

**PENGARUH LAMA PEMAPARAN SINAR GAMMA TERHADAP
JUMLAH KOLONI DAN KADAR PROTEIN BAKTERI *Shigella*
*flexneri***

SKRIPSI

Oleh:
PUTRI SOFIANA ROSYADA
NIM.13640028



**JURUSAN FISIKA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

**PENGARUH LAMA PEMAPARAN SINAR GAMMA TERHADAP
JUMLAH KOLONI DAN KADAR PROTEIN BAKTERI *Shigella flexneri***

SKRIPSI

Diajukan kepada:

**Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Oleh:

**PUTRI SOFIANA ROSYADA
NIM.13640028**

**JURUSAN FISIKA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH LAMA PEMAPARAN SINAR GAMMA TERHADAP JUMLAH
KOLONI DAN KADAR PROTEIN BAKTERI *Shigella flexneri***

SKRIPSI

Oleh:
PUTRI SOFIANA ROSYADA
NIM. 13640028

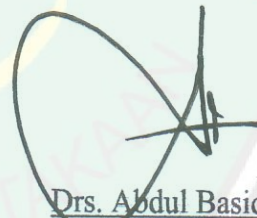
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal : 12 Oktober 2017

Pembimbing I



dr. Avin Ainur F, M.Biomed
NIP. 19800203 200912 2 002

Pembimbing II



Drs. Abdul Basid, M.Si
NIP. 19650504 1990031 003

Mengetahui
Ketua Jurusan Fisika



Drs. Abdul Basid, M.Si
NIP. 19650504 199003 1 003

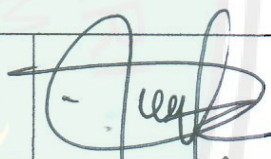
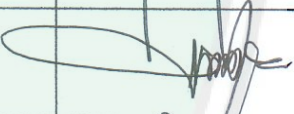
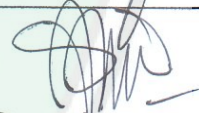

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH LAMA PEMAPARAN SINAR GAMMA TERHADAP JUMLAH
KOLONI DAN KADAR PROTEIN BAKTERI *Shigella flexneri*

SKRIPSI

Oleh:
PUTRI SOFIANA ROSYADA
NIM.13640028

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 19 Oktober 2017

Penguji Utama	: <u>Dr.H. M.Tirono, M.Si</u> NIP. 19641211 199111 1 001	
Ketua Penguji	: <u>Erika Rani, M.Si</u> NIP. 19810613 200604 2 002	
Sekretaris Penguji	: <u>dr. Avin Ainur F, M.Biomed</u> NIP. 19800203 200912 2 002	
Anggota Penguji	: <u>Drs. Abdul Basid, M.Si</u> NIP. 19650504 199003 1 003	

Mengesahkan
Ketua Jurusan Fisika



Drs. Abdul Basid, M.Si
NIP. 19650504 199003 1 003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : PUTRI SOFIANA ROSYADA
NIM : 13640028
Jurusan : FISIKA
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Judul Penelitian : Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Jumlah Koloni dan Kadar Protein Bakteri *Shigella flexneri*

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang perbah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang,

Yang Membuat Pernyataan



PUTRI SOFIANA ROSYADA
NIM. 13640028

MOTTO

“ Syukuri ada dan dimana kamu sekarang, jalani selalu berdo’a karena itu yang terbaik buat kamu, bekerja keras berdo’a dan tawakkal”

(Romo Kyai Nurcholis Misbah)



HALAMAN PERSEMBAHAN

*Ku Persembahkan Karya Ini:
Untuk kedua orangtuaku Bapak Sari Mulyo dan ibu Elin
Ainul*



KATA PENGANTAR



AssalamualaikumWr.Wb

Alhamdulillah puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya. Sholawat dan salam semoga selalu tercurahkan kepada junjungan kita Baginda Rasulullah, Nabi besar MuhammadSAW serta para keluarga, sahabat, dan pengikut-pengikutnya. Atas ridho dan kehendak Allah SWT, penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Jumlah Koloni dan Kadar Protein Bakteri *Shigella flexneri*** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di Jurusan Fisika Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terimakasih seiring do'a dan harapan *jazakumullah ahsanaljaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Dr. Sri Harini M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Drs. Abdul Basid, M.Si selaku Ketua Jurusan Fisika yang telah banyak meluangkan waktu, nasehat dan inspirasinya sehingga dapat melancarkan dalam proses penulisan Skripsi.
4. dr. Ainur Avin F, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah banyak meluangkan waktu dan pikirannya dan memberikan bimbingan, bantuan serta pengarahan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Drs. Abdul Basid, M.Si selaku Dosen Pembimbing Agama, yang bersedia meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan pengarahan bidang integrasi Sains dan al-Qur'an serta Hadits.

6. Segenap Dosen, Laboran dan Admin Jurusan Fisika Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah bersedia mengamalkan ilmunya, membimbing dan memberikan pengarahan serta membantu selama proses perkuliahan.
7. Kedua orang tua saya Bapak Sari Mulyo dan Ibu Elin Ainul dan semua keluarga yang telah memberikan dukungan, restu, serta selalu mendoakan disetiap langkah penulis.
8. Teman-teman seperjuangan Fisika angkatan 2013 terimakasih atas kebersamaan dan dukungannya selama ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah banyak membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat, tambahan ilmu dan dapat menjadikan inspirasi kepada para pembaca *Amin YaRabbal Alamin*.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 3 September 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBR.	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
المخلص	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Bakteri <i>Shigella Sp.</i>	8
2.2 Kematian Bakteri	10
2.3 Sinar Gamma	10
2.3.1 Radiasi Gamma	10
2.3.2 Dosis Radiasi	11
2.3.3 Lethal Dose-50 (LD ₅₀)	13
2.3.4 Efek Radiasi Terhadap Molekul Penting	14
2.4 Interaksi Radiasi Sinar Gamma dengan Materi/Sel	16
2.4.1 Efek Fotolistrik	17
2.4.2 Efek Compton	18
2.4.3 Produksi Pasangan	20
2.5 Hormesis Radiasi	21
2.6 Protein	22
2.6.1 Pengertian	22
2.6.2 Struktur Protein	24
2.6.3 Kerusakan Protein	25
2.6.4 Pengukuran Kadar Protein	25
2.7 Vaksin	26
BAB III METODOLOGI	
3.1 Tempat Penelitian	30
3.2 Jenis Penelitian	30
3.3 Kerangka Konsep Berfikir	32
3.4 Kerangka Penelitian	34
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	37

3.6 Desain Rangkaian	38
3.7 Prosedur Penelitian	39
3.7.1 Preparasi Sampel	39
3.7.2 Perlakuan Sebelum Pemaparan Radiasi	40
3.7.3 Iradiasi Bakteri <i>Shigella flexneri</i> dengan Sinar Gamma.....	40
3.7.4 Pengukuran Kadar Protein Bakteri <i>Shigella flexneri</i>	40
3.8 Teknik Pengolahan Data	42
3.9 Teknik Analisa Data	43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	44
4.1.3 Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Jumlah Koloni Bakteri <i>S. flexneri</i>	44
4.1.4 Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Kadar Protein Bakteri	48
4.2 Pembahasan	51
4.2.1 Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Jumlah Koloni Bakteri <i>S. flexneri</i>	51
4.2.2 Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Kadar Protein Bakteri	55
4.4 Integrasi Penelitian dalam Al-Qur'an	57
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Bakteri <i>Shigella flexneri</i>	8
Gambar 2.2 Efek Fotolistrik.....	18
Gambar 2.3 Mekanisme Hamburan Compton.....	18
Gambar 2.4 Mekanisme Kerja Vaksin.....	29
Gambar 4.1 Koloni Bakteri <i>Shigella flexneri</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma pada Medium NA Padat.....	45
Gambar 4.2 Pengaruh Antara Lama Pemaparan Sinar Gamma dengan Jumlah Koloni Bakteri <i>Shigella flexneri</i>	47
Gambar 4.3 Kurva Standart Konsentrasi BSA.....	49
Gambar 4.4 Uji Kadar Protein Bakteri <i>Shigella flexneri</i>	51
Gambar 4.5 Skema Peluruhan Unsur Radioaktif Cs-137, Co-60 dan Sr-90.....	52



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Harga Quality Factor (Q) Untuk Berbagai Jenis Radiasi	12
Tabel 2.2 Vaksin Iradiasi yang Telah Dihasilkan.....	27
Tabel 4.2 Jumlah Koloni Bakteri <i>Shigella flexneri</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma..	46
Tabel 4.3 Nilai Serapan Spektrofotometer <i>UV-Vis</i> Seri Konsentrasi Larutan BSA (sebagai larutan standar)	49
Tabel 4.4 Hasil Pengujian Kandungan Protein Bakteri <i>Shigella flexneri</i> dengan Metode Lowry	50



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Hasil Uji Normalitas dan Oneway ANOVA
- Lampiran 2 Aktifitas Radioaktif
- Lampiran 3 Langkah Pengujian Pewarnaan Gram
- Lampiran 4 Bagan Tahapan Pengukuran Kadar Protein Metode Lowry
- Lampiran 5 Spektrum Panjang Gelombang Maksimum Serapan Metode Lowry
- Lampiran 6 Hasil Absorbansi Larutan Standar Pada Spektrofotometer
- Lampiran 7 Hasil Absorbansi Sampel Pada Spektrofotometer
- Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian



ABSTRAK

Rosyada, Putri Sofiana. 2017. **Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Jumlah Koloni dan Kadar Protein Bakteri *Shigella flexneri***. Skripsi. Jurusan Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) dr. Ainur Avin F, M.Biomed (II) Drs. Abdul Basid, M.Si.

Kata Kunci: *Shigella flexneri*, Sinar gamma, Koloni bakteri, Viabilitas, Kadar Protein.

Diare adalah salah satu penyakit tertinggi yang dialami penduduk dalam hasil survei kesehatan Kemeskes. Bakteri *Shigella flexneri* merupakan penyebab infeksi diare yang dominan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama pemaparan sinar gamma terhadap jumlah koloni dan kadar protein bakteri *Shigella flexneri*. Metode yang digunakan adalah dengan menonaktifkan bakteri *Shigella flexneri* menggunakan pemaparan iradiasi sinar gamma. Variasi waktu lama pemaparan yang digunakan diantaranya kontrol atau 0 menit, 30 menit, 60 menit, 90 menit, 120 menit dan 150 menit. Perhitungan jumlah koloni hasil iradiasi diukur dengan menggunakan metode *pour plate*. Sedangkan perhitungan kadar protein hasil iradiasi diukur dengan menggunakan metode *Lowry*. Jumlah koloni terendah terdapat pada lama pemaparan 90 menit dengan nilai 15×10^7 sel/ml, sehingga memungkinkan untuk digunakan sebagai bahan vaksin dengan nilai viabilitas di bawah 50%. Pemaparan sinar gamma pada bakteri menunjukkan adanya pengaruh perbedaan konsentrasi kadar protein sampel. Konsentrasi kadar protein tertinggi terdapat pada lama pemaparan 90 menit yaitu 52,19 mg/ml. Sedangkan konsentrasi kadar protein terendah terdapat pada lama pemaparan 30 menit yaitu 37.82 mg/ml.

ABSTRAK

Rosyada, Putri Sofiana. 2016. **The influence of the Long of the Gamma Ray Exposure Toward the number of Bacterial colonies and *Shigella flexneri* Protein Degrees**. Thesis. Department of Physics Faculty of Science and Technology Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Advisor: (I) dr. Ainur Avin F, MBIomed (II) Drs. Abdul Basid, M.Si.

Kata Kunci: *Shigella flexneri*, Gamma ray, Number of colonies, Viability, Protein Levels.

Diarrhea is one of the highest diseases experienced by the population in Kemenkes's health survey results. The *Shigella flexneri* bacterium infection is the dominant cause of diarrhea. This research aimed to know the influence of the long of the gamma ray exposure toward the number of bacterial colonies and *Shigella flexneri* protein degrees. The method used was inactivating the *Shigella flexneri* bacterium using gamma ray irradiation exposure. The long time exposure variations that were used included the control or 0 minutes, 30 minutes, 60 minutes, 90 minutes, 120 minutes and 150 minutes. The number of irradiation results colonies calculation was measured using the pour plate method. Whereas the calculation of the irradiation results protein was measured by using the Lowry method. The lowest numbers of colonies presented on the long exposure 90 minutes with a value of 15×10^7 cells/ml, so it was enable to be used as a vaccine with a viability value below 50%. In addition the gamma ray exposure on bacteria showed an influence of the protein degrees concentration difference sample. The highest protein degrees concentration was presented on the long exposure 90 minutes i.e. 52.19 mg/ml. Whereas, the lowest protein degrees concentration was presented on the long exposure of 30 minutes i.e. 37.82 mg/ml.

ملخص البحث

فوتري صفيان رشد، 2015. تأثير الوقت لتقديم الشعة الجميّة على حصول المستعمرات وقدر البيروتين البكتيري *shigella flexneri*. البحث الجامعي. قسم الفيزياء، كلية العلوم التكنولوجية، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية بمالانج. المشرفان: الدكتور عینور آفین ف الماجستير والدكتور عبد الباسط الماجستير.

الكلمات الأساسية: *shigella flexneri*، الشعة الجميّة، المستعمرات البكتيري، *viabilitas*، وقدر البيروتين.

الإسهال هو المرض الذي يصيب بالسكان المدنية في حصول الإستعراض الصحة. اسباب الإسهال هو *shigella flexneri*. اهدف من هذا البحث لكي نعلم تأثير الوقت لتقديم الشعة الجميّة على حصول المستعمرات وقدر البيروتين البكتيري *shigella flexneri*. ومنهج من هذا البحث يستعمل البكتيري *shigella flexneri* الذي غير فعال بتقديم المشع الجمي. من متنوعه الميقات يعني مراكمة أو 0 (أصفر) دقيقة، 30 (ثلاثون) دقائق، 60 (ستون) دقائق، 90 (تسعون) دقائق، 120 (مائة وستون) دقائق. وحصول من المشع يستعمل بمنهج *pour plate*. بل حصول المستعمرات وقدر البيروتين بمنهج *lowry*. وحصول الأقل موجود في التقديم 90 (تسعون) دقائق بتقدير $10^7 \times 15$ sel/ml، لكي يكون العنصور اللقاحات بقدر أقل من 50%. هدف من تقديم الشعة الجميّة على حصول المستعمرات وقدر البيروتين البكتيري أنه مختلف من نموذج مقدر البيروتين. مقدر البيروتين الأعلى في 90 (تسعون) دقائق يعني 52,19 mg/ml. بل الأدنى في 30 (ثلاثون) دقائق يعني 37.82 mg/ml.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diare merupakan masalah kesehatan di negara berkembang seperti di Indonesia karena angka kesakitannya masih tinggi. Hal ini dapat dilihat dari survei angka kesakitan yang dilakukan oleh Subdit Diare Departemen Kesehatan, menunjukkan kecenderungan meningkatnya angka kesakitan diare dari tahun 2000 sampai 2010. Insiden rata-rata penyakit diare pada tahun 2000 sebesar 301 per 1000 penduduk, naik menjadi 411 per 1000 penduduk pada tahun 2010. Tingginya angka kesakitan diare dihubungkan dengan kepadatan penduduk dan kebersihan yang masih kurang. Penyakit diare dapat menjadi lebih parah jika terjadi diare berdarah atau disebut juga shigellosis. Penelitian yang dilakukan Herwana *et al.* (2010) pada Februari 2005 sampai September 2007 di Jakarta Selatan terhadap 612 anak usia 0-12 tahun yang mengalami diare menunjukkan 9,3% pasien disebabkan oleh *Shigella sp.* dan *Shigella flexneri* merupakan spesies yang paling sering ditemukan dengan prevalensi sebesar 63,2% (Herwana, 2010).

Bakteri adalah suatu organisme uniseluler berukuran mikroskopik (sangat kecil) yang tersebar di lingkungan dan merupakan organisme terbanyak. Sebagian besar tubuh bakteri terdiri dari air. Sehingga adanya bakteri juga termasuk dalam kehendak-Nya, dan tidak ada ciptaan-Nya yang sia-sia tanpa ada hikmah dibalik penciptaan-Nya.

Adanya organisme bakteri telah dijelaskan dalam Al-Qur'an surah at-Tahaa (20) ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (QS. At-Tahaa (20): 53).

Berdasarkan ayat tersebut, dapat diketahui bahwa di antara bukti-bukti kekuasaan dan keagungan Allah adalah hujan yang dapat menghidupkan tanah. Maka dengan hujan tersebut tumbuh di bumi berbagai macam tumbuhan dan dengan tumbuhan tersebut hidup binatang-binatang. Semua kehidupan ini tersebar di permukaan bumi dari tetesan air yang tidak mengandung kehidupan (Asy-Syirazi, 1992).

Pada tahun 1972 Cohn seorang sarjana botani bangsa Jerman condong menggolongkan bakteri pada tumbuhan. Berdasarkan bentuk bakteri yang tetap, dinding yang kuat dan adanya kemampuan untuk hidup autotrof (termasuk mengadakan fotosintesis pada beberapa golongan bakteri), maka bakteri dimasukkan di dalam golongan tumbuhan.

Shigella sp. merupakan penyebab infeksi diare yang dominan untuk negara berkembang. Secara umum berbagai infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diobati dengan menggunakan antibiotik (Ashutoh, 2008). Akan tetapi yang menjadi permasalahan pokok dari penggunaan antibiotik adalah terjadinya

resistensi beberapa bakteri terhadap antibiotik yang digunakan (Lohner dan Auatria, 2001).

Menurut Todar (2009), genus *Shigella* mampu mengembangkan resistensi terhadap agen antimikroba karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat, sehingga mengakibatkan antibiotik yang ada menjadi tidak efektif lagi untuk mengobati penyakit infeksi. Salah satu alternatif yang dapat digunakan adalah pemberian vaksin. Vaksin merupakan suatu suspensi mikroorganisme yang telah dimatikan atau dilemahkan sehingga tidak akan menimbulkan penyakit dan dapat merangsang pembentukan kekebalan tubuh atau antibodi ketika diinfeksi.

Shigella sp dibagi menjadi 4 spesies yaitu: *Shigella dysentri*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydi* dan *Shigella sonnei*. Sedangkan pada tingkat terjadinya, di beberapa negara berkembang tingkat diare yang disebabkan oleh spesies *Shigella flexneri* dan *Shigella sonnei* lebih tinggi dibandingkan spesies *Shigella* yang lain.

Pada saat ini pengobatan untuk penyakit yang disebabkan oleh *Shigella sp* belum ditemukan obatnya, pencegahannya mulai banyak dilakukan di berbagai negara. Salah satu usaha yang dapat dilakukan adalah vaksin. Menurut Ellis (1988) vaksinasi adalah memasukkan antigen yang telah dilemahkan virulensinya untuk mengenali invasi awal tanpa menimbulkan penyakit namun diharapkan dapat merangsang kekebalan tubuh.

Pada umumnya vaksin terdiri dari 2 tipe yaitu vaksin mati (inaktif) dan vaksin hidup (aktif). Vaksin mati diberikan dari patogen yang diinaktifasi (dimatikan) dengan cara pemanasan pada suhu 100°C (*heat killed*), dengan menggunakan formalin (*formaline killed*), dan diinaktifasi dengan menggunakan

sonikator (*sonicated killed*). Sedangkan vaksin yang hidup berupa organisme patogen yang dilemahkan virulensinya (Ellis, 1988).

Belum ada rekomendasi pemakaian vaksin pada *Shigella*, penularan dapat dicegah dengan kondisi lingkungan dan diri yang lebih bersih. Sampai sekarang pemerintah membuat program-program untuk mencegah terjadinya diare. Salah satunya adalah program PHBS (Perilaku Hidup Bersih dan Sehat). Menurut pengobatan umum WHO, bila terdiagnosis *shigelosis* pasien dapat diobati dengan antibiotik. Namun antibiotik dapat menimbulkan resistansi di dalam tubuh, sehingga kedepannya akan mengalami kesulitan dalam pengobatannya. Oleh karena itu vaksin menjadi salah satu jalan keluar dalam pengobatan penyakit ini. Sesuai dengan sabda Nabi SAW :

أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

“Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan untuk penyakit itu obatnya” (HR. Bukhori).

Hadist tersebut jelas menerangkan bahwa Allah tidak akan menurunkan penyakit kecuali dengan obatnya, dan antibiotik merupakan obat yang tepat digunakan untuk penyakit infeksi oleh bakteri. Akan tetapi penggunaan antibiotik sekarang ini sering menyebabkan terjadinya resistansi bakteri terhadap zat antibiotik, sehingga dapat menimbulkan strain baru dari bakteri yang telah kebal terhadap antibiotik. Sebagai alternatifnya, vaksinasi merupakan salah satu upaya pencegahan terhadap resistansi bakteri dan residu antibakteri (Soeripto, 2002).

Pembuatan vaksin dapat dilakukan dengan cara konvensional, baik secara kimia ataupun pemanasan. Alternatif lainnya dengan menggunakan iradiasi sinar gamma untuk menginaktivasi sel bakteri. Metode inaktivasi dengan sinar gamma memiliki efektivitas dalam peningkatan respon imun dibandingkan dengan pemanasan. Namun perlu diperhatikan bahwa vaksin dari bakteri yang dilemahkan dengan iradiasi gamma memiliki risiko tinggi saat diinfeksi ke manusia ataupun hewan yang sehat. Risiko tersebut adalah bakteri dapat bermutasi dan bersifat patogen.

Radiovaksin adalah teknik pembuatan vaksin dengan cara iradiasi. Sumber radiasi yang digunakan untuk pembuatan radiovaksin adalah sinar gamma, sinar tersebut digunakan untuk menurunkan infektivitas, virulensi dan patogenitas agen penyakit, tetapi diharapkan mampu merangsang timbulnya kekebalan pada tubuh terhadap infeksi penyakit (Sugoro, 2007).

Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Sugoro (2009), hasil percobaan menunjukkan bahwa dosis inaktif sel bakteri *Y. enterocolitica* adalah antara 800 Gy – 1.500 Gy. Iradiasi dengan dosis berbeda pada kultur bakteri menunjukkan adanya perubahan kadar protein sel bakteri yang tidak menentu dan adanya pengaruh yang signifikan dosis radiasi terhadap kandungan protein.

Keuntungan vaksin jenis ini adalah dapat mengaktifkan seluruh fase sistem imun, meningkatkan respon imun terhadap seluruh antigen (proses inaktivasi dapat menyebabkan perubahan antigenitas), durasi imunitas lebih panjang, biaya lebih murah, lebih cepat menimbulkan respon imunitas, mudah di bawa ke lapangan, dapat mengurangi *wild type*. Tetapi vaksin jenis ini memiliki

beberapa kelemahan dimana vaksin ini kurang baik apabila digunakan pada daerah tropis dan pada penderita penyakit *immunodeficiency* serta adanya kemungkinan terjadi mutasi balik yang menyebabkan daya virulensi menjadi tinggi (Tetrianan dan Sugoro, 2007).

Adapun penetapan kadar protein dari bakteri *Shigella flexneri* dilakukan dengan metode Lowry. Berdasarkan studi literatur, penetapan kadar protein menggunakan metode Lowry seratus kali lebih sensitif dibandingkan dengan reaksi Biuret (Coligan *et al.*, 2007).

Isolat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *S. flexneri*. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian untuk memperoleh pengaruh lama pemaparan sinar gamma terhadap jumlah koloni bakteri dan kadar protein. Diharapkan hasil data kadar protein dapat memberikan informasi mengenai keberadaan protein antibodi yang terbentuk, sehingga dapat mengetahui potensi bahan vaksin *S. flexneri* inaktif.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh lama pemaparan sinar gamma terhadap jumlah koloni bakteri *Shigella flexneri*?
2. Bagaimana pengaruh lama pemaparan sinar gamma pada kadar protein bakteri *Shigella flexneri*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh lama pemaparan sinar gamma terhadap jumlah koloni bakteri *Shigella flexneri*.

2. Mengetahui pengaruh lama pemaparan sinar gamma pada kadar protein bakteri *Shigella flexneri*.

1.4 Manfaat Penelitian

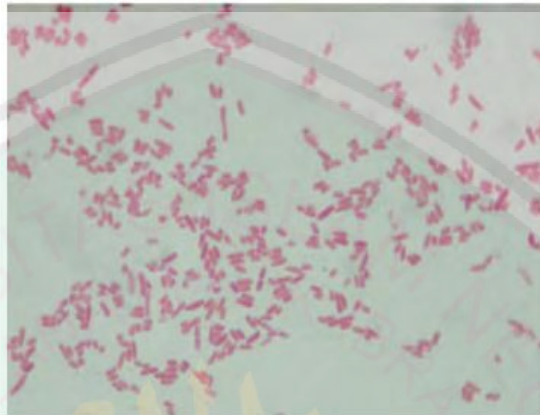
1. Dapat memberikan informasi besarnya waktu lama pemaparan radiasi gamma yang mampu mempengaruhi sel bakteri *Shigella flexneri*.
2. Memberikan informasi pengaruh lama pemaparan sinar gamma terhadap kadar protein bakteri *Shigella flexneri*.
3. Sebagai penelitian awal dalam pembuatan bahan vaksin dengan radiasi pengion untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Shigella flexneri*.

1.5 Batasan Masalah

1. Penelitian ini menggunakan isolat murni bakteri *Shigella flexneri*.
2. Data diambil dari perlakuan iradiasi sinar gamma dengan variasi lama pemaparan dan mengabaikan perlakuan yang lain seperti jarak antara sampel dengan sumber radiasi.
3. Sumber radiasi sinar gamma yang digunakan terdiri dari beberapa jenis rasioisotop yaitu Cobalt (Co), Amerisium (Am), Natrium (Na) dan Cesium (Cs) dengan mengabaikan pengaruh dari masing-masing sumber terhadap sampel.
4. Analisa kadar protein yang dilakukan menggunakan spektrofotometer.

BAB II KAJIAN PUSTAKA

2.1 *Shigella flexneri*



Gambar 2.1 Morfologi bakteri *Shigella flexneri* (Puhar *et.al*)

Klasifikasi Ilmiah

- Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gamma Proteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Shigella*
Spesies : *Shigella flexneri*

Shigella adalah kuman berbentuk batang dengan pengecatan Gram bersifat Gram negatif, tumbuh baik pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, tidak dapat bergerak, kuman ini patogen pada pencernaan. Termasuk dalam (famili) *Esterobacteriace* genus *Shigella*.

Adapun bakteri genus *Shigella* mampu memproduksi enterotoksin berupa toksin Shiga. *Shigella flexneri* merupakan anggota genus *Shigella* yang memiliki presentasi tinggi dalam menyebabkan disentri (Zein, 2004), yaitu sebesar 25% (Supardi dan Sukamto, 1999). Disentri terjadi karena nekrosis pada sel-sel mukosa saluran usus. Disentri diindikasikan dengan munculnya diare. Secara etiologi, diare yang disebabkan adanya infeksi pada usus disebut *enteric infection*. Diare ini masuk dalam kategori diare akut dengan mekanisme *inflammatory*, yakni diare yang disertai lendir dan darah (Zein, 2004).

Bakteri merupakan makhluk hidup mikroskopis yang penciptaannya telah dijelaskan di dalam QS. Al-Baqarah (2): 26, Allah SWT berfirman:

.....فَوْقَهَا فَمَا بَعُوضَةٌ مِّمَّا مَثَلًا يَضْرِبُ أَنْ يَسْتَحْيِيَ ۗ لَا إِلَهَ إِلَّا اللَّهُ ۖ إِنَّ

“*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu....*” (QS. Al-Baqarah (2): 26).

Kata ما pada ayat di atas menunjukkan sesuatu yang kecil atau sedikit (Tafsir Ibnu Katsir, 2007). Dalam ayat tersebut Allah SWT membuat perumpamaan berupa nyamuk atau bahkan yang lebih kecil dari itu. Maksud dari kata kecil dari nyamuk jika dilihat secara fisik maupun makna bakteri termasuk dalam kategori tersebut. Terdapat bermacam-macam bakteri yang diciptakan oleh Allah SWT, salah satunya adalah bakteri *Shigella flexneri*. Bakteri tersebut bersifat patogen dan dapat menyebabkan infeksi bahkan kematian bagi manusia. Namun bakteri tersebut juga bisa menjadi obat pencegahan infeksi pada manusia atau vaksin. Hal itu bisa dilakukan dengan berbagai macam metode, salah satunya dengan menginaktifkan bakteri menggunakan sinar gamma. Inaktifasi bakteri

dilakukan agar bakteri yang digunakan virulensinya lebih lemah dibandingkan dalam keadaan normal.

2.2 Kematian Bakteri

Suatu sarana fisik dapat diartikan sebagai keadaan atau sifat fisik yang menyebabkan suatu perubahan, misalnya suhu, tekanan, radiasi, dan penyaringan. Perlakuan untuk mematikan bakteri yang tidak drastis artinya membunuh bakteri secara langsung tidak akan membunuh semua sel tersebut pada saat yang sama. Akan tetapi sel-sel itu akan terbunuh dalam suatu periode waktu dengan laju eksponensial yang konstan yang pada hakikatnya merupakan kebalikan dari pola pertumbuhan eksponensial (Pelezar, 2012).

Jika dimisalkan bahwa setiap sel merupakan sasaran dan sejumlah besar peluru (bahan kimia atau fisik) ditembakkan ke sasaran secara acak, maka peluang bagi terkenanya suatu sasaran sebanding dengan jumlah sasaran yaitu jumlah bakteri yang ada. Apabila ditembakkan secara acak terhadap banyak sasaran, maka peluang untuk mengenai satu sasaran semakin besar (Pelezar, 2012).

2.3 Sinar Gamma

2.3.1 Radiasi Gamma

Radiasi merupakan proses yang kejadiannya berlangsung tanpa unsur kesengajaan atau tanpa adanya perlakuan khusus, misalnya bentuk mutasi pada tanaman dapat terjadi secara alamiah (spontan) akibat radiasi sinar kosmik di alam. Sedangkan iradiasi merupakan proses yang kejadiannya berlangsung karena adanya perlakuan khusus terhadap sesuatu obyek yang dilakukan secara sengaja

(misalnya untuk tujuan melakukan suatu pengamatan atau penelitian), contoh bahan makanan yang telah diiradiasi (*The irradiated food*) dengan sinar gamma dapat menjadi awet dan tidak cepat membusuk ataupun rusak (Darussalam, 1996).

Radionuklida atau radioisotop adalah isotop dari zat radioaktif. Radionuklida mampu memancarkan radiasi. Radioisotop atau radionuklida dapat terjadi secara alamiah atau sengaja dibuat oleh manusia dalam reaktor penelitian. Produksi radionuklida dengan proses aktivasi dilakukan dengan cara menembaki isotop stabil dengan neutron di dalam teras reaktor. Proses ini lazim disebut iradiasi neutron, sedangkan bahan yang disinari disebut target atau sasaran. Neutron yang ditembakkan akan masuk ke dalam inti atom target sehingga jumlah neutron dalam inti target tersebut bertambah. Peristiwa ini dapat mengakibatkan ketidakstabilan ini atom sehingga berubah sifat menjadi radioaktif. Banyak isotop buatan yang dapat dimanfaatkan antara lain ^{60}Co , ^{24}Na , ^{32}P , ^{51}Cr , ^{99}Tc dan ^{131}I (Sani, 2013).

2.3.2 Dosis Radiasi

Suatu dosis yang diterima oleh suatu jaringan akan bergantung pada jumlah intensitas foton yang diserap, lamanya jaringan tersebut teradiasi dan seberapa jauh jarak sumber radiasi terhadap jaringan (Akhadi, 2000):

a. Dosis Serap (D)

Dosis serap adalah banyaknya energi yang diserap oleh suatu materi per satuan massa. Dosis serap merupakan besaran yang dibatasi oleh jumlah energi dari radiasi yang diserap oleh jaringan biologi. Dosis serap (D) dapat dituliskan sebagai berikut (Akhadi, 2000):

$$D = \text{energi/massa atau } D = d\varepsilon/m \quad (2.1)$$

Dimana D adalah dosis serap dengan satuan J/kg atau Gy, $d\varepsilon$ adalah energi yang diserap oleh medium bermassa dm . Satuan dari $d\varepsilon$ adalah Joule dan dm adalah kg. Sedangkan proses pelemahan radiasi sinar X dalam suatu jaringan bersifat eksponensial (Akhadi, 2000):

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (2.2)$$

Dengan :

I = Intensitas radiasi setelah melalui jaringan
 I_0 = Intensitas radiasi sebelum melalui jaringan
 μ = koefisien serapan linier jaringan
 x = tebal jaringan

b. Dosis Ekuivalen

Dosis ekuivalen adalah dosis serap yang mempertimbangkan factor kualitas dari radiasi. Semakin besar radiasi (semakin merusak), maka semakin tinggi factor kualitasnya (Akhadi, 2000).

Dosis ekuivalen ini semua berasal dari pengertian *Roentgen equivalent of man* atau disingkat menjadi Rem yang kemudian menjadi nama satuan untuk dosis ekuivalen. Hubungan antara dosis ekuivalen (Rem) dengan dosis absorbs (Rad) dan *Quality Factor* (Q) adalah (Avin, 2010) :

$$\text{Rem} = \text{Rad} \times Q \quad (2.3)$$

Tabel 2.1 Harga *Quality Factor* (Q) untuk berbagai jenis radiasi (Avin, 2010)

No	Jenis Radiasi	Harga Q
1	Radiasi Gamma, sinar X, sinar Gamma	1
2	Neutron Termal	2,3
3	Neutron cepat dan proton	10
4	Radiasi alfa	20

c. Dosis Efektif

Dosis efektif adalah dosis serap yang mempertimbangkan kualitas radiasi dan sensitivitas yang berbeda-beda. Sel yang harus dilindungi adalah sel reproduksi. Sehingga dosis efektif ini dapat dituliskan sebagai (Akhadi, 2000):

$$E = W_T \cdot H_T = W_T \cdot W_R \cdot D \quad (2.4)$$

Dimana W_T adalah faktor sensitivitas atau faktor bobot jaringan yang nilainya telah ditentukan.

2.3.3 Lethal Dose – 50 (LD₅₀)

LD₅₀ adalah dosis iradiasi yang mampu menyebabkan kematian sel hingga 50 % dari total populasi. Dengan kata lain, bakteri yang akan digunakan sebagai bahan vaksin adalah bakteri yang 50% bertahan hidup setelah perlakuan pada dosis radiasi tertentu. Sel bakteri yang terkena sinar gamma akan menyebabkan terjadinya kematian sel, sel tetap hidup normal, sel tetap hidup tetapi mengalami mutasi atau sel akan mati setelah beberapa generasi (apoptosis) (Anonim, 2005).

Tujuan uji LD₅₀ adalah untuk mendeteksi adanya toksisitas suatu zat, menentukan organ sasaran dan kepekaannya, memperoleh data bahayanya setelah pemberian suatu senyawa secara akut dan untuk memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis yang diperlukan. Nilai angka yang lebih rendah dalam LD₅₀ menunjukkan toksisitas yang lebih besar dari dosis yang lebih tinggi (Abdurrahman, 2015).

Radiovaksin sebagai suatu proses iradiasi untuk mematikan atau melemahkan suspensi mikroorganisme dapat mempercepat proses pembuatan vaksin. Hal ini disebabkan, semakin pendeknya waktu pasase dan tidak merusak

kualitas produk. Namun masih tetap harus memperhatikan proses atenuasi atau virulensi organisme (Tuasikal,2003).

Proses atenuasi berguna untuk membuat vaksin hidup pada dosis iradiasi yang mematikan atau menurunkan jumlah populasi bakteri hingga 50% atau Lethal Dose – 50 (LD₅₀). Efektivitas proses iradiasi mikrobial tertentu dinyatakan dengan faktor inaktivasi yaitu perbandingan jumlah awal mikrobial sebelum dan sesudah proses iradiasi. Nilai LD₅₀ setelah iradiasi berbeda-beda untuk setiap jenis mikroorganisme, sehingga untuk dapat membuat vaksin perlu diketahui proses atenuasi untuk menentukan batas dosis paparan yang mematikan setengah populasi awal mikroorganisme (Windusari, 2014).

2.3.4 Efek Radiasi Terhadap Molekul Penting

a. Protein

Protein terdiri dari beberapa asam amino yang secara karakteristik ditandai oleh adanya gugus-NH₂, gugus-COOH dan rantai samping R (Ikmalia, 2008).

Gugus-NH₂ dan rantai samping-R asam amino yang paling *radio sensitive* di antara tiga kelompok di atas. Kerusakan fungsi protein sebagian besar disebabkan oleh timbulnya perubahan pada rantai samping (-R) yang kritis. Diasumsikan bahwa radiasi dapat mempengaruhi konfigurasi 3 dimensi molekul protein sehingga menjadi terbuka dan siap melakukan suatu reaksi (Darussalam, 1996).

b. Kromosom

Radiasi dapat menyebabkan perubahan atau kerusakan struktur kromosom (aberasi). Perubahan atau kerusakan itu dapat berupa antara lain: pelengketan, transkolasi, inverse, defisiensi dan lain sebagainya (Darussalam, 1996).

c. Molekul Asam Deoksiribonukleat (DNA)

Radiasi dapat menyebabkan berbagai macam perubahan dan kerusakan pada molekul Asam Deoksiribonukleat (DNA). Perubahan dan kerusakan pada molekul DNA tersebut dapat berupa antara lain: perubahan susunan triplet molekul DNA, pelengket, patahan, kehilangan basa, deaminasi dan sebagainya (Ikmalia, 2008).

Setiap Asam nukleat (*nucleic acid*) merupakan makromolekul yang berperan sebagai pembawa informasi *genetic*. Kerusakan secara biokimiawi yang terjadi pada molekul DNA dapat mengarah kepada kejadian mutasi baik pada sel-sel germa maupun pada sel-selsomatik. Bentuk mutasi pada sel-sel germa akan tampak pada keturunan berikutnya, sementara bentuk mutasi pada sel-sel *somatic* terlihat pada bentuk abnormal pada sel-sel anakan hasil pembelahan mitosis (Darussalam, 1996).

d. Enzim

Radiasi dapat menyebabkan kerusakan biokimiawi pada struktur enzim. Kerusakan enzim dapat mengakibatkan penurunan pada fungsi enzim, yaitu terjadinya penurunan daya katalisasi enzim dalam proses reaksi kimia tertentu (Darussalam, 1996).

e. Lemak

Radiasi dapat menimbulkan perubahan dan kerusakan pada bagian ikatan rangkap asam lemak (Darussalam, 1996).

f. Karbohidrat

Radiasi dapat menimbulkan penguraian dan kerusakan (degradasi) pada rantai karbohidrat (Darussalam, 1996).

2. 4 Interaksi Radiasi Gamma dengan Materi/Sel

Interaksi dengan sel, kerusakan terjadi pada DNA dan kromosom sel sangat bergantung pada proses perbaikan yang berlangsung. Bila proses perbaikan berlangsung dengan baik dan tepat atau sempurna, dan juga tingkat kerusakan yang dialami sel tidak terlalu parah, maka sel bisa kembali normal seperti keadaan semula. Bila proses perbaikan berlangsung namun tidak tepat maka sel tetap dapat hidup tetapi mengalami perubahan. Bila tingkat kerusakan sel sangat parah maka sel akan mati. Tingkat kerusakan sel akibat radiasi sangat bervariasi bergantung kepada tingkat sensitifitas sel terhadap radiasi. Sel yang paling sensitif adalah kulit dan sel yang mudah rusak akibat pengaruh radiasi adalah sel otak (Cervený dalam Fajrian, 2013).

Interaksi radiasi gelombang elektromagnetik ketika mengenai materi lebih menunjukkan sifat dualisme gelombang-partikel yaitu efek fotolistrik, efek Compton dan produksi pasangan.

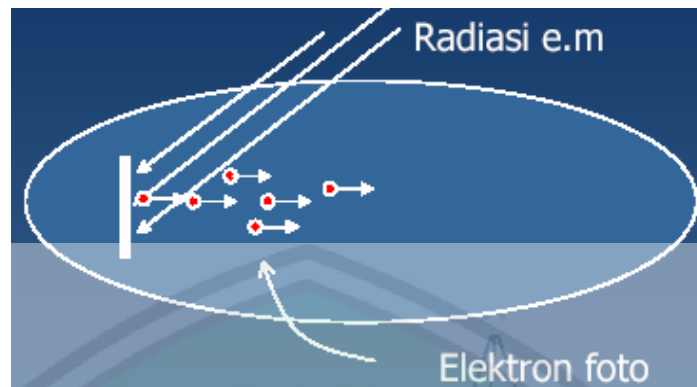
2.4.1 Efek Fotolistrik

Efek fotolistrik adalah interaksi antara foton dengan sebuah elektron yang terikat kuat dalam atom yaitu elektron pada kulit bagian dalam suatu atom, biasanya kulit K/L. Foton akan menumbuk elektron tersebut dan elektron terikat kuat maka elektron akan menyerap seluruh tenaga foton. Sebagai akibatnya elektron akan dipancarkan keluar dari atom dengan tenaga gerak sebesar selisih tenaga foton dan tenaga ikat elektron (Gautreau&Savin, 1999):

$$E_k = h\nu - E_b \quad (2.5)$$

Dengan E adalah energi foton(eV), E_k adalah energi kinetik elektron(eV), E_b adalah energi ikat elektron (eV), h adalah konstanta Plank ($6,63 \times 10^{-34}$ Js) dan ν adalah frekuensi gelombang elektromagnetik yang diserap atau yang dipancarkan elektron (Hz). Efek fotolistrik secara skematis dapat digambarkan sebagai berikut (Gautreau & Savin, 1999).

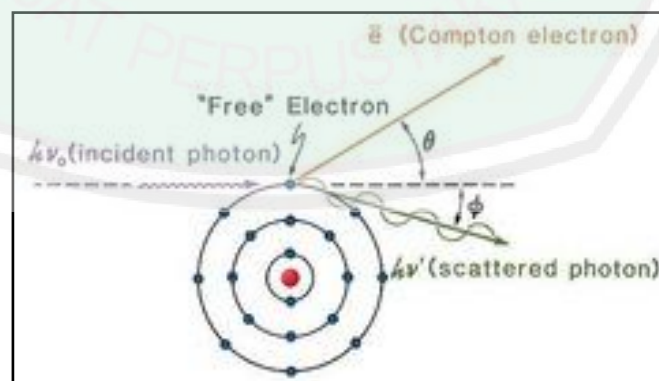
Pada efek fotolistrik, energi foton diserap oleh elektron orbit, sehingga elektron tersebut terlepas dari atom. Elektron yang dilepaskan akibat efek fotolistrik disebut fotoelektron. Efek fotolistrik terutama terjadi pada foton berenergi rendah yaitu antara energi + 0,01 MeV hingga + 0,5 MeV. Disamping itu efek fotolistrik banyak terjadi pada material dengan Z yang besar. Sebagai contoh efek fotolistrik lebih banyak terjadi pada timah hitam ($Z=82$) daripada tembaga ($Z=29$) (Yudi, 2008).



Gambar 2.2 Efek Fotolistrik (Yudi, 2008)

2.4.2 Efek Compton

Hamburan Compton terjadi antara foton dan sebuah elektron bebas yang terdapat pada kulit terluar sebuah atom. Apabila foton menumbuk elektron tersebut maka berdasarkan hukum kekekalan momentum tidak mungkin elektron akan dapat menyerap seluruh energi foton seperti pada efek fotolistrik. Foton akan menyerahkan sebagian energinya kepada elektron dan kemudian elektron akan terhambur membentuk sudut terhadap arah gerak foton datang yang digambarkan sebagai berikut (Gautreau&Savin, 1999):



Gambar 2.3 Mekanisme Hamburan Compton (Anonim, 2016)

Pada keadaan awal foton memiliki energi E yang diberikan:

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.6)$$

Dengan momentum $p=E/c$, elektron pada keadaan diam memiliki energi diam m_0c^2 . Setelah hamburan foton memiliki energi E' dan momentum p' dan bergerak pada arah yang membuat sudut θ terhadap arah foton datang. Elektron memiliki energi total E_e dan momentum p_e dan bergerak pada arah yang membuat sudut α terhadap foton datang. Dalam interaksi ini berlaku persyaratan kekekalan energi dan momentum, yakni (Gautreau & Savin, 1999):

$$E_{\text{awal}} = E_{\text{akhir}}$$

$$E + m_e c^2 = E' + E_e \quad (2.7)$$

$$(p_x)_{\text{awal}} = (p_x)_{\text{akhir}}$$

$$p = p_e \cos \alpha + p' \cos \theta \quad (2.8)$$

$$(p_y)_{\text{awal}} = (p_y)_{\text{akhir}}$$

$$0 = p_e \sin \alpha - p' \sin \theta \quad (2.9)$$

Ketiga persamaan di atas untuk mengukur energi dan arah foton hambur, maka E_e dan α dieliminasi. Sudut α dihilangkan dengan menggabungkan persamaan momentum (Gautreau & Savin, 1999):

$$p_e \cos \alpha = p - p' \cos \theta$$

$$p' \sin \theta = p_e \sin \alpha$$

Selanjutnya kuadratkan dan dijumlahlah:

$$p_e^2 = p^2 - 2pp' \cos \theta + p'^2 \quad (2.10)$$

Dengan menggunakan hubungan relativistas antara energi momentum diperoleh:

$$E_e^2 = c^2 p_e^2 + m_e^2 c^4 \quad (2.11)$$

$$(E + m_e c^2 - E')^2 = c^2(p^2 - 2pp' \cos \theta + p'^2)^2 + m_e^2 c^4 \quad (2.12)$$

Dengan melakukan penjabaran lebih lanjut diperoleh:

$$\frac{1}{E'} - \frac{1}{E} = \frac{1}{m_e c^2} (1 - \cos \theta) \quad (2.13)$$

Atau bisa ditulis dengan:

$$\bar{\lambda}' - \lambda = \frac{h}{m_e c^2} (1 - \cos \theta) \quad (2.14)$$

Kuantitas h/mec biasanya disebut panjang gelombang Compton, nilainya untuk sebuah elektron adalah $0,0234 \text{ \AA}$. Perhatikan bahwa perubahan panjang gelombang ini bergantung hanya pada sudut hamburan θ dan tidak bergantung pada energi foton datang (Gautreau & Savin, 1999).

2.4.3 Produksi Pasangan

Produksi pasangan terjadi karena interaksi antara foton dengan medan listrik dalam inti atom berat. Jika interaksi tersebut terjadi, maka foton akan lenyap dan sebagai gantinya akan timbul sepasang elektron-positron.

Peristiwa pemisahan pasangan terjadi bila positron berdekatan dengan elektron dan keduanya saling mendekati di bawah pengaruh gaya tarik menarik dari muatan yang berlawanan. Kedua partikel tersebut musnah pada saat yang sama dan massa yang musnah tersebut menjadi energi dan foton sinar gamma yang tercipta. Sedikitnya dua foton harus dihasilkan untuk memenuhi kekekalan energi dan momentum. Adapun persamaan yang diperoleh (Gautreau&Savin, 1999):

$$E_{awal} = E_{akhir} \quad \text{atau} \quad K_+ + K_- + 2m_0 c^2 = h\nu_1 + h\nu_2 \quad (2.15)$$

$$P_{awal} = P_{akhir} \quad \text{atau} \quad m_+ v_+ + m_- v_- = \frac{h}{2\pi} k_1 - \frac{h}{2\pi} k_2 \quad (2.16)$$

Dengan k adalah vektor perambatan foton, $|k| = 2\pi/\lambda$. Berlawanan dengan produksi pasangan, ternyata pemisahan pasangan dapat dilakukan di ruangan hampa dan prinsip-prinsip energi dan momentum dapat ditetapkan (Gautreau & Savin, 1999).

Sinar gamma dapat ditahan oleh materi dengan jumlah massa besar, yaitu yang memiliki nomor atom dan densitas tinggi, contohnya timbal. Dosis dan laju dosis sinar gamma dapat ditentukan dengan mengatur penahan dan jarak. Sinar gamma menghasilkan kerusakan yang mirip dengan yang disebabkan oleh sinar-X seperti terbakar, kanker dan mutasi genetika (Pelchzar dan Chan, 1988).

2.5 Hormesis Radiasi

Hormesis merupakan efek merangsang (stimulatif) akibat paparan radiasi dosis rendah. Hormesis mengandung pengertian bahwa suatu zat yang dalam jumlah banyak bersifat racun tetapi dalam jumlah sedikit bersifat sebagai perangsang kehidupan. Bertitik tolak pada pengertian ini maka hormesis radiasi mengandung pengertian bahwa radiasi dosis rendah bersifat mampu memberikan efek yang menguntungkan bagi kehidupan (Akhadi, 2000).

Hubungan antar dosis pemberian dan bobo embrio menghasilkan kurva dengan bentuk U. Menurut Calabrese dan Baldwin (1999) kondisi tersebut menunjukkan adanya fenomena yang disebut dengan hormesis. Hormesis adalah gambaran dari fenomena efek stimulasi dari suatu zat yang muncul pada pemberian dosis sangat rendah dan sangat tinggi. Fenomena hormesis ini biasa terjadi pada percobaan farmakologi dan toksisitas berbagai jenis zat tidak

tergantung pada jenis bahan kimia dari zat yang diuji respon hormesis ini juga terjadi pada berbagai organisme dari bakteri hingga manusia (Murtini, 2006).

Hipotesis tentang adanya hormesis radiasi muncul setelah dilakukan penelitian terhadap organisme bersel tunggal hingga tumbuh-tumbuhan dan binatang bersel banyak seperti serangga, ikan dan mamalia. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa paparan radiasi dosis rendah memberikan efek perbaikan terhadap binatang maupun tumbuhan percobaan dalam bentuk tingkat kesuburan, kesehatan, peningkatan umur rata-rata binatang percobaan, kemampuan penyembuhan luka, kerentanan terhadap penyakit, ketahanan terhadap infeksi dan lain-lain (Akhadi, 2000).

Radiasi hormesis memberikan kemampuan kepada benih untuk memperbaiki metabolismenya dan meningkatkan viabilitas serta vigor benih dan bibit. Selain itu, iradiasi juga mampu menciptakan keragaman baru yang sangat penting untuk proses seleksi (pemuliaan mutasi) terhadap individu-individu tanaman dengan karakter-karakter yang diinginkan yang mampu meningkatkan produktivitas hutan (Zanzibar, 2008).

2.6 Protein

2.6.1 Pengertian

Protein pertama kali diperkenalkan oleh pakar kimia Belanda yang bernama Mulder, yang mengisolasi susunan tubuh yang mengandung nitrogen dan protein (Sari, 2011).

Protein berasal dari kata *proteos* (utama atau pertama) merupakan senyawa makromolekul yang memiliki peranan penting pada setiap makhluk hidup. Protein

dihasilkan dari ekspresi genetik molekul DNA yang terdapat di dalam sel. Protein adalah suatu polipeptida dengan bobot molekul yang sangat bervariasi, dari 5.000 hingga lebih dari satu juta. Disamping berat molekul yang berbeda-beda, protein mempunyai sifat yang berbeda-beda pula dengan fungsi yang spesifik ditentukan oleh gen yang sesuai (Poedjiaji, 1994).

Secara kimiawi protein merupakan molekul yang terbentuk dari suatu urutan asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida. Protein memiliki beberapa fungsi, diantaranya sebagai enzim, zat pengatur pergerakan, pertahanan tubuh, alat pengangkut dan lain-lain tergantung pada struktur 3- dimensional protein tersebut. Antibodi merupakan protein yang sangat spesifik dan dapat mengenal serta berkombinasi dengan benda asing seperti virus, bakteri dan sel yang berasal dari organisme lain. Protein berperan penting untuk membedakan dirinya dengan zat asing yang masuk ke dalam tubuh (Berg, 2002).

Protein pada sel *E.coli* dibagi menjadi 2 yaitu protein intraselluler dan protein ekstraselluler. Protein intraselluler adalah protein yang terdapat dalam membran sel, ribosom dan nukleolid. Protein ekstraselluler adalah protein yang terdapat di dinding sel, membran luar dan flagel. Struktur protein terdiri dari struktur primer, sekunder, tersier dan kuartener (Ikmalia, 2008).

Struktur primer menunjukkan jumlah, jenis dan urutan asam amino dalam molekul protein. Maka dari itu ikatan asam amino ialah ikatan peptida, yang urutan ikatan peptidanya dapat diketahui. Struktur sekunder merupakan struktur protein yang dihasilkan oleh adanya interaksi hidrogen, struktur sekunder merupakan struktur protein yang dihasilkan oleh adanya interaksi hidrogen,

struktur sekunder terdiri dari α -heliks (spiral) dan β -sheet (lembaran berlipat). Struktur tersier menunjukkan kecenderungan polipeptida membentuk lipatan atau gulungan dan membentuk struktur yang lebih kompleks. Struktur kuartener menunjukkan adanya interaksi intramolekul antar unit-unit protein (Ikmalia, 2008).

Stabilitas struktur protein yang terbentuk karena adanya interaksi intramolekul dan interaksi intermolekul sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan di sekitarnya. Kondisi eksternal seperti perubahan pH yang ekstrim atau pengaruh panas dapat menyebabkan struktur tiga dimensi protein rusak dan kehilangan aktivitas biologisnya. Oleh karena itu protein memerlukan kondisi tertentu yang memungkinkan senyawa tersebut dapat menjalankan aktivitas biologisnya secara optimal (Hermanto, 2003).

2.6.2 Struktur Protein

Berdasarkan strukturnya, protein dibentuk oleh (Bintang, 2010):

1. Struktur primer, dibentuk oleh ikatan peptida antar asam amino. Struktur ini mengacu pada jumlah, jenis, serta urutan asam amino yang membentuk rantai polipeptida.
2. Struktur sekunder, dibentuk oleh ikatan hidrogen intramolekuler yang terjadi diantara oksigen karbonil dan nitrogen amida pada perangkat peptida.
3. Struktur tersier, merupakan rangkaian molekular yang menggambarkan bentuk keseluruhan dari protein.
4. Struktur kuartener dibentuk oleh beberapa polipeptida yang berkaitan satu sama lain tidak kovalen.

2.6.3 Kerusakan Protein

Kerusakan protein terjadi akibat serangan radikal bebas ini termasuk oksidasi protein yang mengakibatkan kerusakan jaringan tempat protein itu beradanya (Anies, 2009). Perubahan akibat kerusakan struktur yang dibentuk oleh interaksi antargugus R atau kerusakan gugus R akan merusak fungsi protein yang bersangkutan. Sementara itu, kerusakan yang terjadi pada *backbone* yang dibentuk oleh ikatan peptide akan menghancurkan protein tersebut. Bagian-bagian protein (gugus R dan *backbone*) merupakan target reaktivitas senyawa radikal bebas (Mater, et al., 2000; Winarsih, 2007).

Kerusakan protein diantaranya disebabkan oleh (Anonymous, 2009):

- a. *Autolysis*, penembakan tubuh organisme yang mati oleh enzim tanpa bantuan bakteri. Contoh ikan mati enzim tubuh ikan merombak ikan tersebut maka daging ikan jadi lunak.
- b. *Denaturasi*, berubahnya sifat fisik dari protein. Pada daging ikan semula kenyal maka menjadi kaku. Denaturasi disebabkan oleh panas, dingin, zat kimia, garam.
- c. *Koagulasi*, proses lebih lanjut dari denaturasi.
- d. *Penambahan*, protein dirombak oleh mikroba menjadi asam amino, maka akan terjadi bau busuk pada ikan.
- e. *Pelarutan*

2.6.4 Pengukuran Kadar Protein

Adapun metode yang dilakukan untuk penetapan kadar protein pada penelitian ini yaitu dengan metode *Lowry*.

Metode *Lowry* dikembangkan pada tahun 1951 dengan menggunakan reagen pendeteksi folin-ciocalteu. Reagen ini bisa digunakan untuk mendeteksi gugus-gugus fenolik. Dalam keadaan basa, ion tembaga divalen (Cu^{2+}) dengan ikatan peptida yang mereduksi Cu^{2+} menjadi tembaga monovalen (Cu^+) (Bintang, 2010). Nantinya dalam analisa protein reagen folin-ciocalteu dapat mendeteksi residu oksidasi dimana gugus fenolik tirosin akan mereduksi fosdotungstat dan fosfomolibdat yang terdapat pada reagen tersebut menjadi tungsten dan molibden yang berwarna biru. Hasil reduksi dapat dianalisa lebih lanjut dengan melihat puncak absorpsi yang lebar dengan panjang gelombang sinar tampak (600-800 nm).

Kadar protein dapat ditentukan dengan membaca kurva standar, dibuat dengan larutan protein murni yang telah diketahui kadar proteinnya misalnya BSA (*Bovine serum Albumin*) yang memiliki rentang konsentrasi tertentu dimana konsentrasi sampel protein berada di dalam rentang tersebut dengan konsentrasi yang semakin menaik (Slamet Sudarmadji *et al.*, 1981).

2.7 Vaksin

Salah satu alternatif yang dapat digunakan dalam penanganan penyakit infeksi ini adalah dengan menggunakan teknik nuklir. Berbagai penyakit yang bersumber dari virus, bakteri, protozoa dan cacing telah banyak yang memanfaatkan teknik nuklir dalam proses pembuatan bahan vaksinnya (Tabel 2.2). Vaksin dapat merangsang sistem imun pada inang untuk melawan infeksi organisme patogen (Tetrianan dan Sugoro, 2007; Ramamoorthy, S., *et al.*, 2006).

Tabel 2.2 Vaksin iradiasi yang telah dihasilkan (Ramamoorthy, S., *et. al.*, 2006)

Penyakit	Jenis vaksin	Target vaksinasi
<i>Porcine parvovirus</i>	Virus DNA, inaktif	Manusia
Ebola Zaire	Virus RNA, inaktif	Manusia
Marburg Musake	Virus RNA, inaktif	Manusia
VEE 1A/B	Virus RNA, inaktif	Manusia
WEE CBA 87/4	Virus RNA, inaktif	Manusia
Leukimia	Virus DNA, inaktif	Manusia
Influenza	Virus DNA, inaktif	Manusia
TBC	Bakteri, inaktif	Manusia, Hewan
Listeria	Bakteri, inaktif	Manusia
<i>Brucella abortus</i>	Bakteri, inaktif	Hewan
Malaria	Protozoa, aktif	Manusia
Trypanosoma	Protozoa, aktif	Manusia
Koksivet	Protozoa, aktif	Hewan
<i>Neospora caninum</i>	Protozoa, aktif	Hewan
<i>Dictyocaulus</i>	Cacing, inaktif	Hewan
Fasciolosis	Cacing, aktif	Hewan
HHVI	Cacing, aktif	Manusia
Schistosomiasis	Cacing, aktif	Manusia

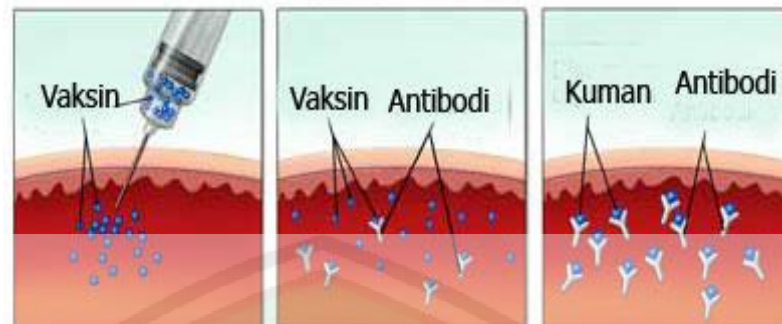
Vaksin berasal dari kata *vaccine* merupakan suatu suspensi mikroorganisme atau hasil-hasil pemurniannya seperti protein, peptide, partikel serupa virus, dan sebagainya yang dapat menimbulkan penyakit tetapi telah dimodifikasi dengan cara mematikan atau mengatenuasi (menghentikan transkripsi DNA pada suatu kodon, sehingga RNA yang terbentuk lebih pendek dari biasanya), sehingga tidak akan menimbulkan penyakit dan dapat merangsang

pembentukan kekebalan / antibodi apabila diinokulasikan (Baratawijadja Karnen, 2004).

Bahan dasar vaksin atau sering disebut antigen vaksin ini adalah berasal dari kuman atau bakteri, juga virus yang patogen, yang bisa berjangkit dan menimbulkan penyakit bagi manusia atau hewan. Oleh karena itu perlakuan terhadap vaksin harus benar-benar hati-hati. Untuk memperoleh antigen sebagai bahan dasar pembuat vaksin, bisa dilakukan secara langsung dari bahan tubuh yang terinfeksi oleh bibit penyakit atau dengan cara menanam bibit penyakit ini di dalam media pembiakan yang disiapkan secara khusus. Bakteri atau kuman bisa hidup di dalam, di luar tubuh makhluk hidup, atau juga di media pembiakan yang sesuai di laboratorium, namun virus hanya bisa hidup di dalam sel makhluk hidup, atau dalam media pembiakan virus yang dibuat khusus terdiri dari sel hidup (*Medical Research News*, 2006).

Berdasarkan bahan dasarnya, vaksin dibagi menjadi empat tipe yaitu (1) vaksin dengan bahan dasar organisme patogen yang dimatikan atau inaktif, (2) vaksin dengan parasit yang dilemahkan atau daya virulensinya rendah, (3) vaksin dengan submit protein hasil purifikasi, rekombinasi atau proses kimia dan (4) vaksin asam nukleat baik DNA maupun RNA (Nature, 2005).

Bila unsur asing ini menyerang tubuh, maka sistem kekebalan akan mengaktifkan sel-sel tertentu menghancurkan unsur asing tersebut. Jika tubuh diserang ulang bakteri atau virus di masa datang, sel ingatan akan diaktifkan dan menjawab lebih cepat dan lebih kuat untuk menghancurkan bakteri (*Medical Research News*, 2006).



Gambar 2.4 Mekanisme kerja vaksin (Meta, 2012)

Pada gambar 2.5 menunjukkan mekanisme kerja vaksin, dimana ketika vaksinasi berlangsung, vaksin yang berasal dari virus, bakteri atau organisme yang telah mati maupun yang sudah dalam bentuk aman, disuntikkan ke dalam sitem (kiri). Vaksin merangsang sistem kekebalan tubuh untuk memproduksi antibodi terhadap suatu organisme (tengah). Kapanpun tubuh terserang oleh kuman ini setelah vaksinasi, antibodi pada sistem kekebalan tubuh akan menyerang dan menghentikan infeksi (kanan) (Baratawijadja dan Karnen, 2004).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan April – Agustus 2017 di Laboratorium Fisika Lanjutan Jurusan Fisika Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Laboratorium Kimia, Laboratorium Genetika dan Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

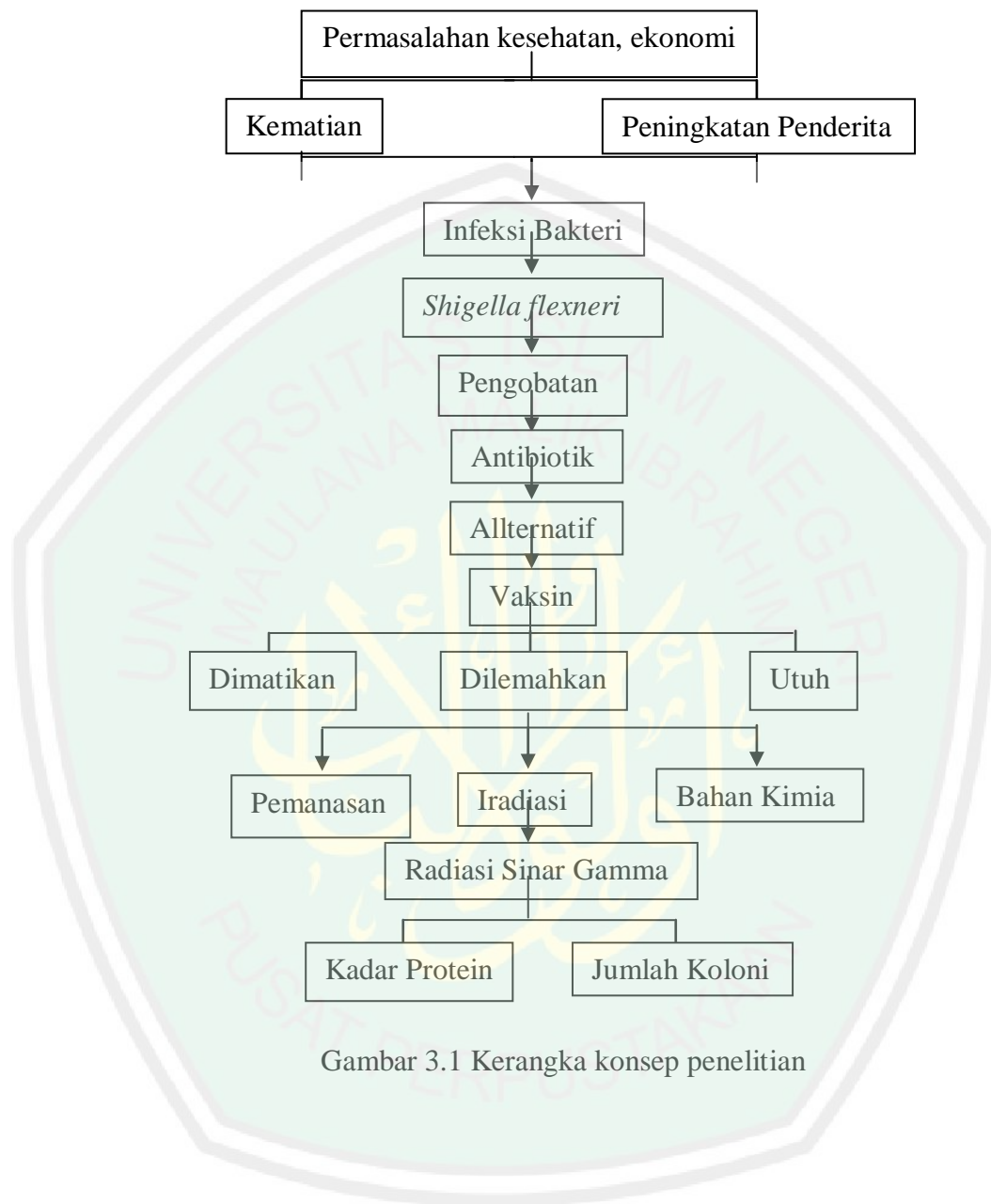
3.2 Jenis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang diajukan, penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimen laboratorik, karena data yang diperoleh pengukuran langsung dari objek penelitian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lamanya pemaparan sinar gamma terhadap jumlah koloni bakteri dan kadar bakteri *Shigella flexneri* sebagai salah satu tahap pendahuluan pembuatan bahan vaksin. Isolat bakteri *Shigella flexneri* diberi iradiasi sinar gamma dengan lama pemaparan antara 30 menit sampai 150 menit dengan interval 30 serta 0 menit sebagai kontrol dan jarak antara sampel dengan sumber iradiasi adalah sama. Adapun prosedur penelitian antara lain sterilisasi alat dengan cara membungkus alat-alat dengan *aluminium foil* dan inkubasi, penyiapan media NA dan NB dan peremajaan bakteri *Shigella flexneri*. Kemudian bakteri *Shigella flexneri* diberi perlakuan iradiasi sinar gamma. Penentuan pengaruh lama pemaparan diketahui dari jumlah koloni bakteri dan kultur hasil iradiasi

dilakukan pengujian kadar protein menggunakan spektrofotometer. Langkah terakhir dilakukan analisa dari data–data yang diperoleh.



3.3 Kerangka Konsep Berfikir



Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

Infeksi merupakan masalah besar dalam kesehatan dan telah menghabiskan dana yang sangat besar. Hilangnya harapan hidup atau produktivitas akibat penyakit infeksi bukan sekedar masalah kesehatan semata, tetapi juga menyangkut permasalahan sosial dan ekonomi. Infeksi ini dapat menyerang manusia maupun hewan sebagai inang atau vektor (Tetrianan dan Sugoro, 2007).

Infeksi ataupun penyakit akibat infeksi pada manusia telah menyebabkan kematian sebesar 13 juta orang di seluruh dunia setiap tahun, terutama di negara-negara berkembang seperti Indonesia (IAEA, 2000). Empat puluh persen kematian di negara berkembang disebabkan oleh penyakit infeksi sedangkan di negara maju hanya sebesar satu persen. Kematian yang besar tersebut dapat dicegah jika dilakukan diagnosa yang cepat dan tepat serta didukung oleh penanganan yang efektif dan efisien (Machi, S, 2000).

Salah satu infeksi yang sering terjadi di negara-negara berkembang termasuk Indonesia adalah penyakit diare. Penelitian yang dilakukan Herwana *et al.*, (2010) pada Februari 2005 sampai September 2007 di Jakarta Selatan terhadap 612 anak usia 0-12 tahun yang mengalami diare menunjukkan 9,3% pasien disebabkan oleh *Shigella sp.* dan *Shigella flexneri* merupakan spesies yang paling sering ditemukan dengan prevalensi sebesar 63,2%.

Pengobatan penyakit diare telah banyak dilakukan, namun pengobatan yang ada lebih bersifat pencegahan. Antibiotik yang diberikan kepada pasien hingga saat ini mulai menimbulkan resistansi. Sehingga diperlukan pengobatan yang lebih efektif dalam menangani penyakit ini. Salah satunya adalah dengan

menggunakan vaksin. Berdasarkan bahan dasarnya, vaksin dibagi menjadi empat tipe yaitu (1) vaksin dengan bahan dasar organisme patogen yang dimatikan atau inaktif, (2) vaksin dengan parasit yang dilemahkan atau daya virulensinya rendah, (3) vaksin dengan submit protein hasil purifikasi, rekombinasi atau proses kimia dan (4) vaksin asam nukleat baik DNA maupun RNA (Nature, 2005).

Vaksin yang menggunakan iradiasi dibagi menjadi dua macam, yaitu vaksin aktif dan vaksin inaktif. Vaksin aktif adalah vaksin dengan bahan dasar organisme hidup yang telah dilemahkan dengan proses iradiasi, sedangkan vaksin inaktif adalah vaksin dengan bahan dasar organisme mati hasil iradiasi. Vaksin inaktif sendiri dibagi menjadi dua, yaitu vaksin inaktif rekombinan dan non rekombinan. Vaksin inaktif rekombinan diperoleh dengan cara melemahkan organisme terlebih dahulu melalui teknik rekombinan setelah itu dinaktivasi dengan iradiasi. Vaksin inaktif non rekombinan adalah pemakaian iradiasi untuk inaktivasi organisme patogen secara langsung (Nature, 2005).

Vaksin yang nantinya akan digunakan dalam penelitian ini adalah vaksin inaktif bakteri. Bakteri hasil iradiasi yang didapat akan dilihat pengaruhnya terhadap jumlah koloni dan kadar proteinnya. Kadar protein yang didapat diperoleh dari uji Lowry dengan spektrofotometer.

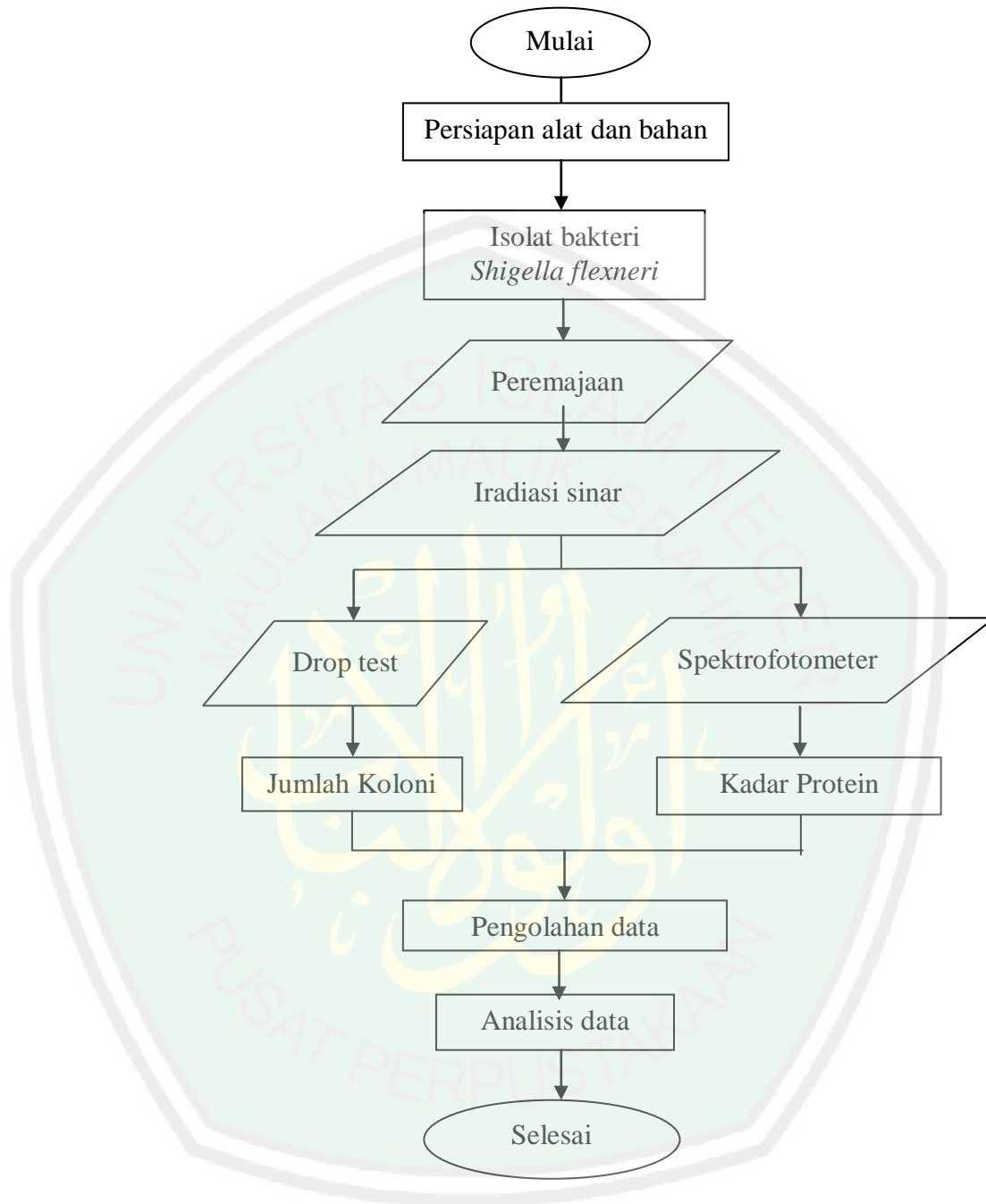
3.4 Kerangka Prosedur

Prosedur penelitian yang harus dilakukan diawali dengan persiapan alat dan bahan. Kemudian dilakukan preparasi sampel dengan melakukan peremajaan bakteri *Shigella flexneri* sebelum diberi perlakuan. Setelah sampel selesai dibuat diberi perlakuan pemaparan sinar gamma, dengan variasi lama pemaparan.

Setelah sampel diberi perlakuan dihitung jumlah koloni dari masing-masing sampel dan diukur kadar proteinnya. Kadar protein dari masing-masing sampel diukur menggunakan metode Lowry dengan spektrofotometer.

Spektrofotometer merupakan suatu alat yang digunakan untuk mengukur energi yang diserap oleh suatu zat. Suatu sinar monokromatik yang dilewatkan pada suatu zat diserap zat tersebut dan sisa sinar diteruskan. Penerapan (absorban) suatu zat berbanding lurus dengan konsentrasinya. Pada penelitian ini spektrofotometer yang digunakan merupakan spektrofotometer visibel. Daerah visibel berada pada rentang 400-800 nm. Pada daerah visibel penentuan kadar protein dapat dilakukan dengan mereaksikan protein dengan suatu zat warna, misalnya *coomassie brilliantblue G-250*. Ikatan protein-*coomassie* mempunyai panjang gelombang maksimum pada 590 nm (Rodrigus, 2005).

Dilakukan analisis hasil dari pengolahan data kadar protein dan jumlah koloni yang sudah didapatkan.



Gambar 3.2 Kerangka prosedur penelitian

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat-Alat yang Digunakan

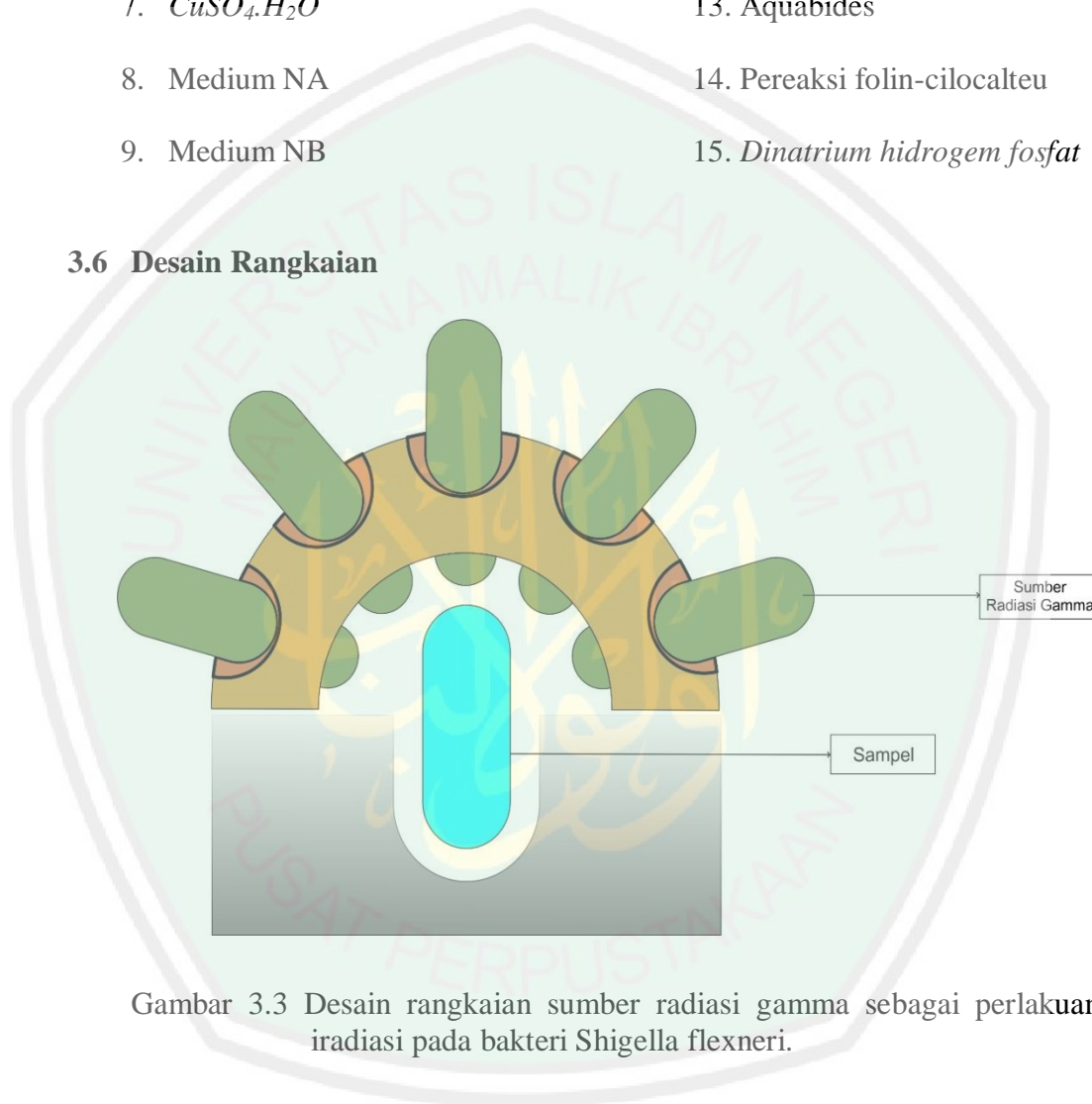
- | | |
|---|------------------------------------|
| 1. Jarum ose 1 buah | 14. Stronsium (Sr) |
| 2. Autoklaf 1 buah | 15. Botol semprot 1 buah |
| 3. Cawan petri 25 buah | 16. Gelas ukur 50 ml 1 buah |
| 4. Tabung reaksi 10 buah | 17. Pipet tetes 1 buah |
| 5. Inkubator 1 buah | 18. <i>Magnetic stirrer</i> 1 buah |
| 6. Inkubator shaker 1 buah | 19. Timbangan analitik |
| 7. Tabung eppendoif 8 buah | 20. Bunsen 1 buah |
| 8. Erlenmeyer 500 ml 1 buah | 21. Vortek 1 buah |
| 9. Erlenmeyer 100 ml 1 buah | 22. Korek api 1 buah |
| 10. Spektrofotometer UV-VIS | 23. <i>Aluminium foil</i> |
| 11. Pengaduk kaca (spatula) 1 buah | 24. Labu ukur |
| 12. Beaker glass 500 ml 1 buah | 25. Mikropipet 10 buah |
| 13. Sumber Gamma ray terdiri dari Cobalt (Co), Amerisium(Am), Natrium (Na), Cesium (Cs) dan | 26. pH meter |
| | 27. Blue tip 50 buah |
| | 28. Sentrifuge 1 buah |
| | 29. Hot plate 1 buah |

3.5.2 Bahan-Bahan yang Digunakan

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. Isolat bakteri <i>Shigella flexneri</i> | 2. <i>Natrium hidroksida</i> |
| | 3. 10% <i>Ammonium persulfate</i> |

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 4. <i>Bovin Serum Albumin (BSA)</i> | 10. Larutan NaCl |
| 5. <i>Natrium klorida</i> | 11. Aquades |
| 6. Na.K-tatrat | 12. Alkohol 95% |
| 7. $CuSO_4.H_2O$ | 13. Aquabides |
| 8. Medium NA | 14. Pereaksi folin-cilocalteu |
| 9. Medium NB | 15. <i>Dinatrium hidrogem fosfat</i> |

3.6 Desain Rangkaian



Gambar 3.3 Desain rangkaian sumber radiasi gamma sebagai perlakuan iradiasi pada bakteri *Shigella flexneri*.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Preparasi Sampel

A. Sterilisasi alat

Alat yang akan dipakai dalam pengujian ini harus disterilkan terlebih dahulu, yaitu pertama dengan mencuci alat sampai bersih kemudian ditiriskan sampai kering lalu dibungkus dengan kertas dan disterilkan dalam autoklaf.

B. Persiapan media

1. Media NA (*Nutrient Agar*)
 - a. Ditimbang 5 gr medium NA lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml. Kemudian disuspensikan ke dalam aquades sebanyak 250 ml.
 - b. Medium dipanaskan dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* di atas *hot plate* sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna selama 1 menit.
 - c. Ditunggu hingga agak dingin sekitar 40-45 °C.
 - d. Dituang ke tabung reaksi sebanyak 5 ml untuk membuat agar miring dan sisanya tetap di dalam erlenmeyer dan ditutup rapat dengan kapas.
 - e. Disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit, pada suhu 121 °C pada tekanan 1-2 atm.
2. Media NB (*Nutrient Broth*)
 - a. Ditimbang 2,5 gr media NB lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml. Kemudian disuspensikan ke dalam aquades sebanyak 250 ml.

- b. Medium dipanaskan dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* di atas *hot plate* sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna selama 1 menit.
- c. Ditunggu hingga agak dingin sekitar suhu 45 °C.
- d. Disterilisasikan di dalam autoklaf selama 15 menit, pada suhu 121 °C dan tekanan 1-2 atm.

3.7.2 Perlakuan Sebelum Pemaparan Radiasi

Sebelum dilakukan pemaparan radiasi sinar gamma, kultur yang sudah berumur 1 hari pada agar miring NA diinokulasi sebanyak 3 ose ke dalam medium NB 30 ml lalu diinkubasi pada suhu 37 °C dengan agitasi 120 rpm selama 24 jam.

3.7.3 Iradiasi *Shigella Flexneri* dengan Sinar Gamma

- a. Sebanyak 20 ml kultur selama 10 menit disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan dibuang dan pelet yang terbentuk di dasar tabung sentrifus dicuci dengan NaCl 0,9% sebanyak dua kali.
- b. Pelet yang diperoleh diencerkan hingga diperoleh jumlah sel 10^8 sel/ml
- c. Dibagi di dalam 6 tabung reaksi masing-masing 5 ml. Kemudian diiradiasi dengan sinar gamma dengan variasi lama waktu pemaparan yaitu diberikan 0 menit, 30 menit, 60 menit, 90 menit, 120 menit, 150 menit. Perlakuan untuk pemaparan radiasi diulang sebanyak 3 kali pada sampel yang berbeda, dengan jarak yang sama. Tabung berisi larutan bakteri tanpa

iradiasi (0 Gy) digunakan sebagai kontrol. Maka didapatkan 18 sampel dalam pemaparan dan 3 sampel sebagai kontrol.

- d. Setelah diiradiasi, masing-masing larutan bakteri diencerkan berseri 10^{-1} sampai 10^{-7} .
- e. Bakteri ditanam pada medium NA plate dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- f. Kultur hasil iradiasi kemudian dihitung jumlah selnya dengan metode droptest (untuk uji inaktivasi). Hasil yang diperoleh dibuat kurva dengan axis (dosis iradiasi) dan koordinat (jumlah sel).

3.7.4 Pengukuran Kadar Protein Bakteri *Shigella flexneri*

Pengukuran kandungan protein pada bakteri *Shigella flexneri* hasil iradiasi sinar gamma dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri Malang.

a. Pembuatan Spektrum

Kuvet diisi dengan salah satu larutan protein standar dengan konsentrasi 200 ppm. Larutan blanko disiapkan dengan menggunakan aquades. Absorban larutan dibaca pada kisaran panjang gelombang 400-800 nm dengan interval 5mm. Pada setiap interval panjang gelombang diukur dengan larutan standar dan blanko. Dibuat kurva hubungan panjang gelombang dengan absorbans standar terkoreksi. Panjang gelombang yang tepat untuk larutan tersebut ditentukan dan digunakan untuk pengukuran selanjutnya.

b. Pembuatan kurva kalibrasi

Dibuat larutan stok BSA konsentrasi 200 ppm dengan menimbang serbuk BSA sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 25 ml.

Kemudian dilakukan pengenceran dengan seri konsentrasi 0, 40, 80, 120, 160, dan 200 ppm. Sebanyak 200 µl larutan protein standar BSA dengan seri pengenceran konsentrasi (0, 40, 80, 120, 160 dan 200 ppm). Larutan standar dimasukkan kedalam tabung. Campuran 50:1 (Na_2CO_3 2% dalam NaOH 0,1 N dan larutan CuSO_4 0,5% dalam larutan Na.K tartrat 1%) disiapkan. Kemudian campuran tersebut ditambahkan sebanyak 5 ml ke dalam larutan standar dan dibiarkan selama 10 menit, lalu ditambahkan 0,5 ml pereaksi folin-ciocalteau, kocok dan dibiarkan selama 30 menit, absorbannya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 746 nm.

- c. Pengukuran kadar protein bakteri *Shigella flexneri* hasil iradiasi gamma
Sebanyak 1 ml sampel bakteri *Shigella flexneri* dimasukkan ke dalam tabung. Campuran 50:1 larutan (Na_2CO_3 2% dalam NaOH 0,1 N dan larutan CuSO_4 0,5 % dalam larutan Na.K tartrat 1 %) disiapkan. Kemudian campuran tersebut ditambah sebanyak 5 ml ke dalam larutan sampel dan dibiarkan selama 10 menit, lalu ditambahkan 0,5 ml pereaksi folin-ciocalteau, kocok dan dibiarkan selama 30 menit. Absorbannya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 746 nm.

3.8 Teknik Pengolahan Data

Data yang telah diperoleh ada 2 kategori. Data pertama yaitu berupa hasil penghitungan koloni bakteri *Shigella flexneri* setelah diberi paparan iradiasi sinar gamma dengan variasi lama waktu paparan diberikan 0 menit, 30 menit, 60 menit, 90 menit, 120 menit, dan 150 menit. Selanjutnya diukur % viabilitas dan kultur hasil iradiasi kemudian dihitung jumlah selnya dengan metode droptest (untuk uji

inaktivasi). Dicatat pada tabel 3.1. Hasil yang diperoleh dibuat kurva dengan axis (lamanya pemaparan) dan ordinat (jumlah sel). Data selanjutnya adalah pengukuran kadar protein bakteri *Shigella flexneri* hasil iradiasi sinar gamma menggunakan spektrofotometer.

Tabel 3.1 Pengamatan jumlah sel bakteri *Shigella flexneri* hasil iradiasi sinar gamma

Lama Pemaparan (Menit)	Jumlah bakteri			Persentase (%) Viabilitas
	Sampel			
	I	II	III	
0				
30				
60				
90				
120				
150				

3.8 Teknik Analisa Data

Dalam menganalisa data viabilitas setelah perlakuan iradiasi sinar gamma dengan variasi lama waktu paparan iradiasi yang diberikan 0 menit, 30 menit, 60 menit, 90 menit, 120 menit, dan 150 menit dapat diperoleh dari perbandingan antara jumlah koloni bakteri hidup setelah diberi iradiasi dengan jumlah koloni bakteri sebelum iradiasi. Selanjutnya masing-masing sampel dianalisa konsentrasi kadar proteinnya menggunakan spektrofotometer *UV-Vis*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh lama pemaparan iradiasi sinar gamma terhadap bakteri *Shigella flexneri*. Jenis iradiasi yang digunakan adalah radiasi sinar gamma dengan 4 macam sumber diantaranya Co-60, Sr-90, Na-22 dan Cs-137 dengan intensitas dari masing-masing sumber adalah 74 kBq. Energi sinar gamma yang dihasilkan dari masing-masing sumber adalah Co-60 sebesar 1,3 MeV, Cs-137 sebesar 0,662 MeV, Na-22 sebesar 1,259 MeV dan Sr-90 sebesar 1,882 MeV.

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Jumlah Koloni Bakteri *Shigella flexneri*

Sebelum melakukan penelitian mengenai jumlah koloni bakteri, terlebih dahulu dilakukan uji pewarnaan gram terhadap isolat bakteri. Uji pewarnaan gram dilakukan karena mikroba sulit dilihat dengan cahaya karena sifatnya mengabsorpsi dan membiaskan cahaya. Namun dengan mewarnai mikroorganisme, zat warna yang digunakan dapat mengabsorbansi dan membiaskan cahaya sehingga kontras mikroba dengan sekelilingnya dapat ditingkatkan. Penggunaan zat warna memungkinkan peneliti melakukan pengamatan terhadap bentuk dan gram mikroba. Adanya perbedaan warna dari hasil uji pewarnaan disebabkan oleh perbedaan struktur dinding pada sel. Dinding pada sel bakteri gram positif banyak mengandung peptidoglikan. Permeabilitas dinding sel kurang dan kompleks ungu kristal yodium tidak dapat keluar.

Sedangkan dinding sel bakteri gram negatif banyak mengandung lipopolisakarida, sehingga permeabilitas dinding sel lebih besar memungkinkan terlepasnya kompleks ungu kristal yodium (lampiran 3).

Hasil maksimal uji pewarnaan gram didapatkan pada mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Hasil pada mikroskop menunjukkan jika bentuk dan warna bakteri termasuk dalam golongan gram negatif (lampiran 3).

Sampel yang didapat kemudian diiradiasi dengan variasi lama paparan yaitu 0 menit, 30 menit, 60 menit, 90 menit, 120 menit dan 150 menit. Sampel diencerkan hingga 10^{-7} setelah diberi paparan radiasi gamma. Hasil dari pengenceran ketujuh (10^{-7}) diambil sebanyak 1 ml dan ditanam pada media PCA. Hasil penanaman diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, sehingga terbentuk koloni bakteri pada medium PCA.

Koloni-koloni tersebut dihitung secara manual, sehingga didapatkan hasil seperti pada tabel 4.1.



Gambar 4.1 Koloni bakteri *Shigella flexneri* hasil iradiasi sinar gamma pada medium PCA .

Jumlah koloni bakteri yang diketahui digunakan untuk mengukur viabilitas bakteri. Pengujian viabilitas dilakukan untuk mengetahui pengaruh lamanya pemaparan sinar gamma terhadap jumlah koloni bakteri.

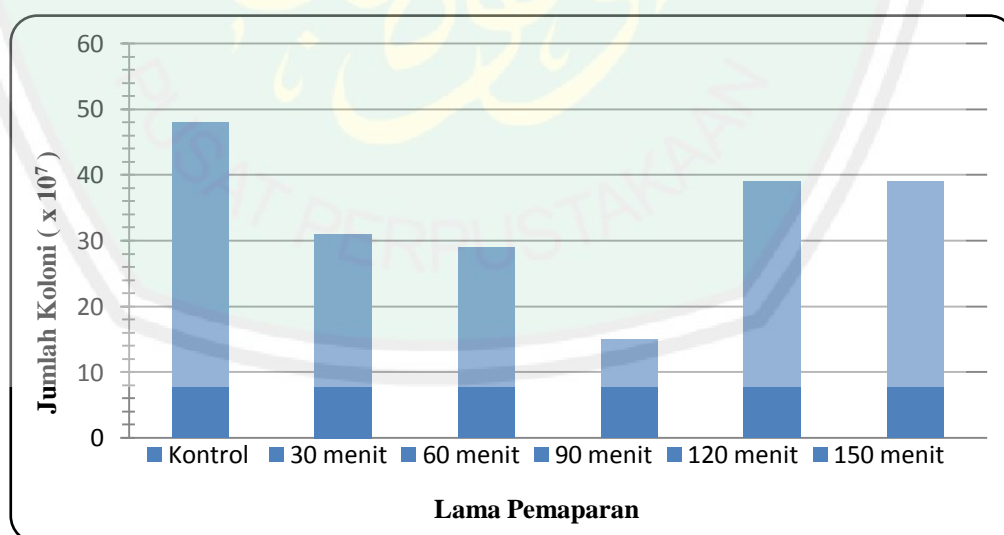
Data hasil penelitian diuji dengan menggunakan uji parametrik One Way ANOVA, dengan variabel antara viabilitas bakteri dan variasi lama pemaparan iradiasi sinar gamma. Sebelum data diuji menggunakan One Way ANOVA, dilakukan pengujian normalitas terlebih dahulu. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data yang didapat normal atau tidak normal. Uji normalitas yang digunakan adalah Kolmogorov-Smirnov.

Dari hasil uji normalitas semua data lama pemaparan baik kontrol (0 menit), 30 menit, 60 menit, 90 menit, 120 menit maupun 150 menit memiliki nilai signifikan $> 0,002$ (lihat lampiran 1) yang menunjukkan bahwa H_0 diterima atau data normal. Kemudian dari hasil uji parametrik One Way ANOVA (lihat lampiran 1) didapatkan nilai signifikan $< H_0$ yang artinya ditolak. Hal tersebut menunjukkan bahwa adanya pengaruh lama pemaparan iradiasi sinar gamma terhadap viabilitas sel bakteri. Hasil penelitian pengaruh lama pemaparan iradiasi sinar gamma terhadap jumlah koloni isolat bakteri *Shigella flexneri* ditunjukkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Jumlah koloni dan viabilitas bakteri *Shigella flexneri* hasil iradiasi sinar gamma

Lama Pemaparan (menit)	Jumlah Bakteri (sel/ml)			Rata-rata (sel/ml)	Persentase (%) Viabilitas
	Sampel				
	I	II	III		
0	58×10^7	42×10^7	44×10^7	48×10^7	100
30	36×10^7	23×10^7	33×10^7	31×10^7	64,6
60	25×10^7	28×10^7	34×10^7	29×10^7	60,4
90	15×10^7	23×10^7	8×10^7	15×10^7	31,3
120	50×10^7	30×10^7	37×10^7	39×10^7	81,3
150	38×10^7	38×10^7	41×10^7	39×10^7	81,3

Dari tabel 4.2 dapat diketahui jumlah bakteri yang masih hidup pada lama pemaparan 0 menit adalah 48×10^7 cfu/ml, pada lama pemaparan 30 menit berjumlah 31×10^7 cfu/ml, pada lama pemaparan 60 menit berjumlah 29×10^7 cfu/ml, pada lama pemaparan 90 menit berjumlah 15×10^7 cfu/ml dan pada lama pemaparan 120 dan 150 menit berjumlah sama yaitu 39×10^7 cfu/ml. Hasil data pada tabel 4.1 dapat dibuat dalam bentuk kurva sebagaimana gambar 4.2.



Gambar 4.2 Pengaruh antara lama pemaparan sinar gamma dengan jumlah koloni bakteri *Shigella flexneri*.

Gambar 4.2 menunjukkan analisa hubungan antara jumlah koloni isolat bakteri *Shigella flexneri* dengan variasi lama pemaparan iradiasi sinar gamma. Hal ini menunjukkan bahwa pemaparan iradiasi sinar gamma memiliki pengaruh pada jumlah koloni isolat bakteri *Shigella flexneri*. Data hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa semakin lama pemaparan sinar gamma dilakukan maka semakin rendah jumlah koloni bakteri sel/ml.

Berdasarkan hasil data yang didapat tersebut bisa dicari besarnya nilai % viabilitas dengan menggunakan persamaan:

$$\% \text{ viabilitas} = \frac{\text{jumlah koloni bakteri hidup setelah radiasi}}{\text{jumlah koloni bakteri hidup tanpa radiasi}} \times 100\% \quad (4.1)$$

Dengan menggunakan persamaan 4.1, maka didapat nilai % viabilitas diantaranya pada 0 menit adalah 100%, pada pemaparan 30 menit adalah 64,6%, pada pemaparan 60 menit adalah 60,4%, pada pemaparan 90 menit adalah 31,3%, pada pemaparan 120 dan 150 menit adalah 81,3%.

4.1.2 Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Kadar Protein

Bakteri

Kadar protein bakteri *Shigella flexneri* diukur dengan menggunakan metode *Lowry* dan alat spektrofotometer *UV-Vis*. Penentuan kadar protein pada metode ini didasarkan atas dua reaksi pada larutan. Reaksi pertama adalah campuran dari larutan Na_2CO_3 dalam NaOH , kemudian dicampur kembali dengan larutan NaK-Tatrat dan $\text{CuSO}_4\text{H}_2\text{O}$. Kompleks Cu^{2+} -protein di dalam larutan akan tereduksi menjadi Cu^+ . Ion Cu^+ akan mereduksi reagen folin-Ciocalteu, kompleks phosphotungstat menghasilkan heteropoly molybdenum blue akibat reaksi

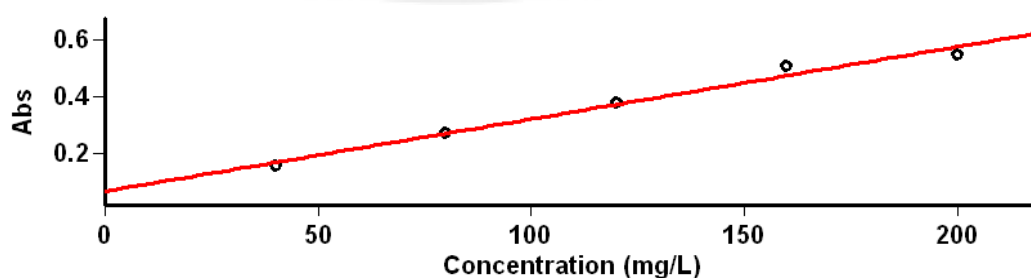
oksidasi gugus aromatik (rantai samping asam amino). Reaksi ini menghasilkan warna kebiruan yang bisa dibaca oleh alat spektrofotometer secara kolometri. Panjang gelombang serapan maksimum yang digunakan adalah 746 nm (Lampiran 4). Pembanding yang digunakan adalah BSA dengan seri konsentrasi 0, 40, 80, 120, 160, dan 200 ppm.

Tabel 4.2 Nilai Serapan Spektrofotometer *UV-Vis* Seri Konsentrasi Larutan BSA (sebagai larutan standar).

Konsentrasi Larutan BSA ($\mu\text{g/ml}$)	Serapan ($\lambda=746 \text{ nm}$)
0	0
40	0,1566
80	0,2723
120	0,3798
160	0,5083
200	0,5469

Tujuan dibuatnya larutan standar adalah untuk menentukan kadar protein dari sampel dengan menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh dari grafik larutan standar.

Terdapat 6 tabung BSA dengan satu tabung sebagai blanko, diperoleh angka-angka absorbansi yang menjadi sumbu y dan konsentrasi BSA menjadi sumbu x.



Gambar 4.3 Kurva Standart Hubungan Antara Nilai Absorbansi dan Konsentrasi Larutan BSA

Dari gambar 4.3, kurva standart menunjukkan slop positif dengan gradien garis mendekati 1(0,97903). Dengan regresi linear diperoleh pula nilai $a = 6,784 \times 10^{-2}$ dan $b = 2,54 \times 10^{-3}$. Sehingga, untuk persamaan garis $y = bx + a$ diperoleh persamaan $y = 2,54 \times 10^{-3}x + 6,784 \times 10^{-2}$.

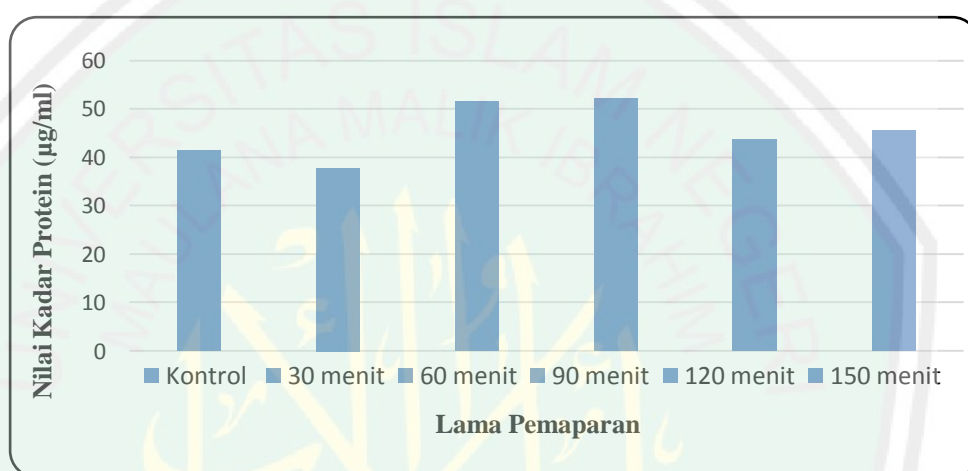
Berdasarkan persamaan dan kurva kalibrasi, kandungan protein dari bakteri *Shigella flexneri* dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Pengujian Kadar Protein Bakteri *Shigella flexneri* Setelah Iradiasi dengan Metode *Lowry*.

Lama Pemaparan Sinar Gamma	Serapan (y)	Persamaan Kalibrasi	Kadar Protein ($\mu\text{g/ml}$) (x)
0 menit	0,1729	0,00254 x + 0,06784	41,36
30 menit	0,1639		37,82
60 menit	0,1988		51,56
90 menit	0,2004		52,19
120 menit	0,1788		43,69
150 menit	0,1837		45,61

Berdasarkan tabel 4.3, nilai kadar protein tertinggi bakteri *Shigella flexneri* hasil iradiasi sinar gamma diperoleh pada sampel lama pemaparan 90 menit. Sedangkan kadar protein terendah diperoleh pada sampel lama pemaparan 30 menit. Terlihat konsentrasi kadar protein tanpa diberi pemaparan radiasi gamma adalah 41,36 mg/ml. Kemudian konsentasi kadar protein pada lama pemaparan 30 menit menurun menjadi 37,48 mg/ml. Setelah itu pada lama pemaparan 60 menit konsentrasi kadar protein mengalami peningkatan menjadi 51,56 mg/ml. Selanjutnya pada lama pemaparan 90 menit memiliki konsentrasi kadar protein yaitu 52,19 mg/ml. Sedangkan pada lama pemaparan 120 menit memiliki konsentrasi kadar protein 43,69 mg/ml dan pada pemaparan 150 menit memiliki

konsentrasi kadar protein 45,61 mg/ml. Konsentrasi kadar protein tertinggi pada lama pemaparan 90 menit yaitu 52,19 mg/ml dan konsentrasi kadar protein terendah pada lama pemaparan 30 menit yaitu 37,48 mg/ml. Terjadinya perubahan konsentrasi protein diduga karena dosis yang diberikan rendah dan terjadinya kerusakan secara acak akibat pemaparan sinar gamma.



Gambar 4.4 Uji kadar protein bakteri *Shigella flexneri*

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Jumlah Koloni

Bakteri *S. flexneri*

Interaksi antara sinar gamma dengan bakteri akan menimbulkan efek biologis yang menyebabkan perubahan pada organel sel bakteri. Sinar gamma akan berinteraksi dengan molekul-molekul penting di dalam bakteri. Salah satunya kromosom, akibatnya kromosom bakteri mengalami patahan dan kerusakan. Sehingga menghambat proses pembelahan sel, dalam skala besar dapat menimbulkan kematian sel atau jaringan.

Hal tersebut dibuktikan dengan perbandingan jumlah bakteri saat kontrol dan setelah diberi paparan radiasi sinar gamma. Jumlah bakteri pada keadaan kontrol yang awalnya adalah 48×10^7 sel/ml mengalami penurunan setelah diberi paparan sinar gamma menjadi 31×10^7 sel/ml selama 30 menit. Jumlah koloni terendah terdapat pada lama pemaparan 90 menit yaitu 15×10^7 cfu/ml. Hal tersebut menunjukkan semakin lama pemaparan sinar gamma maka semakin sedikit jumlah koloninya.

Turunnya jumlah bakteri terjadi disebabkan karena efek biologis yang terjadi di dalam sel. Sebagian besar komposisi bakteri terdiri dari air, apabila air terkena sinar gamma akan mengalami hidrolisis dan menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas yang dihasilkan dapat menyebabkan kerusakan materi sel seperti molekul enzim, DNA, RNA dan yang lainnya. Sehingga semakin lama pemaparan sinar gamma yang diberikan, maka efek yang ditimbulkan terhadap sel juga semakin besar. Kerusakan parah dalam skala besar pada sel dapat menyebabkan kematian.

Namun pada lama pemaparan 120 dan 150 menit jumlah bakteri mengalami kenaikan. Hal tersebut terjadi karena sel melakukan perbaikan. Radiasi dapat memutuskan ikatan fosfodiester dan ikatan hidrogen pada untaian DNA. Akan tetapi sel mikroba memiliki enzim perbaikan, sehingga mampu memperbaiki ulang urutan basa nitrogennya. Hasil penyusunan tersebut dapat tersusun sama atau berbeda dengan susunan semula. Penyusunan ulang ini dapat menimbulkan sel mengalami mutasi atau transformasi. Kenaikan pada jumlah koloni ini dapat disebabkan sel mengalami perbaikan atau mutasi sehingga tidak

mengalami kematian. Selain itu sel yang mengalami mutasi dapat memiliki resistansi, sehingga kerusakan yang ditimbulkan tidak besar dan sel tetap mengalami pembelahan sel. Kecilnya dosis radiasi yang dipancarkan juga mendukung kecilnya kerusakan yang ditimbulkan terhadap sel.

Penelitian yang dilakukan Tuasikal (2003) menunjukkan bahwa, untuk pembuatan vaksin aktif yang berasal dari bakteri hidup, radiasi dapat dimanfaatkan untuk melemahkan bakteri sampai LD₅₀ yaitu kemampuan radiasi dalam menurunkan jumlah sel bakteri sebanyak 50% (*Lethal dose 50%*). Dengan kata lain bakteri yang akan digunakan sebagai bahan vaksin adalah bakteri yang 50% masih bertahan hidup setelah diiradiasi sinar gamma dengan dosis tertentu.

Pengukuran LD₅₀ biasa digunakan untuk pengukuran uji toksisitas pada suatu bahan. Uji ini digunakan untuk melihat pengaruh pada bahan yang telah diberi perlakuan, dengan ketetapan pengaruh yang terjadi pada bahan mencapai 50%. Pada hal ini LD₅₀ digunakan untuk mengukur virulensi bakteri pada sampel. Mikroorganisme yang dapat menyebabkan infeksi disebut patogen, sedangkan derajat petogenitasnya disebut virulen. Pengukuran virulen dapat dilakukan dengan MLD (*minimum lethal dose*) yaitu dosis mikroorganisme minimal yang dapat mematikan binatang coba pada waktu yg ditentukan atau LD₅₀ (*lethal dose 50*) yaitu dosis mikroorganisme yang dapat mematikan hewan coba sebanyak 50% pada waktu yang ditentukan. Semakin kecil LD₅₀, maka penyebab infeksi semakin virulen. LD₅₀ bersifat lebih praktis dikerjakan dan lebih dipercaya hasilnya daripada MLD. Besar LD₅₀ yang didapatkan dari hasil pengujian adalah 24×10^7 sel/ml.

Hasil viabilitas dari sampel yang diberi pemaparan iradiasi sinar gamma digunakan untuk melihat pada lama pemaparan berapa sampel dapat digunakan sebagai bahan vaksin. Nilai viabilitas terendah dicapai pada lama pemaparan 90 menit dengan nilai viabilitas di bawah 50% yaitu 31,3%. Vaksin aktif dapat diperoleh jika jumlah viabilitas bakteri sama dengan atau di bawah 50% dari jumlah awal sebelum diberi perlakuan iradiasi.

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, isolat bakteri yang memungkinkan dapat digunakan sebagai bahan vaksin aktif adalah isolat hasil lama pemaparan 90 menit karena memiliki nilai viabilitas dibawah 50%. Sedangkan pada isolat hasil pemaparan yang lain yaitu 30 menit, 60 menit, 120 menit dan 150 menit tidak memungkinkan untuk digunakan sebagai bahan vaksin aktif karena nilai viabilitasnya di atas 50%.

4.2.2 Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Kadar Protein

Bakteri *Shigella flexneri*

Nilai absorbansi yang ditampilkan oleh spektrofotometer dalam penelitian ini dapat digunakan untuk menetapkan kandungan kadar protein pada sampel. Karena pelarut yang digunakan hanya bereaksi pada protein di dalam sampel. Sehingga nilai absorbansi yang ditampilkan setelah cahaya melewati sampel dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa di dalam sampel, dalam penelitian ini berupa nilai kadar protein. Berdasarkan hasil penelitian konsentrasi kadar protein tertinggi dimiliki oleh lama pemaparan 90 menit yaitu 52,19 mg/ml dan konsentrasi kadar protein terendah terdapat pada lama pemaparan 30 menit yaitu 37,48 mg/ml.

Penurunan dan kenaikan kadar protein dapat disebabkan oleh kerusakan dan gangguan pada protein tersebut, baik aktifitas maupun strukturnya. Hasil pada gambar 4.6 menunjukkan adanya perbedaan pada konsentrasi kadar protein antar dosis. Perubahan nilai kadar protein hasil iradiasi sinar gamma terjadi karena dosis yang diberikan kecil, sehingga kerusakan yang ditimbulkan acak. Perubahan hasil nilai kadar protein pada kontrol dengan lama paparan 30 menit terjadi karena sel mengalami kerusakan atau denaturasi merusak struktur proteinnya. Sehingga kadar protein yang didapatkan menurun. Namun nilai kadar protein pada lama paparan 60 menit mengalami kenaikan, hal ini dapat disebabkan denaturasi protein tidak terlalu besar dan polimer melipat lagi kembali pada struktur aslinya. Sehingga lipatan alamiah pada struktur protein kembali seperti semula. Hal tersebut mengakibatkan nilai kadar protein mengalami kenaikan, karena molekul sel mengalami perbaikan.

Interaksi antara radiasi dengan protein dapat menyebabkan kerusakan fungsi protein. Kerusakan pada protein terjadi karena timbulnya perubahan pada konfigurasi 3 dimensi molekul protein. Sehingga virulensi yang dimiliki bakteri menurun dan memungkinkan untuk digunakan sebagai bahan vaksin. Pemberian radiasi dilakukan untuk mengubah struktur dan komposisi protein dimana salah satu bagian yang berperan penting sebagai faktor virulensinya adalah antigen protein. Sedangkan untuk menghasilkan vaksin yang baik, suspensi bakteri hasil radiasi sinar gamma harus dalam keadaan inaktif agar tidak membahayakan sel target tetapi masih mengandung antigen protein dalam keadaan utuh.

Keuntungan penggunaan metode iradiasi sinar gamma adalah memiliki kemampuan efektif untuk memasuki sel bakteri hingga ke DNA sebagai target dengan efek kerusakan yang minimal pada permukaan antigen protein.

Sampel hasil iradiasi sinar gamma yang digunakan dalam pengukuran kadar protein berbeda dengan sampel pada pengukuran jumlah koloni. Sehingga tinggi atau rendahnya kadar protein pada penelitian ini tidak bisa dihubungkan dengan nilai viabilitas bakteri.

Hasil penelitian di atas masih memerlukan penelitian lanjutan untuk menganalisis profil protein dengan menggunakan elektroforesis dan pengujian secara klinis terhadap hewan percobaan untuk memastikan apakah bakteri inaktif tersebut berpotensi sebagai bahan vaksin.

4.4 Integrasi Penelitian dalam al-Qur'an

Kebersihan merupakan syarat dari terwujudnya kesehatan, dan sehat adalah salah satu faktor yang bisa memberikan kenyamanan dan kebahagiaan. Kurangnya perhatian masyarakat dalam menjaga kebersihan diri dan lingkungan dapat menimbulkan bibit penyakit. Rasulullah SAW bersabda yang artinya:

“Dua kenikmatan yang banyak manusia menjadi rugi (karena tidak memperhatikan) yaitu kesehatan dan waktu luang”. (HR. Al-Bukhari)

Kebersihan menurut islam sangatlah penting, karena Allah SWT menyukai orang-orang yang membersihkan diri atau mengusahakan kebersihan, sebagaimana firman-Nya pada Surah al-Baqarah (2) ayat 222 yang berbunyi:

..... إِنَّ اللَّهَ يُحِبُّ التَّوَّابِينَ وَيُحِبُّ الْمُتَطَهِّرِينَ ﴿٢٢٢﴾

“*Sesungguhnya Allah menyukai orang-orang yang bertaubat dan menyukai orang-orang yang mensucikan diri*” (QS. al-Baqarah (2): 222).

Sebaliknya kotor dapat menimbulkan berbagai penyakit bagi manusia. Penyakit timbul karena adanya bibit penyakit pada manusia, salah satu bibit penyakit adalah bakteri. Bukti adanya keberadaan mikroorganisme dan bakteri bahkan telah dijelaskan Allah SWT di dalam al-Qur'an secara tersirat. Firman Allah SWT dalam surah an-Nahl (16): 13:

وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ ﴿١٣﴾

“*Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kamu yang mengambil pelajaran*” (Q.S an-nahl: 13).

Kalimat (وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ) mengandung arti “Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini, yakni hewan, tumbuh-tumbuhan dan sebagainya dengan berlain-lainan macamnya” (Jalaluddin, 2010). Berdasarkan kalimat tersebut secara tersirat bahwa Allah SWT telah menciptakan makhluk yang beraneka ragam mulai dari yang dapat terlihat langsung oleh mata, maupun yang tidak terlihat langsung oleh mata contohnya adalah bakteri. Semua cipataan-Nya tumbuh sesuai dengan ukurannya termasuk bakteri, sebagaimana Firman Allah SWT pada Surah al-Hijr (15) ayat 19:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾

“Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran” (QS. Al-Hijr (15): 19).

Shigella flexneri merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit atau infeksi pada manusia. Di dalam al-Qur’an dijelaskan bahwa sesuatu yang sekiranya membahayakan bagi manusia, alangkah baiknya untuk dihindari. Firman Allah SWT dalam Q.S al-A’raf (7): 157:

الَّذِينَ يَتَّبِعُونَ الرَّسُولَ النَّبِيَّ الْأُمِّيَّ الَّذِي يَجِدُونَهُ مَكْتُوبًا عِنْدَهُمْ فِي التَّوْرَةِ
وَالْإِنْجِيلِ يَأْمُرُهُم بِالْمَعْرُوفِ وَيَنْهَاهُمْ عَنِ الْمُنْكَرِ وَيُحِلُّ لَهُمُ الطَّيِّبَاتِ وَيُحَرِّمُ
عَلَيْهِمُ الْخَبَائِثَ وَيَضَعُ عَنْهُمْ إِصْرَهُمْ وَالْأَغْلَالَ الَّتِي كَانَتْ عَلَيْهِمْ ۗ فَالَّذِينَ
ءَامَنُوا بِهِ وَعَزَّرُوهُ وَنَصَرُوهُ وَاتَّبَعُوا النُّورَ الَّذِي أُنزِلَ مَعَهُ ۗ أُولَٰئِكَ هُمُ
الْمُفْلِحُونَ ﴿١٥٧﴾

“(yaitu) orang-orang yang mengikut rasul, Nabi yang Ummi yang (namanya) mereka dapati tertulis di dalam Taurat dan Injil yang ada di sisi mereka, yang menyuruh mereka mengerjakan yang ma'ruf dan melarang mereka dari mengerjakan yang mungkar dan menghalalkan bagi mereka segala yang baik dan mengharamkan bagi mereka segala yang buruk dan membuang dari mereka beban-beban dan belenggu-belenggu yang ada pada mereka[574]. Maka orang-orang yang beriman kepadanya, memuliakannya, menolongnya dan mengikuti cahaya yang terang yang diturunkan kepadanya (Al Quran), mereka Itulah orang-orang yang beruntung” (Q.S al-A’raf (7): 157).

Kalimat “mengharamkan bagi manusia segala yang buruk” memiliki arti bahwa sesuatu yang membahayakan bagi manusia itu wajib dihindari. Hal ini sebagai upaya tindakan pencegahan terhadap sesuatu yang membahayakan bagi manusia. Teori tentang pencegahan penyakit dalam al-Qur’an maupun hadits telah banyak dijelaskan, seperti hadits berikut ini yang artinya:

“jagalah lima keadaan sebelum datang lima keadaan, diantaranya: jagalah kesehatanmu sebelum datang masa sakit” (al-Hadits).

Usamah r.a berkata Rasuullah SAW bersabda yang artinya:

“bila terjadi wabah di suatu tempat, maka penduduk setempat dilarang meninggalkan daerahnya dan orang luar dilarang berkunjung sampai wabah berlalu” (A-Hadits).

Ini adalah konsep isolasi daerah wabah yang sudah diajarkan Nabi Muhammad SAW. Hadits tersebut telah menjelaskan pencegahan penyebaran infeksi penyakit dengan melakukan isolasi daerah terjangkit infeksi dengan lingkungan sekitarnya. Selain itu biaya pencegahan terhadap penyakit lebih murah dibandingkan pengobatannya.

Penelitian ini merupakan upaya pencegahan infeksi penyakit oleh bakteri *Shigella flexneri*, yaitu dengan vaksin. Metode pembuatan vaksin yang digunakan adalah dengan pemaparan sinar gamma. Pemaparan sinar gamma dapat melemahkan/mematikan bakteri, dibuktikan dengan menurunnya jumlah viabilitas bakteri seiring dengan semakin lamanya pemaparan. Kemudian dilihat kadar proteinnya, semakin besar viabilitasnya maka kadar proteinnya semakin tinggi. Pada vaksin bahan yang digunakan adalah dengan pengaruh viabilitasnya mencapai 50%.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Perlakuan iradiasi sinar gamma dengan dosis rendah dapat menurunkan jumlah koloni pada bakteri *Shigella flexneri*. Variasi lama pemaparan yang digunakan adalah kontrol atau tanpa pemaparan, 30 menit, 60 menit, 90 menit, 120 menit dan 150 menit. Nilai viabilitas bakteri terendah hingga dibawah 50% pada lama pemaparan 90 menit yaitu 31,3 %. Sehingga isolat bakteri tersebut memungkinkan untuk dapat digunakan sebagai bahan vaksin aktif karena nilai viabilitasnya di bawah 50%.
2. Konsentrasi kadar protein terendah terdapat pada hasil lama pemaparan 30 menit yaitu 37,82 mg/ml, dan konsentrasi kadar protein tertinggi terdapat pada hasil lama pemaparan 90 menit yaitu 52,19 mg/ml. Adanya variasi konsentrasi menunjukkan pengaruh iradiasi sinar gamma pada kandungan antigen sebagai bahan vaksin.

5.2 Saran

1. Perlu adanya perlakuan pemberian variasi dosis sinar gamma dan variasi jarak antara sampel dengan sumber yang digunakan.
2. Perlu dilakukan analisa lanjutan profil protein pada bakteri.
3. Adanya uji coba secara klinis pada hewan percobaan, untuk memastikan apakah bakteri inaktif tersebut berpotensi sebagai bahan vaksin atau tidak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahman, jumardi. 2015. *LD 50 dan ED 50*. [http:// jumadi.abdurrahman.blogspot.com](http://jumadi.abdurrahman.blogspot.com). Diakses 10 Juli 2017.
- Akhadi, Muklis. 2000. *Dasar-Dasar Proteksi Radiasi Edisi Ke 1*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Alatas, Z. 2005. *Efek Paparan Radiasi pada Manusia*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Keselamatan Radiasi dan Biomedika Nuklir, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN).
- Anies. 2009. *Cepat Tua Akibat Radiasi? Pengaruh Radiasi Elektromagnetik Ponsel dan Berbagai Peralatan Elektronik*. Jakarta: Gramedia.
- Anonim. 2005. *Nature Reviews Immunology*. Nature Publishing Group.
- Anonymous. 2009. Protein. http://www.g-excess.com/indeks2php?option=com_content&view=article&id=540.html. Diakses pada tanggal 7 Desember 2016.
- Ashutoh, K. 2008. *Pharmaceutical Microbiology*. New Age International (P) Ltd: New Delhi.
- Asy-Syirazi, Syaikh Nashir Makarim. 1992. *Al-Amsal fi Tafsir Kitab Allah al-Munzal Jilid 1 (Terjemah)*. Jakarta: Gerbang Ilmu Press.
- Baratawidjaja dan Karmen, G. 2004. *Imunologi Dasar Edisi ke-6*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Berg, J.M. dkk. 2002. *Biochemistry 5th Edition*. New York: W.H Freeman and Company.
- Bintang, Maria. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga. Hal: 99, 103-106.
- Buckle, K.A. 1985. *Ilmu Pangan*. Jakarta: UI.Press.
- Cherveny dalam Fajrian, Fifit. 2013. *Pengaruh Pemberian Buah Manggis, Buah Sirsak dan Kunyit Terhadap Kandungan Radikal Bebas Pada Daging Sapi Yang Diiradiasi dengan Sinar Gamma*. *Jurnal Natural UB*. Vol.5 No.1
- Coligan, J, Dunn, B, Ploengh, H, Speicher, D and Wingfield, P. 2007. *Current Protocols in Protein Sciences*. New York: John Wiley & Sons. Vol.1

- Darussalam, M. 1996. *Radiasi dan Radioisotop Prinsip Kegunaannya Dalam Biologi, Kedokteran, dan Pertanian*. Bandung: TARSITO.
- Ellis, A.E. 1988. *General Principles of Fish Vaccinatio*. Fish Vaccination. San Diego: Academic Press Inc. 225.
- Ensiklopedi Teknologi Nuklir. *Wakto Paro*. [http:// www. batan. go. Id / ensiklopedi / 08 / 01 /01 /04 / 08-01-01-04. html](http://www.batan.go.id/ensiklopedi/08/01/01/04/08-01-01-04.html). Diakses pada tanggal 10 Agustus.
- Gautreau, R & Savin. 1999. *Schaum's Outlines Fisika Modern Edisi Kedua*. Jakarta: Erlangga.
- Government of India Department of Atomic Energy (GIDAE). 1992. *Radiation Safety Aspects of High Intensity Irradiators*. Bhabha Atomic Research Center Bombay 400 085
- Herwana, E; Indriani, N; Lesmana, M; Paul, B; Salim, O.C; Suejawidjaja, J.E. 2010. *Shigella-Aspsciated Diarrhea in Children in South Jakarta, Indonesia: Southeast Asian J Top Med Public Health*, 2 (41): 418-425.
- Hermanto, S. 2003. *Spesifitas dan sensitifitas Antibodi Anti Erf3 Ragi Saccharomyces cerevisiae*. Bandung: ITB.
- Hermanto, S. ,I. Sugoro dan Ikmalia. 2009. *Profil Protein Escherichia coli Hasil Inaktivasi Iradiasi Gamma Sebagai Bahan Vaksin Mastitis*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Hilmy, N. 2001. *The application of nuclear science and technology for human welfare*. Jakarta: Proc. Of The Public. Inform. Seminar Jointly Organized by IAEA and BATAN, 121-140.
- Ikmalia. 2008. *Analisa Profil Protein Isolat Escherichia coli S1 Hasil Iradiasi Sinar Gamma*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Jewetz et al. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran ECG.
- J. Ariens, E. Mutschler & A.M. Simonis. 1987. *Toksikologi Umum, Pengantar*. Terjemahan oleh Yoke R.Wattimena dkk. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Lohner, K dan Austria, G. 2001. *Development of Novel Antimicrobial Agent: Emerging Strategies*. England: Horizon Scientific Press.
- Law, B A ed. 1997. *Mikrobiology and Biochemistryof cheese and Fermented Milk*. Springer. pp.120.ISBN: 0-7514-0346-6.

- Lestari, Rina. 2013. *Pewarnaan Sederhana, Negatif, Kapsul, dan Gram*. Yogyakarta: STIK Yogyakarta
- Lowry, Rosenbrough, Farr, Randall. 1951. *Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent*. New York: Kluwer Academic Publishers.
- Machi, S. 2002. *Nuclear techniques serve mankind*. Japan Atomic Industrial Forum (JAIF), Inc.
- Meta. 2012. <http://infoimunisasi.com/tanya-dokter/cara-kerja-vaksin/>. Diakses pada tanggal 05 Agustus 2017.
- Medical Research News. 2006. Using gamma radiation preserves T-cell responses in bacterial vaccine. <http://www.news-medical.net/?id=19078> University of California, San Diego (UCSD) School of Medicine Diakses pada tanggal 05 Agustus 2017, di <http://www.ucsd.edu>.
- Murtini, Sri dkk. 2006. *Penetapan Rute dan Dosis Inokulasi pada Telur Ayam Berembrio sebagai Media Uji Khasiat Ekstrak Benalu The (Scurrula oortiana)*. Bogor. JITV Vol. 11 No.2.
- Nature publishing group. 2005. *Nature reviews/immunology*.
- Pelezar, Michael J. 2012. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI-Press.
- Pelchar, Michael J., Jr., dan Chan E.C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 1 dan jilid 2. Jakarta: UI-Press
- Pratiwi, R. 2008. *Mengenal Metode Elektroforesis*. http://www.katalog.pdiilipi.go.id/index.php/search_katalog/download/data_by_id/1933/1934.pdf. Diakses pada tanggal 05 Agustus 2017.
- Poedjiadi, Anna. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta : UI-Press.
- Sani, Sjahrun. 2013. *Penggunaan Radioisotop*. <http://auliya-berbagi.blogspot.com/2013/12/penggunaan-radioisotop>. Diakses pada tanggal 05 Agustus 2017.
- Shihab, M.Qurish. 2002. *Tafsir Al-Misbah Vol.09*. Jakarta: Lentera Hati.
- Soeripto. 2002. *Pendekatan Konsep kesehatan Hewan Melalui Vaksinasi*. Bogor Utara: FMIPA Jurusan Farmasi Universitas Sumatra Utara.
- Supardi, I dan Sukamto.1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Yayasan Adikarya IKAPI.

- Sugoro, Irawan. 2007. *Peran Teknik Nuklir di Bidang Peternakan, Laboratorium Nutrisi, Reproduksi dan Kesehatan Ternak. Bidang Pertanian*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Isotop dan Radioisotop (P3TIR).
- Sugoro, Irawan dan Sandra Hermanto. 2009. *Dosis Inaktif dan Kadar Protein Yersinia enterocolitica Hasil Iradiasi Gamma*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Sugoro, I, Tetriana D, dan Windusari Y. 2008. Dosis Inaktif dan Kadar Protein Isolat Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Hasil Iradiasi Gamma. Patir-Batan Jurnal ATIR Vol. 3.
- Sudarmadji S, Haryono B, dan Suhardi. 1981. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Cetakan ke-3. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas, Universitas Gajah Mada.
- Tetriana, D dan Sugoro, I. 2007. *Aplikasi Tehnik Nuklir dalam Bidang Vaksin. Buletin ALARA*. Jakarta: Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN).
- Todar, K. 2009. *Online Text Book of Bacteriology*. University of Wisconsin-Madison Departement of Bacteriology.
- Tuasikal, B.J.dkk. 2003. *Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma pada Pertumbuhan Streptococcus agalitiaie sebagai Bahan Vaksin Penyakit Mastitis pada Sapi Perah*. Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia PATIR-BATAN(IV): 137-149.
- Wahyudi P., et. al. 2005. *Pengaruh pemaparan sinar gamma isotop cobalt-60 Dosis 0,25–1 kGy terhadap daya antagonistik trichoderma Harzianum pada fusarium oxysporum*. Berk. Penel. Hayati: 10 (143–151). Jakarta: Pusat Aplikasi Isotop & Radiasi-BATAN. Fakultas Biologi – UNSOED, Purwokerto
- Widusari, Yuanita. dkk. 2014. *Iradiasi Sinar Gamma untuk Menentukan Nilai LD₅₀ Staphylococcus aerus Sebagai Upaya Awal Pembuatan Vaksin Mastitis*. Jakarta: PATIR-BATAN.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yudi. 2008. *Interaksi Radiasi Nuklir*. Infonuklir.com News. Pusat Diseminasi IPTEK Nuklir (PDIN). Jakarta.
- Zanzibar, Muhammad dan Dede J. Sudrajat. 2015. *Prospek dan plikasi Teknologi Iradiasi Sinar Gamma Untuk Perbaikan Mutu Benih dan Bibit Tanaman Hutan*. Bogor: Balai Penelitian Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan.

Zein, U. 2004. *Diare Akut Infeksius Pada Dewasa*. Medan: Universitas Sumatera Utara.



LAMPIRAN 1

Hasil Pengujian SPSS Normalitas dan ANOVA

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Data
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	33.5000
	Std. Deviation	12.12314
Most Extreme Differences	Absolute	.095
	Positive	.082
	Negative	-.095
Kolmogorov-Smirnov Z		.402
Asymp. Sig. (2-tailed)		.997

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

Data	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1887.167	5	377.433	7.409	.002
Within Groups	611.333	12	50.944		
Total	2498.500	17			

LAMPIRAN 2

Aktifitas Radioaktif

➤ Aktivitas Radioaktif Cobalt-60

Diketahui:

$$\text{Energi} = 1,3 \text{ MeV}$$

$$t_{1/2} = 5,271 \text{ tahun}$$

$$\text{Aktivitas} = 74 \text{ kBq (Tahun 1993)}$$

AktivitasSekarang (tahun 2017)

$$\begin{aligned} A &= A_0 e^{-\lambda t} \\ &= 74 \text{ kBq} \times 2,718^{0,693 \times 24 \text{ tahun}} \\ &= 201,132^{-3,15537828} \\ &= 5,391 \times 10^{-8} \text{ kBq} = 5,391 \times 10^{-5} \text{ Bq} \end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 30 menit

$$\begin{aligned} &= \frac{5,391 \cdot 10^{-5} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 1800 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\ &= \frac{2,0183904 \cdot 10^{-14}}{12 \cdot 10^{-3}} = 1,682 \cdot 10^{-12} \text{ Gy/s} \end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 60 menit

$$\begin{aligned} &= \frac{5,391 \cdot 10^{-5} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 3600 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\ &= \frac{4,0367808 \cdot 10^{-14}}{2 \cdot 10^{-3}} = 5,046 \cdot 10^{-12} \text{ Gy/s} \end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 90 menit

$$\begin{aligned} &= \frac{5,391 \cdot 10^{-5} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 5400 \text{ s}}{2 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\ &= \frac{6,0551712 \cdot 10^{-14}}{12 \cdot 10^{-3}} = 5,046 \cdot 10^{-12} \text{ Gy/s} \end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 120 menit

$$\begin{aligned} &= \frac{5,391 \cdot 10^{-5} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 7200 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\ &= \frac{8,0735616 \cdot 10^{-14}}{12 \cdot 10^{-3}} = 6,728 \cdot 10^{-12} \text{ Gy/s} \end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 150 menit

$$\begin{aligned} &= \frac{5,391 \cdot 10^{-5} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 9000 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\ &= \frac{1,0091952 \cdot 10^{-13}}{12 \cdot 10^{-3}} = 8,41 \cdot 10^{-12} \text{ Gy/s} \end{aligned}$$

➤ **Aktivitas Radioaktif Cs-137**

Diketahui:

$$\text{Energi} = 0,662 \text{ MeV}$$

$$t_{1/2} = 30 \text{ tahun}$$

$$\text{Aktivitas} = 74 \text{ kBq (Tahun 1993)}$$

Aktivitas Sekarang (tahun 2017)

$$A = A_0 e^{-\lambda t}$$

$$= 74 \text{ kBq} \times 2,718^{\frac{0,693}{30} \times 24 \text{ tahun}}$$

$$= 201,132^{-0,5544}$$

$$= 5,284 \times 10^{-2} \text{ kBq} = 52,84 \text{ Bq}$$

Laju Dosis Selama 30 menit

$$= \frac{52,84 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 1800 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{5,9349888 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 4,946 \cdot 10^{-6} \text{ Gy/s}$$

Laju Dosis Selama 60 menit

$$= \frac{52,84 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 3600 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{3,9566592 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 3,297 \cdot 10^{-6} \text{ Gy/s}$$

Laju Dosis Selama 90 menit

$$= \frac{52,84 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 5400 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{5,9349888 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 4,946 \cdot 10^{-6} \text{ Gy/s}$$

Laju Dosis Selama 120 menit

$$= \frac{52,84 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 7200 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{7,9133184 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 6,594 \cdot 10^{-6} \text{ Gy/s}$$

Laju Dosis Selama 150 menit

$$= \frac{52,84 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 9000 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{9,891648 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 8,243 \cdot 10^{-6} \text{ Gy/s}$$

➤ **Aktivitas Radioaktif Na-22**

Diketahui:

$$\text{Energi} = 1,259 \text{ MeV}$$

$$t_{1/2} = 2,609 \text{ tahun}$$

$$\text{Aktivitas} = 74 \text{ kBq (Tahun 1993)}$$

Aktivitas Sekarang (tahun 2017)

$$A = A_0 e^{-\lambda t}$$

$$\begin{aligned}
&= 74 \text{ kBq} \times 2,718^{\frac{0,693}{2,609}} \times 24 \text{ tahun} \\
&= 201,132^{-6,374856267} \\
&= 2,068 \times 10^{-15} \text{ kBq} = 2,068 \times 10^{-12} \text{ Bq}
\end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 30 menit

$$\begin{aligned}
&= \frac{2,068 \cdot 10^{-12} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 1800 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\
&= \frac{7,742592 \cdot 10^{-22}}{12 \cdot 10^{-3}} = 6,452 \cdot 10^{-20} \text{ Gy/s}
\end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 60 menit

$$\begin{aligned}
&= \frac{2,068 \cdot 10^{-12} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 3600 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\
&= \frac{1,5485184 \cdot 10^{-21}}{12 \cdot 10^{-3}} = 1,290 \cdot 10^{-19} \text{ Gy/s}
\end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 90 menit

$$\begin{aligned}
&= \frac{2,068 \cdot 10^{-12} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 5400 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\
&= \frac{2,3227776 \cdot 10^{-21}}{12 \cdot 10^{-3}} = 1,936 \cdot 10^{-19} \text{ Gy/s}
\end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 120 menit

$$\begin{aligned}
&= \frac{2,068 \cdot 10^{-12} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 7200 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\
&= \frac{3,0970368 \cdot 10^{-21}}{12 \cdot 10^{-3}} = 2,581 \cdot 10^{-19} \text{ Gy/s}
\end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 150 menit

$$\begin{aligned}
&= \frac{2,068 \cdot 10^{-12} \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 9000 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}} \\
&= \frac{3,871296 \cdot 10^{-21}}{12 \cdot 10^{-3}} = 3,226 \cdot 10^{-19} \text{ Gy/s}
\end{aligned}$$

➤ **Aktivitas Radioaktif Sr-90**

Diketahui:

Energi = 1,882 MeV

$t_{1/2}$ = 28,8 tahun

Aktivitas = 74 kBq (Tahun 1993)

Aktivitas Sekarang (tahun 2017)

$$A = A_0 e^{-\lambda t}$$

$$\begin{aligned}
&= 74 \text{ kBq} \times 2,718^{\frac{0,693}{28,8}} \times 24 \text{ tahun} \\
&= 201,132^{-0,5775} \\
&= 4,675 \times 10^{-2} \text{ kBq} = 46,75 \text{ Bq}
\end{aligned}$$

Laju Dosis Selama 30 menit

$$= \frac{46,75 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 1800 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{1,75032 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 1,459 \cdot 10^{-6} \text{Gy/s}$$

Laju Dosis Selama 60 menit

$$= \frac{46,75 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 3600 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{3,50064 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 2,917 \cdot 10^{-6} \text{Gy/s}$$

Laju Dosis Selama 90 menit

$$= \frac{46,75 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 5400 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{5,25096 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 4,376 \cdot 10^{-6} \text{Gy/s}$$

Laju Dosis Selama 120 menit

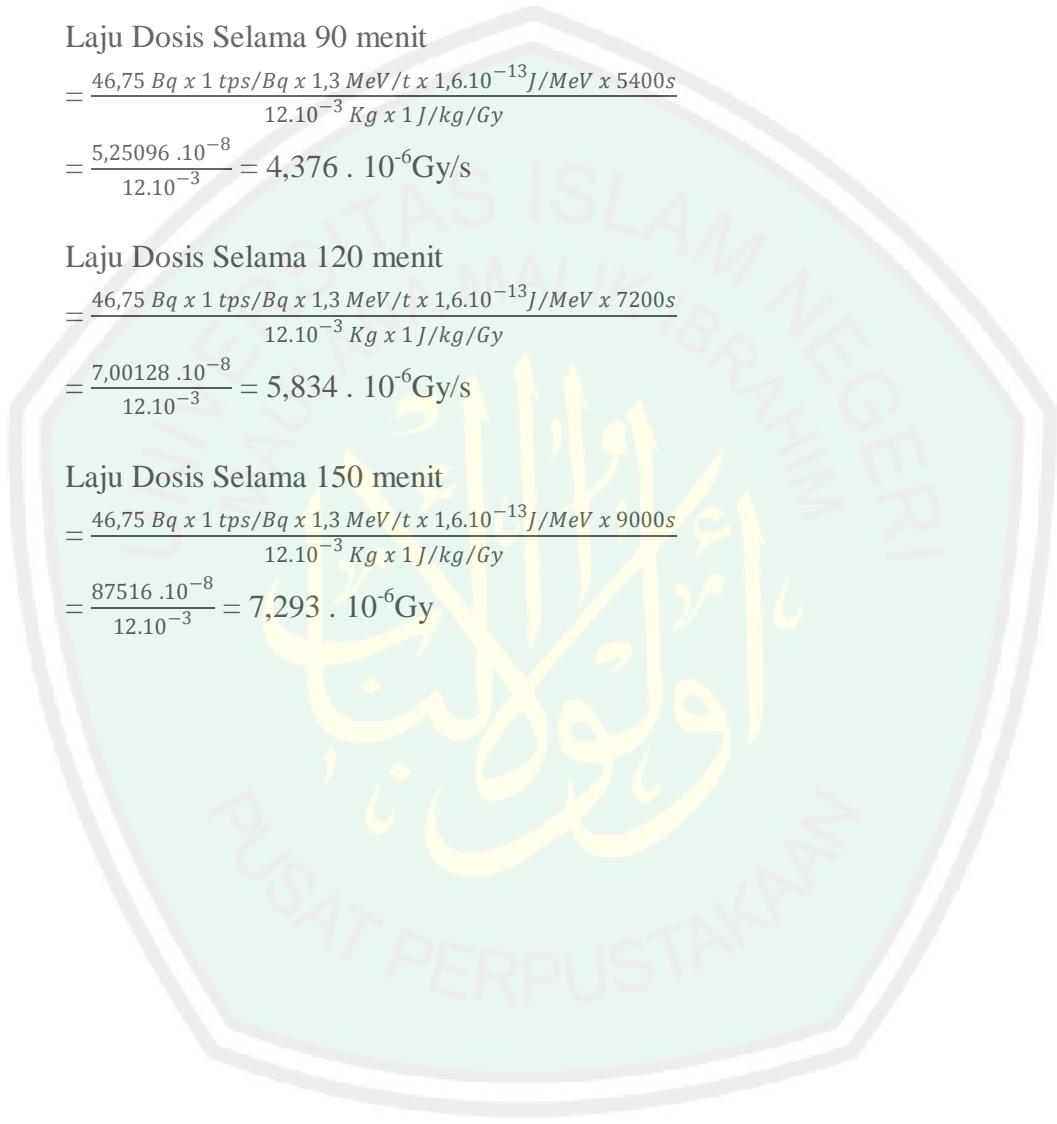
$$= \frac{46,75 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 7200 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{7,00128 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 5,834 \cdot 10^{-6} \text{Gy/s}$$

Laju Dosis Selama 150 menit

$$= \frac{46,75 \text{ Bq} \times 1 \text{ tps/Bq} \times 1,3 \text{ MeV/t} \times 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ J/MeV} \times 9000 \text{ s}}{12 \cdot 10^{-3} \text{ Kg} \times 1 \text{ J/kg/Gy}}$$

$$= \frac{87516 \cdot 10^{-8}}{12 \cdot 10^{-3}} = 7,293 \cdot 10^{-6} \text{Gy}$$



Tabel 4.1 Besar Dosis Radiasi (Gy) dari masing-masing sumber radioaktif

Jenis Sumber	Lama Penyinaran	LajuDosis (Gy/s)	DosisRadiasi (Gy)
C0-60	0 menit	0	0
	30 menit	$1,682 \cdot 10^{-12}$ Gy/s	$3,028 \cdot 10^{-11}$ Gy
	60 menit	$5,046 \cdot 10^{-12}$ Gy/s	$1,817 \cdot 10^{-12}$ Gy
	90 menit	$4,946 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$2,671 \cdot 10^{-6}$ Gy
	120 menit	$6,728 \cdot 10^{-12}$ Gy/s	$7,844 \cdot 10^{-6}$ Gy
	150 menit	$8,41 \cdot 10^{-12}$ Gy/s	$7,569 \cdot 10^{-11}$ Gy
Cs-137	0 menit	0	0
	30 menit	$4,946 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$8,903 \cdot 10^{-5}$ Gy
	60 menit	$3,297 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$1,187 \cdot 10^{-6}$ Gy
	90 menit	$4,946 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$2,671 \cdot 10^{-6}$ Gy
	120 menit	$6,594 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$4,748 \cdot 10^{-6}$ Gy
	150 menit	$8,243 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$7,419 \cdot 10^{-6}$ Gy
Na-22	0 menit	0	0
	30 menit	$6,452 \cdot 10^{-20}$ Gy/s	$1,161 \cdot 10^{-20}$ Gy
	60 menit	$1,290 \cdot 10^{-19}$ Gy/s	$4,644 \cdot 10^{-18}$ Gy
	90 menit	$1,936 \cdot 10^{-19}$ Gy/s	$1,045 \cdot 10^{-19}$ Gy
	120 menit	$2,581 \cdot 10^{-19}$ Gy/s	$1,858 \cdot 10^{-19}$ Gy
	150 menit	$3,226 \cdot 10^{-19}$ Gy/s	$2,903 \cdot 10^{-19}$ Gy
Sr-90	0 menit	0	0
	30 menit	$1,459 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$2,626 \cdot 10^{-5}$ Gy
	60 menit	$2,917 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$1,050 \cdot 10^{-6}$ Gy
	90 menit	$4,376 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$2,363 \cdot 10^{-6}$ Gy
	120 menit	$5,834 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$4,201 \cdot 10^{-6}$ Gy
	150 menit	$7,293 \cdot 10^{-6}$ Gy/s	$6,654 \cdot 10^{-6}$ Gy

LAMPIRAN 3

Langkah Pengujian Pewarnaan Gram

Langkah-langkah pengujian:

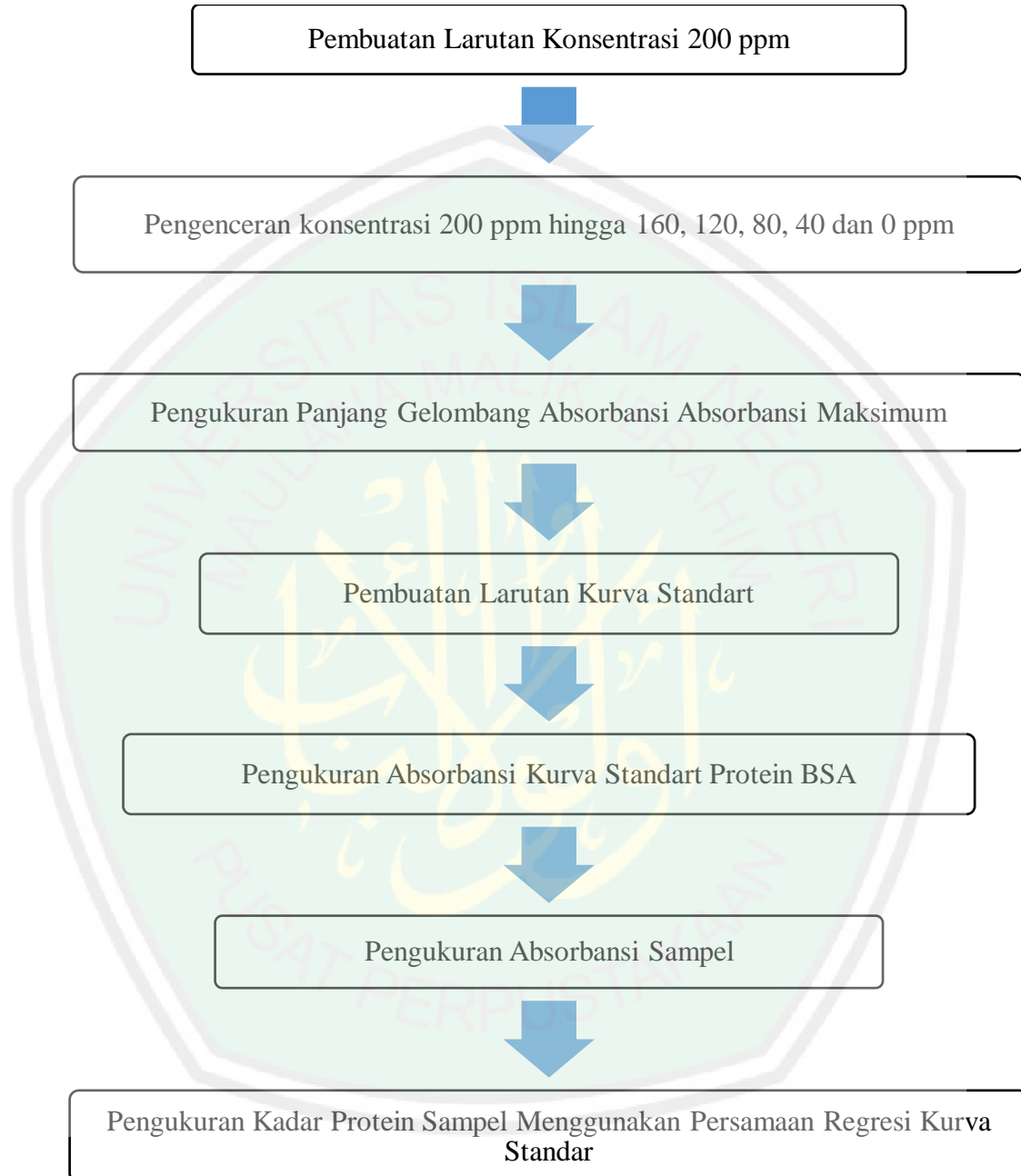
1. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
2. Dibersihkan *object glass* dengan alcohol 70 % menggunakan tissue hingga bersih
3. Diteteskan 1 tetes aquades steril diatas *object glass*
4. Dipijarkan jarum ose di atas bunsen
5. Diambil 1 ose bakteri dan diratakan di atas aquades kira-kira 1 cm
6. Difiksasi dengan dilewatkan diatas api hingga kering
7. Ditetesi olesan bakteri dengan 1 tetes *crystal violet*, goyangkan hingga rata menutupi olesan bakteri
8. Ditunggu hingga 1 menit, disiram menggunakan aquades dan dibersihkan dengan *tissue*
9. Difiksasi lagi hingga kering
10. Ditetesi dengan 1 tetes *iodine*, digoyangkan hingga merata dan ditunggu sampai 1 menit
11. Disiram menggunakan aquades, kemudian dibersihkan dengan *tissue* dan difiksasi
12. Ditetesi dengan 1 tetes alkohol, ditunggu hingga 30 detik dan disiram dengan aquades
13. Dibersihkan dengan *tissue* dan difiksasi
14. Ditetesi dengan 1 tetes *safranin*, digoyangkan hingga merata dan ditunggu 30 detik
15. Disiram menggunakan aquades dan dibersihkan dengan *tissue*
16. Dibawa menuju laboratorium optik untuk diamati dengan menggunakan mikroskop



Hasil Pewarnaan Gram
Pada Mikroskop dengan
Perbesaran 400 x

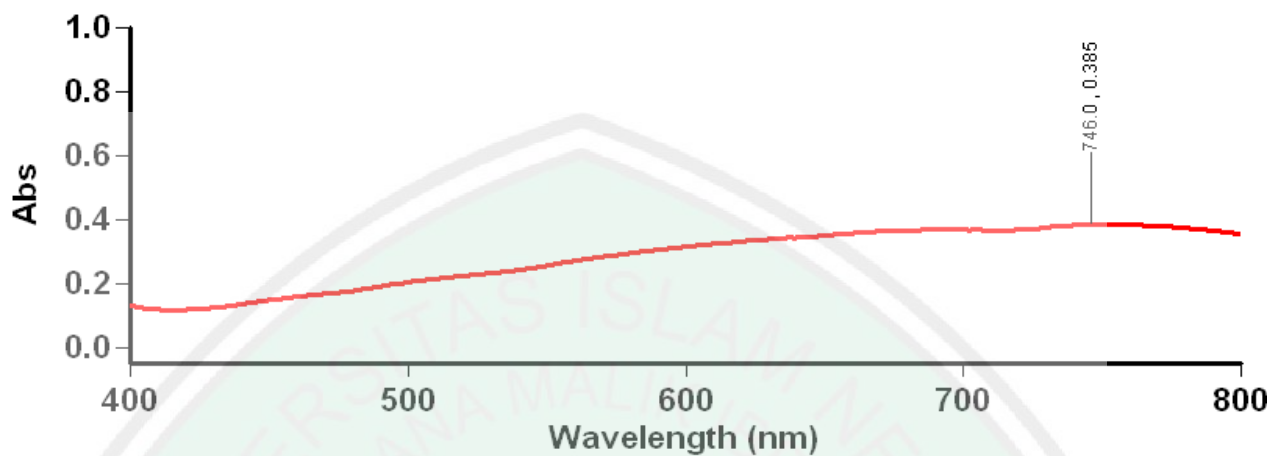
LAMPIRAN 4

Bagan Tahapan Pengukuran Kadar Protein Metode Lowry



LAMPIRAN 5

Spektrum Panjang Gelombang Absorbansi Maksimum Metode Lowry



LAMPIRAN 6

Hasil Absorbansi Larutan Standar Pada Spektrofotometer

Calibration

Collection time 6/8/2017 1:35:56 PM

Standard	Concentration mg/L	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Std 1	40.0		0.1566	0.0004	0.23	0.1568
						0.1569
						0.1562
Std 2	80.0		0.2723	0.0002	0.08	0.2723
						0.2722
						0.2726
Std 3	120.0		0.3798	0.0006	0.16	0.3802
						0.3800
						0.3790
Std 4	160.0		0.5083	0.0009	0.17	0.5093
						0.5080
						0.5076
Std 5	200.0		0.5469	0.0009	0.17	0.5475
						0.5459
						0.5474

Calibration eqn Abs = 0.00254*Conc +0.06784
 Correlation Coefficient 0.97903
 Calibration time 6/8/2017 1:37:11 PM

LAMPIRAN 7

Hasil Absorbansi Sampel Pada Spektrofotometer








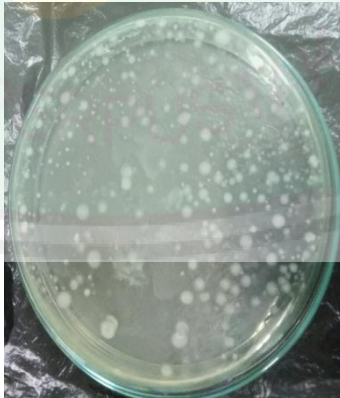

Analysis

Collection time 6/13/2017 1:27:56 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol (1000)					0.1734 0.1731 0.1723
		0.1729	0.0006	0.34	
30 menit (1000)					0.1639 0.1642 0.1637
		0.1639	0.0003	0.16	
60 menit (1000)					0.1991 0.1988 0.1986
		0.1988	0.0003	0.14	
90 menit (1000)					0.2004 0.2001 0.2006
		0.2004	0.0003	0.13	
120 menit (1000)					0.1790 0.1790 0.1785
		0.1788	0.0003	0.18	
150 menit (1000)					0.1842 0.1831 0.1836
		0.1837	0.0006	0.30	

LAMPIRAN 8

Dokumentasi Penelitian

		
Cairan Pewarnaan Gram	Proses Pewarnaan Gram	Isolat Bakteri <i>Shigella flexneri</i>
		
Hasil Pewarnaan Gram Pada Mikroskop dengan Perbesaran 400 x	Media NA Miring	Pembuatan Medium NA
		
Sumber Radioaktif	Hasil Penanaman Bakteri Pada Medium NA Metode <i>Pour Plate</i>	Larutan Kurva Standart Metode Lowry



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang (0341) 551345 Fax. (0341) 572533

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : PUTRI SOFIANA ROSYADA
NIM : 13640028
Fakultas/ Jurusan : Sains dan Teknologi/ Fisika
Judul Skripsi : Pengaruh Lama Pemaparan Sinar Gamma Terhadap Jumlah Koloni dan Kadar Protein Bakteri *Shigella flexneri*
Pembimbing I : dr. Avin Ainur F., M.Biomed
Pembimbing II : Drs. Abdul Basid, M.Si

No	Tanggal	HAL	Tanda Tangan
1	26 April 2017	Konsultasi Bab I, II, III	
2	3 Mei 2017	Konsultasi Data Hasil Iradiasi	
3	24 Mei 2017	Konsultasi Uji Kadar Protein	
4	2 Juni 2017	Konsultasi Bab IV Awal	
5	6 Juni 2017	Konsultasi Analisis Bab IV	
6	9 Juni 2017	Konsultasi Hasil Uji Kurva Standart	
7	4 Agustus 2017	Konsultasi Bab IV	
8	15 Agustus 2017	Konsultasi Bab IV	
9	14 September 2017	Konsultasi Kajian Agama dan Semua Bab	
10	2 Oktober 2017	Konsultasi Kajian Agama	
11	3 Oktober 2017	Konsultasi Semua Bab, Abstrak dan Acc	

Malang, 6 November 2017
Mengetahui,
Ketua Jurusan Fisika,



Drs. Abdul Basid, M.Si
NIP. 19650504199003 1 003