effect of Exogenous ALA to Increase the Production of Endogenous Porphyrin <i>Staphylococcus aureus</i> Bacteria For Applying Photodynamic Inactivation of Bacteria	The Third International Conference and workshops on Basic and Applied Sciences (Icowobas)	Sept, 2011
14	Optimasi Dosis Energi Penyinaran LED Biru (430 nm) Untuk Fotoinaktivasi Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Prosiding Seminar Nasional Fisika Terapan	Sept, 2012

Surabaya, Oktober 2012
Ketua Peneliti,



Dr. Suryani Dyah Astuti, S.Si, M.Si
NIP: 196908041994122001

RIWAYAT HIDUP PENELITI II

Nama : Drs. Agus Supriyanto, M.Kes.
 Nip/NIDN : 196208241989031002/0024086208
 Jenis kelamin : Laki-laki
 Jabatan/gol : Lektor / III-d
 Jurusan/Fakultas : Biologi/Sain dan Teknologi
 Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
 Alamat : Kampus C. Mulyorejo Surabaya
 Bidang Keahlian : Mikrobiologi

Riwayat pendidikan

No	Tempat Pendidikan	Kota/negara	Tahun lulus	Bidang Studi
1.	S-1, Universitas Jend. Sudirman	Purwokerto	1985	Biologi
2.	S-2, Universitas Airlangga	Bandung	2001	Biologi

Pelatihan

1. Kursus singkat Fisiologi Mikroba th 1989. PAU Bioteknologi UGM Yogyakarta.
2. Kursus singkat fermentasi Antibiotika th 1990. PAU Bioteknologi UGM Yogyakarta.
3. Pelatihan fermentasi Ensim th 1993. IPB Bogor.
4. Pelatihan Rekayasa Genetika th 1994. IPB Bogor.
5. Pelatihan Research and Public Service th 1995. LPM UGM Yogyakarta.
6. Pelatihan Kapang Kontaminan Udara th 1997. Biologi UI Jakarta.
7. Pelatihan Mikrobiologi untuk Dosen PTN Jawa dan Bali. FMIPA IPB Bogor.

Narasumber

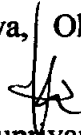
1. Pelatihan Analisis Mikrobiologi th 2001. PT OTSUKA INDONESIA.
2. Pelatihan Tenaga Kesehatan masyarakat bidang Mikrobiologi Kesehatan th 2001. BTKL Depkes.
3. Pelatihan Pengelolaan Limbah secara Mikrobiologi th 2002. BTKL Depkes.
4. Semiloka Quality Control Research and Development Mikroba th 2002. BEM Biologi FMIPA Unair.
5. Training Kontrol Kualits Air Isi Ulang th 2003. Kelompok Studi Lingkungan FMIPA Unair.
6. The Isolation and identition Technique of microorganism In Food Sample th 2004. PT DIPA PHARMALAB INTERSAINS (OXOID).
7. Pelatihan Laboran Mikrobiologi th 2006. Teknik Kimia Univ Widya Mandala Surabaya.
8. The Safety Food Microbiology Application In HACCP th 2006. PT DIPA PHARMALAB INTERSAINS (OXOID).

9. Prospek Industri Fermentasi Berbasis Molase th 2006. Departemen Perindustrian dan Perdagangan.
10. Microbiology On Beverages Industry I th 2007. PT COCA COLA INDONESIA
11. Microbiology On Beverages Industry II th 2007. PT COCA COLA INDONESIA
12. Application of Microbiology th 2008. Teknik Kimia Univ Widya Mandala Surabaya.
13. Isolation and Identification Microorganism Technique. th 2008. PT DIPA PHARMALAB INTERSAINS (OXOID).

Penelitian

1. Biodegrasi Minyak oleh kapang Hasil Isolasi dari Pelabuhan Tg Perak Surabaya th 2000.
2. Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik dari saluran cerna unggas. Th 2000
3. Pengaruh molase terhadap pertumbuhan bakteri probiotik. Th 2001.
4. Biokonversi molase menjadi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Th 2001
5. Fermentasi etanol dari limbah domestic oleh *Zymomonas mobilis*. Th 2001
6. Fermentasi enzim amylase oleh *Aspergillus niger*. Th 2001
7. Uji potensi *Bacillus sp* sebagai penghasil enzim amylase. Th 2001
8. Isolasi bakteri lignoselulolitik dari tanah. Th 2003
9. Isolasi kapang lignoselulolitik dari limbah domestic. Th 2003
10. Isolasi bakteri penambat nitrogen dari hutan mangrove. Th 2004.
11. Karakterisasi bakteri penambat nitrogen dari limbah pertanian. Th 2004
12. Isolasi Rhizobium dari bintil akar tanaman kacang-kacangan. Th 2005
13. Karakterisasi mikroba dekomposer dari limbah domestik aktif biofertilizer. Th 2006
14. Isolasi mikroba dari lahan pertanian untuk biofertilizer. Th 2006
15. Formulasi biofertilizer untuk tanaman jagung. Th 2006
16. Pengaruh biofertilizer terhadap produktifitas padi. Th 2007
17. Uji potensi mikroba terhadap biodegradasi limbah pertanian. Th 2008
18. Biokonversi ampas tebu mejadi pupuk kompos dengan konsorsium mikroba. Th 2008.
19. Inokulasi rhizosfir tembakau dengan konsorsium mikroba rhizosfir terseleksi:
20. Upaya pengembangan teknologi budidaya tembakau yang efektif dan efisien. Th 2009.
21. Pendayagunaan Instrumen PDI-LED Untuk Optimasi Photodinamik Inaktivasi Bakteri *Vibrio cholerae* Dengan Eksogen 5-Aminolevulinic Acid, 2011-2012

Surabaya, Oktober 2012


Drs. Agus Supriyanto, M.Kes.
NIP. 196208241989031002

RIWAYAT HIDUP PENELITI III

Nama Lengkap : Dr. Eng. Kuwat Triyana
 NIP/NIDN : 196709141997021001/0014096703
 Tempat/tanggal lahir : Semarang, 14 September 1967
 Jenis kelamin : Laki-laki
 Bidang keahlian : Biomaterial
 Kantor/Unit kerja : FMIPA UGM
 Alamat Kantor : Sekip Utara BLS.21, Yogyakarta 55281
 Telepon/Fax : (0274) 545185
 Alamat rumah : Puri Niten Asri Kav. 36, Wedomartani Yogyakarta, 55584
 Telepon/HP/fax : (0274) 4462820 / 081578142020
 E-mail : triyana@ugm.ac.id

Pendidikan

UNIVERSITAS/INSTITUT DAN LOKASI	GELAR	TAHUN SELESAI	BIDANG STUDI
Graduate School of Engineering Sciences, Kyushu University	Dr.Eng	2004	Department of Applied Science for Electronic and Materials
Institut Teknologi Bandung	M.Si	1997	Fisika
Universitas Gadjah Mada	Drs.	1991	Fisika

Pengalaman Penelitian

Tahun	Judul Penelitian	Ketua/anggota Tim	Sumber Dana
2009-2010	Model Arus-Tegangan Sel Surya Organik Polimer P3HT:PCBM (Oktober 2009-Januari 2010 di <i>Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University, Japan.</i>)	Ketua	Sabbatical Leave Program-UGM 2009
2009	Rancang Bangun Gama Electronic Nose Generasi III (<i>γ-enose v.03</i>)	Ketua	Riset Unggulan Klaster UGM
2009	Rancang Bangun Sistem Sensor Rasa Berbasis Membran Selektif Ion (E-TONGUE).	Ketua	Hibah Unggulan Strategis Nasional (Rusnas)
2009	Peningkatan Unjuk Kerja Prototipe Alat Ukur Kadar Lateks (GAMA PROLAD).	Ketua	Program Inkubasi Industri UGM 2008
2008	Sistem Monitoring Cerdas Proses Fermentasi Berbasis Sistem Olfaktori Elektronik untuk Kendali Mutu Teh Hitam (Pengembangan Sistem Olfaktori Elektronik Generasi II (<i>γ-enose v.02</i>)).	Ketua	Program Inkubasi Industri UGM 2009
2008-2009	Kementerian Negara Riset dan Teknologi bidang Sumber Energi Baru dan Terbarukan, Inovasi Peningkatan Efisiensi Sel Surya Organik Melalui Penerapan Konsep Spectral Matching	Ketua	Program Insentif Riset Dasar RISTEK
2009-2009	Optimasi dan Fabrikasi Lapisan Tipis Semikonduktor Organik Copper Phthalocyanine sebagai Sensor Sensitif Gas NO ₂ yang Beroperasi Pada Suhu Ruang	Ketua Tim Peneliti Mitra (TPM)	Hibah Pekerti DIKTI, Universitas Haluoleo Kendari-Universitas Gadjah Mada,
2007-2008	Kajian Mekanisme Fisis dan Penentuan Parameter Internal untuk Meningkatkan Efisiensi Konversi Daya Listrik Sel Surya Organik	Ketua	Hibah Fundamental DIKTI,
2007-2008	Pengembangan Sel Surya Berbasis Material Nanokristal TiO ₂ dengan Senyawa Kompleks	Anggota Tim	Peneliti Hibah Pasca DIKTI

	Logam sebagai Sensitiser (Peneliti utama: Prof. Narsito).		
2006-2007	Studi Peningkatan Efisiensi Melalui Pengendalian Exiton Blocking Layer pada Sel Surya Organik Berbasis Phthalocyanine sebagai Sumber Energi Alternatif Terbarukan yang Ramah Lingkungan (Ketua Tim Peneliti Pengusul: Fahru Nurosyid, M.Si)	Ketua Tim Peneliti Mitra (TPM)	Hibah Pekerti DIKTI, Universitas Negeri Sebelas Maret-Universitas Gadjah Mada
2001-2002	Litbang pembuatan sistem olfaktori dengan larik sensor yang terintegrasi (Peneliti: Dr. Anwar Budianto dan Dr. Ika Puspitasari)	Ketua	Riset Unggulan
1999-2000	Pengaruh konsentrasi pembawa muatan pada waktu tanggap gas laspisan tipis polianilin (Peneliti utama: Dr. Roto)	Anggota Tim	Hibah Penelitian Fundamental DIKTI
1998-1999	Pengukuran konduktivitas listrik lapisan tipis polianilin (Peneliti: Dra. Chotimah, M.S)	Ketua	Program Penelitian, Anggaran Rutin UGM M.A.K. 5250
2011-2012	Pendayagunaan Instrumen PDI-LED Untuk Optimasi Photodinamik Inaktivasi Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> Dengan Eksogen 5-Aminolevulinic Acid	Anggota Tim	Hibah Bersaing DIKTI

Publikasi

A.Buku/Bab Buku/Jurnal

Tahun	Judul	Penerbit/Jurnal
2004	Effects of Different Materials Used for Internal Floating Electrode on the Photovoltaic Properties of Tandem Type Organic Solar Cell (<u>Kuwat Triyana</u> , T. Yasuda, K. Fujita dan T. Tsutsui)	<i>Jpn. J. Appl. Phys.</i> 43 (2004) 2352.
2005	Tandem type organic solar cells by stacking different heterojunction materials (<u>Kuwat Triyana</u> , T. Yasuda, K. Fujita dan T. Tsutsui)	<i>Thin Solid Films</i> , 477 (2005) 198.
2005	Improvement of heterojunction donor/acceptor organic photovoltaic devices by employing additional active layer (<u>Kuwat Triyana</u> , T. Yasuda, K. Fujita, dan T. Tsutsui)	<i>Jpn. J. Appl. Phys.</i> 44, 4A (2005) 100.
2001	Measurement of conductivity of polyaniline thin film under moisture and annealing condition (<u>Kuwat Triyana</u> dan Chotimah)	<i>Indonesian Journal of Physics</i> , 17, Vol. V (2001) 23.
2002	Influence of deposition time and substrate temperature of sputtering technique on conductivity of TiO ₂ thin film for a gas sensor application (Sudirman, <u>Kuwat Triyana</u> , dan Yunanto)	<i>Berkala Ilmiah MIPA</i> , 3, XII (2002) F-1.
2007	Prototype of Electronic Nose Based on Gas Sensors Array and Back Propagation Neural Network for Tea Classification (<u>Kuwat Triyana</u> , Arief Mashori, Bayu Prihantono Supardi, dan Muhammad Iqbal Aji Bharata)	<i>Berkala MIPA</i> , 17(3), September 2007.
2008	On the Dependency of Equivalent Circuit Parameters of Heterojunction Bilayer Copper Phthalocyanine/Perylene Photovoltaic Device on Light Intensity based on Reverse Bias Characteristic (<u>Kuwat Triyana</u> , Timothy Siahaan, Sholihun, Kamsul Abraha, and Muhamad Mat Salleh)	<i>IEEE International Conference on Semiconductor Electronics (ICSE)</i> ,
2009	Influence of Optical Filter Effect on Incident Photon to Current Efficiency of Heterojunction Organic Photovoltaic Devices (<u>Kuwat Tiyana</u> , Pekik Nurwantoro, Tetsuo Tsutsui)	<i>American Institute of Physics (AIP Conf. Proc.)</i> , September 14, 2009. Volume 1169, pp. 144-148.

- 2009 Theoretical Determination of The Optimum Thickness of *American Institute of Physics Perylene Layer in Bilayer Phthalocyanine/Perylene Proceeding (AIP Conf. Proc.)*, Photovoltaic Device (Herlina Pratiwi, Timothy Siahaan, September 14, 2009. Volume Mirza Satriawan, Pekik Nurwantoro, Kuwat Triyana) 1169, pp. 247-255

Tahun	KONFERENSI/SEMINAR/LOKAKARYA/SIMPOSIUM		
	Judul Kegiatan	Penyelenggara	Panitia/Peserta/ Pembicara
2005	3 rd Ketingan Physics Forum, Surakarta	Jurusan Fisika FMIPA UNS	Pembicara
2006	The 2006 Seminar on Analytical Chemistry	Jurusan Kimia FMIPA UGM	Pembicara
2006	Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir	Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan BATAN Yogyakarta	Pembicara Utama
2006	Seminar Klaster Riset UGM	Kantor Wakil Rektor Bidang Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat UGM	Pembicara Utama
2006	International Conference on Mathematics and Natural Sciences	FMIPA ITB Bandung	Pembicara
2007	1st International conference on Chemical Sciences (ICCS-2007)	Jurusan Kimia FMIPA UGM	Peserta
2008	Seminar Nasional Kecenderungan Baru Fisika dan Pendidikannya, Universitas Negeri Malang	Universitas Negeri Malang	Pembicara
2008	International Conference on Functional Materials and Devices	Faculty of Applied Sciences, UTM Malaysia	Pembicara
2008	International Conference on Mathematics and Natural Sciences (ICMNS-2008)	FMIPA ITB Bandung	Pembicara
2008	IEEE International Conference on Semiconductor Electronics (ICSE)	IEEE Malaysia Chapter	Invited Speaker
2009	International Workshop on Advanced Material for New and Renewable Energy 2009	LIPI	Pembicara
2010	The 2nd ISESCO International Workshop and Conference on Nanotechnology (IWCN 2010)	ISESCO dan UKM	Invited Speaker

Yogyakarta, Oktober 2012



Dr. Eng. Kuwat Triyana, M.Si.
NIP: 196709141997021001