

## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman JUDUL .....	i
Halaman PENGESAHAN .....	ii
Halaman PANITIA PENGUJI DISERTASI .....	iii
Halaman DAFTAR ISI .....	iv
Halaman DAFTAR GAMBAR .....	vii
Halaman DAFTAR TABEL.....	x
Halaman PRAKATA.....	xi
Halaman UCAPAN TERIMA KASIH .....	xii
Halaman DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
Halaman DAFTAR SINGKATAN.....	xv
Halaman DAFTAR SIMBOL .....	xvi
Halaman ABSTRAK INGGRIS .....	xviii
Halaman ABSTRAK INDONESIA .....	xix
Halaman PUBLIKASI HASIL PENELITIAN DISERTASI .....	xx
Halaman DISEMINASI HASIL PENELITIAN DISERTASI .....	xxi
BAB I PENGANTAR .....	1
1.1 LATAR BELAKANG .....	1
1.2 RUMUSAN MASALAH.....	7
1.3 TUJUAN PENELITIAN.....	7
1.4 MANFAAT PENELITIAN.....	8
1.5 KEBAHARUAN PENELITIAN .....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	9
2.1 MORFOLOGI <i>C. albicans</i> DAN PATOGENISTASNYA....	9
2.2 INTERAKSI CAHAYA DENGAN MOLEKUL .....	15
2.3 MEKANISME FOTOINAKTIVASI ANTIMIKROBA.....	17
2.4 HASIL FOTOINAKTIVASI HASIL PROSES FOTOBIOLOGI SEL .....	21
2.5 SUMBER CAHAYA LASER DIODE .....	25
2.6 FOTOSENSITIZER KLOOROFIL EKSTRAK DAUN PEPAYA	28

2.7	KADAR MDA SEBAGAI INDIKATOR JUMLAH SENYAWA RADIKAL HASIL FOTOINAKTIVASI .....	36
2.8	KONSEP DASAR OKSIGENASI .....	38
BAB III	HIPOTESIS DAN KONSEP ILMIAH .....	41
3.1	HIPOTESIS PENELITIAN .....	41
3.2	KERANGKA KONSEP ILMIAH .....	45
BAB IV	METODE PENELITIAN .....	46
4.1	LOKASI PENELITIAN.....	46
4.2	ALAT DAN BAHAN .....	46
4.3	MEDIA DAN LARUTAN YANG DIBUAT .....	47
4.4	VARIABEL PENELITIAN .....	47
4.5	TAHAP PENELITIAN .....	48
4.6	ANALISIS STATISTIK .....	62
BAB V	HASIL PENELITIAN .....	63
5.1	IDENTIFIKASI KEBERADAAN KLOOROFIL DALAM EKSTRAK DAUN PEPAYA .....	63
5.2	IDENTIFIKASI DAN OPTIMASI PEMBENTUKAN BIOFILM <i>C. albicans</i> .....	69
5.3	ANALISIS KARAKTERISTIK KLOOROFIL EKSTRAK DAUN PEPAYA SEBAGAI ANTIFUNGI .....	72
5.3.1	Skrining Fitokimia Klorofil Ekstrak Daun Pepaya ....	72
5.3.2	Uji Toksisitas Klorofil Ekstrak Daun Pepaya Terhadap Sel Planktonik <i>C. albicans</i> dengan Metode Kertas Cakram.....	73
5.3.3	Uji Toksisitas Klorofil Ekstrak Daun Pepaya Terhadap Sel Biofilm <i>C. albicans</i> dengan Metode Mikrotiter Plate dan Penentuan Nilai MIC .....	77
5.4	ANALISIS KARAKTERISTIK KLOOROFIL EKSTRAK DAUN PEPAYA SEBAGAI FOTOSENSITIZER .....	78
5.4.1	Karakteristik Serapan Absorbansi dengan Spektrofotometri UV-Vis .....	79

5.4.2	Karakteristik Spektral Eksitasi dan Emisi dengan Spektrofotometri Luminesen .....	81
5.4.3	Uji Pergeseran $\lambda_{maks}$ Ekstrak Klorofil Daun Pepaya Terhadap Perubahan Keasaman Larutan dan Suhu Penyimpanan .....	85
5.5	KARAKTERISASI LASER .....	90
5.6	STUDI AWAL DETEKSI SENYAWA RADIKAL DAN DIFUSI OKSIGEN DALAM BIOFILM <i>C. albicans</i> .....	97
5.7	PERLAKUAN FOTOINAKTIVASI NON-OKSIGENASI ..	102
5.8	PERLAKUAN FOTOINAKTIVASI DENGAN PENAMBAHAN OKSIGENASI .....	107
5.9	PENGUKURAN KADAR MDA DALAM BIOFILM <i>C. albicans</i> SEBAGAI INDIKATOR JUMLAH SEL YANG MATI .....	114
5.10	ANALISIS PROFIL SEM DAN MIKROSKOP FLUORESEN HASIL PERLAKUAN FOTOINAKTIVASI BIOFILM <i>C. albicans</i> .....	117
5.10.1	Profil SEM .....	117
5.12.2	Profil Mikroskop Fluoresen .....	121
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN .....		132
6.1	SIMPULAN .....	132
6.2	SARAN .....	133
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Kandidiasis yang menyerang mulut pada jaringan dinding mukosa bronkus ..... 9
Gambar 2.2	Struktur sel jamur ..... 10
Gambar 2.3	Mekanisme invasi dan pembentukan biofilm <i>C. albicans</i> ..... 12
Gambar 2.4	Morfologi permukaan biofilm <i>C. albicans</i> usia 24 jam melalui SEM dengan perbesaran 7000x ..... 14
Gambar 2.5	Mekanisme transisi elektronik molekul HpD tereksitasi pada panjang gelombang absorpsi yang berbeda ..... 18
Gambar 2.6	Image topografi AFM 3D biofilm <i>E. faecalis</i> ..... 23
Gambar 2.7	Karakterisasi keluaran berkas laser ..... 26
Gambar 2.8	Spektrum absorpsi klorofil daun bayam dalam heksan ..... 32
Gambar 2.9	Spektrum absorbansi zat aktif flavonoid, saponin dan tannin ..... 34
Gambar 2.10	Skema pembentukan senyawa <i>malondialdehyde</i> ..... 37
Gambar 3.1	Skema Kerangka Konseptual..... 45
Gambar 4.1	Tanaman pepaya <i>var. California</i> ..... 48
Gambar 4.2	Bagan alir ekstraksi dan karakterisasi klorofil ekstrak daun pepaya..... 49
Gambar 4.3	Bagan alir karakterisasi laser diode ..... 52
Gambar 4.4	Bagan alir pembentukan dan identifikasi biofilm <i>C. albicans</i> ..... 54
Gambar 4.5	Bagan alir uji toksisitas klorofil ekstrak daun pepaya terhadap sel <i>C. albicans</i> ..... 58
Gambar 4.6	Desain peralatan oksigenasi ..... 60
Gambar 4.7	Bagan alir perlakuan fotoinaktivasi ..... 61
Gambar 5.1	Fraksi Kromatografi kolom ekstrak nheksan-aseton daun pepaya ..... 64
Gambar 5.2	Hasil Uji KLT ekstrak nheksan-aseton daun pepaya..... 65
Gambar 5.3	Profil sel planktonik dan biofilm <i>C. albicans</i> ..... 69
Gambar 5.4	Data Optimasi pembentukan biofilm <i>C. albicans</i> selama 7 hari yang ditumbuhkan dalam <i>microplate 96-well</i> ..... 70

Gambar 5.5	Uji toksisitas klorofil ekstrak daun pepaya terhadap kultur sel planktonik <i>C. albicans</i> dengan metode kertas cakram yang telah direndam sebelumnya .....	74
Gambar 5.6	Spektrum absorbansi klorofil ekstrak daun pepaya konsentrasi 0.5 mg/L .....	80
Gambar 5.7	Pola spektral eksitasi dan emisi fluoresen klorofil ekstrak daun pepaya pada konsentrasi 0.025 mg .....	83
Gambar 5.8	Perubahan warna larutan ekstrak klorofil daun pepaya pada konsentrasi 100 mg/L dengan penambahan HCl 3M berbagai konsentrasi .....	86
Gambar 5.9	Perubahan absorbansi dan pergeseran $\lambda_{maks}$ klorofil ekstrak daun pepaya pada konsentrasi 100 mg/L hasil uji stabilitas...	87
Gambar 5.10	Karakteristik daya laser terhadap panjang gelombang .....	90
Gambar 5.11	Stabilitas daya laser terhadap lama paparan selama 1 jam .....	91
Gambar 5.12	Karakteristik daya keluaran laser terhadap jarak cahaya-sampel.....	93
Gambar 5.13	Karakterisasi suhu terhadap lama paparan pada jarak cahaya-sampel 3 cm untuk kedua penyinaran laser .....	95
Gambar 5.14	Kurva standar MDA dengan TEP sebagai standar <i>malondialdehyde</i> .....	99
Gambar 5.15	Grafik penurunan nilai OD490 sel biofilm <i>C. albicans</i> setelah perlakuan fotoinaktivasi kelompok biofilm non oksigenasi ...	103
Gambar 5.16	Histogram persentasi inaktivasi berdasarkan nilai OD490 hasil fotoinaktivasi kelompok biofilm non oksigenasi dengan uji ANOVA pada $\alpha < 0,05$ .....	105
Gambar 5.17	Grafik penurunan nilai OD490 sel biofilm <i>C. albicans</i> setelah perlakuan fotoinaktivasi terhadap kelompok biofilm dengan penambahan oksigen.....	109
Gambar 5.18	Histogram data inaktivasi berdasarkan nilai OD490 hasil perlakuan laser 650 nm dengan penambahan klorofil pada kelompok biofilm oksigenasi.....	111

Gambar 5.19	Histogram data inaktivasi berdasarkan nilai OD490 hasil perlakuan laser 445 nm dengan penambahan klorofil pada kelompok biofilm oksigenasi.....	112
Gambar 5.20	Gradasi warna larutan campuran filtrat biofilm <i>C. albicans</i> sebagai indikator keberadaan senyawa ROS melalui pengukuran kadar MDA .....	114
Gambar 5.21	Hasil perlakuan fotoinaktivasi dosis energi 40 J/cm <sup>2</sup> pada biofilm non-oksigenasi .....	119
Gambar 5.22	Hasil perlakuan fotoinaktivasi dosis energi 40 J/cm <sup>2</sup> pada biofilm oksigenasi.....	120
Gambar 5.23	Visualisasi jumlah sel yang mati (titik merah) pada biofilm non oksigenasi melalui pengamatan Mikroskop Fluoresen perbesaran 200× .....	125
Gambar 5.24	Visualisasi jumlah sel yang mati (titik merah) dan matriks EPS (gumpalan hijau) pada biofilm oksigenasi melalui pengamatan Mikroskop Fluoresen perbesaran 200× .....	126

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Kinetika reaksi fotosensitizer selama fotoinaktivasi berlangsung 20
Tabel 4.1	Desain kelompok perlakuan penelitian ..... 62
Tabel 5.1	Kode urutan botol penampungan terhadap rasio pelarut nheksan: aseton yang digunakan dalam Gambar 5.1 ..... 64
Tabel 5.2	Nilai $R_f$ hasil uji KLT ..... 67
Tabel 5.3	Hasil skrining fitokimia flavonoid, saponin dan tannin dalam klorofil ekstrak daun pepaya ..... 72
Tabel 5.4	Diameter zona bening dalam uji toksisitas klorofil ekstrak daun pepaya terhadap sel planktonik <i>C. albicans</i> ..... 75
Tabel 5.5	Nilai OD490 hasil uji toksisitas klorofil ekstrak daun pepaya terhadap biofilm <i>C. albicans</i> usia 24 jam yang terbentuk dalam <i>microplate 96-well</i> ..... 77
Tabel 5.6	Nilai <i>quantum yield</i> klorofil ekstrak daun pepaya pada konsentrasi 0,025 mg/L berdasarkan Gambar 5.7 ..... 84
Tabel 5.7	Parameter penyinaran laser dalam fotoinaktivasi biofilm <i>C. albicans</i> ..... 96
Tabel 5.8	Kadar MDA sel planktonik <i>C. albicans</i> setelah paparan klorofil ekstrak daun pepaya yang telah disinari dalam Spektrofotometri Luminesen masing-masing pada eksitasi $\lambda_{445nm}$ dan $\lambda_{650nm}$ ..... 100
Tabel 5.9	Data tegangan hasil konversi energi transmisi dalam biofilm teroksigenasi menggunakan detektor fiber optik ..... 101
Tabel 5.10	Data debit alir dan tekanan aliran oksigen dalam biofilm sebelum perlakuan fotoinaktivasi ..... 108
Tabel 5.11	Hasil pengukuran kadar MDA dalam sampel biofilm <i>C. albicans</i> setelah perlakuan fotoinaktivasi tanpa dan dengan oksigenasi pada debit alir Q4 ..... 115
Tabel 5.12	Kedudukan penelitian disertasi terhadap penelitian terdahulu.... 131

**DAFTAR LAMPIRAN**

- Lampiran I. KARAKTERISASI LASER
- Lampiran II. KARAKTERISASI KLOOROFIL EKSTRAK DAUN PEPAYA
- Lampiran III. IDENTIFIKASI SEL *C. albicans*
- Lampiran IV. KURVA STANDAR MDA
- Lampiran V. DATA PERLAKUAN FOTOINAKTIVASI
- Lampiran VI. HASIL ANALISA STATISTIK
- Lampiran VII. SERTIFIKAT UJI TAKSONOMI DAUN PEPAYA
- Lampiran VIII. PUBLIKASI
- Lampiran IX. FOTO-FOTO PENELITIAN

## DAFTAR SINGKATAN

<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
<i>P. aeruginosa</i>	: <i>Pseudomas aeruginosa</i>
<i>E. faecalis</i>	: <i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E. dulcis</i>	: <i>Eleocaris dulcis</i>
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
aPDT	: <i>antimicrobial Photodynamic Therapy</i>
PDT	: <i>Photodinamic therapy</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
LLLT	: <i>Low Level Light Therapy</i>
TBO	: <i>Toluidine Blue</i>
MB	: <i>Methylene blue</i>
MIC	: <i>Minimum Inhibition Concentration</i>
OD	: <i>optical density</i>
MDA	: <i>malondialdehyde</i>
SEM	: <i>Scanning Electron Mycroscopy</i>
EPS	: <i>extra polymer selluler</i>
VR	: <i>vibration relaxation</i>
IC	: <i>internal conversion</i>
ISC	: <i>inter system crossing</i>
AFM	: <i>Atomic Force Microscopy</i>
LED	: <i>light emitting diode</i>
LD	: <i>laser diode</i>
RAL	: rancangan acak lengkap
PE	: petroleum eter
DE	: diethyl eter
KLT	: kromatografi lapis tipis
KKG	: kromatografi kolom
SGP	: steph gradient polarity
XTT	: 2.3-Bis(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2 <i>H</i> - Tetrazolium-5-Carboxanilide
TEP	: 1,1,3,3-tetraethoxypropane
Con-A	: concanavalin A
SDA	: saburoud dextrose agar
BHI-B	: brain heart infusion broth
PBS	: phosphate buffer saline
TBA	: Thiobarbituric acid
TCA	: Tikloroasetat acid
TBARS	: Thiobarbituric acid reactive substances
UV	: ultraviolet
UV-Vis	: ultra violet visible
rpm	: rotation per minute (satuan kecepatan shaker)
opt	: optimasi
L. Merah	: laser merah
L. Biru	: laser biru
antilog	: antilogaritma

## DAFTAR SIMBOL

$\beta$ -glukan	: komponen sel <i>C. albicans</i>
$\tau$	: lifetime
$\phi$	: quantum yield
$S_0$	: ground state
$S_x$	: singlet state, x=1,2,3 ...
$T_x$	: triplet state, x=1,2,3...
$K$	: konstanta
$E$ (atau $E_\lambda$ , $E_{abs}$ )	: energi (fungsi energi terhadap $\lambda$ , absorpsi)
$h$	: konstanta planck
$\nu$	: frekuensi
$\lambda$	: panjang gelombang
$\Sigma$	: penjumlahan
$\varepsilon$ (atau $\varepsilon_\lambda$ atau $\varepsilon(\nu)$ )	: koefisien ekstensi (fungsi koef. thd $\lambda$ atau $\nu$ )
$c$	: konsentrasi molekul
$b$	: panjang jalur optik
$P$	: daya laser
$P_{maks}$	: daya maksimum
$A$	: luas permukaan
$t$	: lama penyinaran
$D$	: dosis energi penyinaran
$Abs$ atau $Abs(\lambda)$	: absorpsi (fungsi absorpsi terhadap $\lambda$ )
$T$ atau $T(\lambda)$	: transmisi (fungsi transmisi terhadap $\lambda$ )
$I$ atau $I(\lambda)$	: intensitas (fungsi intensitas terhadap $\lambda$ )
$I_0$ atau $I_0(\lambda)$	: intensitas awal (fungsi intensitas awal thp $\lambda$ )
$I_{serap}$	: intensitas serap
$I_{laser}$	: intensitas keluaran laser
$I_{em}$	: intensitas emisi
$I_{abs}$	: intensitas absorpsi
$E_{em}$	: energi emisi
$E_{abs}$	: energi absorpsi
$\lambda_{maks}$	: panjang gelombang maksimum
$^1O_2$	: oksigen singlet
$H_2O_2$	: hydrogen peroksida
$O_2(^3\Sigma_g^-)$	: oksigen triplet keadaan ground state
$O_2^{*-}$	: superoxide anion
$OH^*$	: hydrogen radikal
SOD	: superoxide dismutase
$X^{-/+}$	: anion/cation species
$X^*$	: radikal species
$\kappa_r$	: konstanta radiatif
$\kappa_{nr}$	: konstanta non radiatif
$R_a$	: derajat kekasaran
$d_{x0}$ , $d_{y0}$ ,	: diameter vertikal dan horizontal cahaya laser hasil pengukuran
$d_x(z)$ , $d_y(z)$	: diameter vertikal dan horizontal cahaya laser hasil perhitungan terhadap sumbu z

$\theta_x, \theta_y$	: sudut divergensi berkas vertikal dan horisontal
$M$	: faktor Gaussian (1.1~ 1.2)
$e$	: ellipsitas berkas
$\pi$	: phi
log	: logaritma
$r$	: jumlah replikasi
$R_f$	: factor retensi dalam KLT
Fl	: fluconazole
DP	: daun pepaya
Aq	: aquabidest
C1-C6	: konsentrasi sampel uji klorofil
$R^2$	: korelasi linier
Q	: debit alir oksigen
$k_i$	: konstanta foton emisi
$k_f$	: konstanta foton eksitasi