

**PENGARUH IRADIASI SINAR GAMMA TERHADAP
VIABILITAS DAN PROFIL PROTEIN ISOLAT BAKTERI
Staphylococcus aureus SEBAGAI BAHAN VAKSIN**

SKRIPSI

Oleh :

EVI WAKHIDATUL MAGHFIROH

NIM. 11640039



**JURUSAN FISIKA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
2015**

**PENGARUH IRADIASI SINAR GAMMA TERHADAP VIABILITAS DAN
PROFIL PROTEIN ISOLAT BAKTERI *Staphylococcus aureus* SEBAGAI
BAHAN VAKSIN**

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:
EVI WAKHIDATUL MAGHFIROH
NIM. 11640039

**JURUSAN FISIKA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2015**

HALAMAN PERSETUJUAN

PENGARUH IRADIASI SINAR GAMMA TERHADAP VIABILITAS DAN
PROFIL PROTEIN ISOLAT BAKTERI *Staphylococcus aureus* SEBAGAI
BAHAN VAKSIN

SKRIPSI

Oleh:
EVI WAKHIDATUL MAGHFIROH
NIM. 11640039

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 2 November 2015

Pembimbing I,

Pembimbing II,

dr. Avin Ainur Fitrianiingsih
NIP. 19800203 200912 2 002

Erika Rani, M.Si
NIP. 19810613 200604 2 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Fisika

Erna Hastuti, M.Si
NIP. 19811119 200801 2 009

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH IRADIASI SINAR GAMMA TERHADAP VIABILITAS DAN PROFIL PROTEIN ISOLAT BAKTERI *Staphylococcus aureus* SEBAGAI BAHAN VAKSIN

SKRIPSI

Oleh:
EVI WAKHIDATUL MAGHFIROH
NIM. 11640039

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 9 November 2015

Penguji Utama	<u>Dr. Agus Mulyono, S.Pd, M.Kes</u> NIP. 19750808 199903 1 003	
Ketua Penguji	<u>Erna Hastuti, M.Si</u> NIP. 19811119 200801 2 009	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Avin Ainur F</u> NIP. 19800203 200912 2 002	
Anggota Penguji	<u>Erika Rani, M.Si</u> NIP. 19810613 200604 2 002	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Fisika

Erna Hastuti, M.Si
NIP. 19811119 200801 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : EVI WAKHIDATUL MAGHFIROH
NIM : 11640039
Jurusan : FISIKA
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Judul Penelitian : Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma Terhadap Viabilitas
Dan Profil Protein Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus*
Sebagai Bahan Vaksin

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 19 November 2015

Yang Membuat Pernyataan,

EVY WAKHIDATUL MAGHFIROH
NIM. 11640039

MOTTO

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا لَهَا مَا كَسَبَتْ وَعَلَيْهَا مَا اكْتَسَبَتْ رَبَّنَا لَا تُؤَاخِذْنَا
إِنْ نَسِينَا أَوْ أَخْطَأْنَا رَبَّنَا وَلَا تَحْمِلْ عَلَيْنَا إَصْرًا كَمَا حَمَلْتَهُ عَلَى الَّذِينَ مِنْ
قَبْلِنَا رَبَّنَا وَلَا تُحَمِّلْنَا مَا لَا طَاقَةَ لَنَا بِهِ^ط وَاعْفُ عَنَّا وَارْحَمْنَا أَنْتَ
مَوْلَانَا فَانصُرْنَا عَلَى الْقَوْمِ الْكَافِرِينَ ﴿٢٨٦﴾

“ Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. ia mendapat pahala (dari kebajikan) yang diusahakannya dan ia mendapat siksa (dari kejahatan) yang dikerjakannya. (mereka berdoa): "Ya Tuhan Kami, janganlah Engkau hukum Kami jika Kami lupa atau Kami tersalah. Ya Tuhan Kami, janganlah Engkau bebankan kepada Kami beban yang berat sebagaimana Engkau bebankan kepada orang-orang sebelum kami. Ya Tuhan Kami, janganlah Engkau pikulkan kepada Kami apa yang tak sanggup Kami memikulnya. beri ma'afilah kami; ampunilah kami; dan rahmatilah kami. Engkaulah penolong Kami, Maka tolonglah Kami terhadap kaum yang kafir" (Q.S al-Baqoroh : 286)

قَالَ رَبِّ اشْرَحْ لِي صَدْرِي ﴿٢٥﴾ وَيَسِّرْ لِي أَمْرِي ﴿٢٦﴾
وَاحْلُلْ عُقْدَةً مِنْ لِسَانِي ﴿٢٧﴾ يَفْقَهُوا قَوْلِي ﴿٢٨﴾

"Ya Tuhanku, lapangkanlah untukku dadaku, Dan mudahkanlah untukku urusanku, Dan lepaskanlah kekakuan dari lidahku, Supaya mereka mengerti perkataanku" (Q.S Thaha :25-28)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadiran Ilahi Rabbi Karena atas kuasaNya karya ini dapat terselesaikan. Tak lupa sholawat serta salam dihaturkan kepada Nabi Muhammad Saw. Semoga syafa'at beliau sampai pada kami umat beliau esok fi yaumul qiyamah. Amiin

Karya ini ku persembahkan kepada :

kedua orang tuaku Bapak Fatkhurrahman dan Ibu Siti Mudrikah yang tak pernah henti memberikan kasih sayang, doa, dukungan, perjuangan yang sangat luar biasa mengantarkanku hingga sampai pada titik ini. Hanya ucapan terimakasih yang bisa aku sampaikan. Semoga Allah senantiasa memberikan kesehatan, kemudahan dalam segala urusan, perlindungan dan kebahagiaan di dunia dan akhirat, amin ya robbal 'alamiin

Keluarga dan adikku terkasih Alya Zuhairina Wildatul Fitriyah

Guru-guruku yang senantiasa membimbing dan mendidikku. Terimakasih atas Ilmu yang diberikan semoga bermanfa'at barokah di dunia dan diakhirat, amiin

yang saya ta'dzimi pengasuh PPP. AlHikmah AlFathimiyah

Teman-teman, saudaraku Atul Handayani terimakasih sudah menjadi sahabat sekaligus saudara yang luar biasa.

Saudara-saudaraku PPP. Alhikmah Al Fathimiyyah, keluarga besar Fisika angkatan 2011, semua insan yang telah membantu dalam segala hal demi terselesainya karya ini, hanya Allah yang bisa membalas semua kebaikan kalian..

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan skripsi yang berjudul **Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Viabilitas dan Profil Protein Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai Bahan Vaksin** ini dengan baik.

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

1. Prof. DR. H. Mudjia Raharjo, M.Si, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Dr. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Erna Hastuti, M.Si selaku ketua Jurusan Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. dr. Avin Ainur Fitrianiingsih dan Erika Rani, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Segenap sivitas akademika Jurusan Fisika, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
6. Ayahanda dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada menulis untuk menuntut ilmu.
7. Teman-teman dan para sahabat terimakasih atas kebersamaan dan persahabatan serta pengalaman selama ini.
8. Semua pihak yang ikut membantu menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 19 November 2015

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGANTAR	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Hipotesis	10
1.5 Manfaat Penelitian	10
1.6 Batasan Masalah	10
BAB II KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Profil Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.2 Kematian Bakteri	16
2.3 Protein	17
2.4 Vaksin	18
2.5 Radiasi Sinar Gamma	20
2.6 Hormesis Radiasi	22
2.7 Proteksi Terhadap Sumber Radiasi Eksternal	23
2.7.1 Pengaturan Waktu	23
2.7.2 Pengaturan Jarak	23
2.8 Interaksi Radiasi Dengan Materi Fisik	24
2.8.1 Efek Fotolistrik	24
2.8.2 Efek Compton	25
2.8.3 Efek Compton	26
2.9 Interaksi Radiasi Dengan Materi Biologi	27
2.10 Aplikasi Tenaga Nuklir Dalam Bidang Vaksin	32
2.11 Elektroforesis	36
2.12 Viabilitas	40
2.13 <i>Lethal Dose-50 (LD₅₀)</i>	41
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	43
3.2 Jenis Penelitian	43
3.3 Kerangka Konsep	45
3.4 Kerangka prosedur	46

3.5	Alat dan Bahan Penelitian	47
3.5.2	Alat-Alat Penelitian	47
3.5.2	Bahan-Bahan Penelitian	47
3.6	Desain Rangkaian	48
3.7	Prosedur Penelitian	48
3.7.1	Preparasi Sampel	48
3.7.2	Pengujian Viabilitas Bakteri <i>S.aureus</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma	50
3.7.3	Pengenceran (Dilusi) Bakteri <i>S.aureus</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma	51
3.7.4	Karakteristik Profil Protein Bakteri <i>S.aureus</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma	52
3.8	Teknik Pengolahan Data	55
3.9	Teknik Analisa Data	56
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Analisa Prosedur Penelitian	59
4.1.1	Morfologi Bakteri <i>S.aureus</i>	59
4.1.2	Prosedur Pengujian Viabilitas Bakteri <i>S.aureus</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma	62
4.1.3	Prosedur Pengujian Karakterisasi Profil Protein Bakteri <i>S.aureus</i> Menggunakan Elektroforesis SDS-PAGE	66
4.2	Data Penelitian	74
4.2.1	Data Hasil pengujian Viabilitas Bakteri <i>S.aureus</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma	74
4.2.2	Data Karakterisasi Profil Protein Isolat Bakteri <i>S.aureus</i> Menggunakan Elektroforesis SDS-PAGE	76
4.3	Pembahasan Penelitian	78
4.3.1	Viabilitas Bakteri <i>S.aureus</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma	81
4.3.2	Karakteristik Profil Protein Isolat Bakteri <i>S.aureus</i> Menggunakan Elektroforesis SDS-PAGE	86
4.4	Integrasi Penelitian Dalam AlQur'an	91
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	96
5.2	Saran	97
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Stain Gram <i>S.aureus</i> dalam Sampel Dahak dengan Leukosit Polimorfonuklear	12
Gambar 2.2	Mekanisme Kerja Vaksin	19
Gambar 2.3	Efek Fotolistrik	24
Gambar 2.4	Efek Compton	26
Gambar 2.5	Efek Produksi Pasangan	26
Gambar 2.6	Efek Radiasi terhadap Sel yang Dapat Dimanfaatkan untuk Pembuatan Vaksin	29
Gambar 2.7	Elektroforesis Jenis Gel	37
Gambar 2.8	Ilustrasi Bagian-Bagian yang Digunakan untuk SDS-PAGE	38
Gambar 2.9	Prinsip Kerja SDS-PAGE	39
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian	45
Gambar 3.2	Kerangka Prosedur Penelitian	46
Gambar 3.3	Desain Rangkaian Sumber <i>Gamma Ray</i> sebagai Perlakuan Iradiasi pad Bakteri <i>S.aureus</i>	48
Gambar 4.1	Hasil Pewarnaan Gram Bakteri <i>S.aureus</i>	61
Gambar 4.2	Struktur Protein Ketika Ditambahkan SDS	67
Gambar 4.3	Proses separasi Protein Ketika Running Elektroforesis SDS-PAGE	68
Gambar 4.4	Profil Protein <i>S.aureus</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma	77
Gambar 4.5	Skema Peluruhan Unsur Radioaktif	79
Gambar 4.6	Hubungan Antara Lama Pemaparan Sinar Gamma Dengan % Viabilitas Bakteri <i>S.aureus</i>	82

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Penyakit Umum yang Disebabkan Oleh Bakteri <i>S.aureus</i>	14
Tabel 2.2	Vaksin Iradiasi yang telah Dihasilkan	33
Tabel 3.1	Pengamatan Jumlah Sel Bakteri <i>S.aureus</i> Hasil Iradiasi Sinar Gamma.....	56
Tabel 4.1	Hasil Pengamatan Jumlah Sel Bakteri <i>S.aureus</i> Iradiasi Sinar Gamma.....	75
Tabel 4.2	Pita Protein yang Terbentuk Pada Pengujian Elektroforesis SDS-PAGE pada Sampel Protein <i>Whole cell</i> Bakteri <i>S.aureus</i>	86



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Perhitungan Bobot Molekul (BM) Pita Protein
- Lampiran 2 Hasil Pengujian *Nano Drop*
- Lampiran 3 Hasil Pengujian SPSS Normalitas dan ANOVA
- Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian



DAFTAR SINGKATAN

DNA	: Deoxyribonucleic Acid
NA	: Nutrient Agar
NB	: Nutrient Broth
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide gel electrophoresis
TEMED	: Tetrametildiamina
APS	: Ammonium Persulfat
PMSF	: Poly Methyl Sulfonil Fluoride
RSB	: Reducing Sample Buffer



ABSTRAK

Maghfiroh, Evi Wakhidatul. 2015. **Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Viabilitas dan Profil Protein Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai Bahan Vaksin**. Skripsi. Jurusan Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) dr. Avin Ainur Fitriainingsih (II) Erika Rani, M.Si

Kata Kunci : *Staphylococcus aureus*, Sinar gamma, Viabilitas, Protein, Elektroforesis

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang paling virulen dan salah satu bakteri penyebab infeksi pada manusia dan hewan yang dapat menimbulkan penyakit hingga kematian. Pencegahan yang paling umum untuk penyakit infeksi adalah dengan antibiotik. Akan tetapi antibiotik memiliki beberapa efek negatif. Vaksinasi merupakan salah satu alternatif untuk mencegah timbulnya resistensi dan residu antibiotik. Salah satu metode pembuatan vaksin adalah dengan iradiasi sinar gamma. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap viabilitas dan profil protein yang dihasilkan pada sel bakteri *Staphylococcus aureus*. Dari penelitian ini diharapkan protein dapat lebih banyak terekspresi sehingga berpotensi sebagai bahan vaksin. Sinar gamma yang digunakan berasal dari sumber Cs-137, Am-241, Co-60, dan Na-22 dengan variasi lama penyinaran yaitu 0 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit. Pengujian viabilitas dilakukan dengan teknik dilusi (pengenceran) yang kemudian dilakukan penghitungan bakteri dengan metode TPC. Pengujian profil protein dilakukan dengan elektroforesis SDS-PAGE. Untuk uji viabilitas dapat diketahui bahwa bakteri mengalami penurunan jumlah koloni ketika diiradiasi tidak melebihi 50% dimana jumlah ini digunakan sebagai syarat pembuatan vaksin aktif. Untuk karakterisasi profil protein bakteri didapatkan bahwa protein lebih banyak terekspresi ketika diberi paparan iradiasi.

ABSTRACT

Maghfiroh, Evi Wakhidatul. 2015. **The Influence of Gamma ray Irradiation toward Viability and Profile of Bacterial Protein**. Thesis. Department of Physics Faculty of Science and Technology Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Advisor: (I) dr. Avin Ainur Fitriyaningsih (II) Erika Rani, M.Si

Key Words : *Staphylococcus aureus*, Gamma ray, Viabilitas, Protein, Elektroforesis

Staphylococcus aureus is positif gram bacterium which the most virulent and one of bacterium that cause infection toward human and animal which can cause disease even death. The most common prevention for infection disease is by antibiotic. However, antibiotic has some negative effects. Vaccination is one of way to prevent the emergence of resistance antibiotic residue. One of method to make vaccine is by gamma ray irradiation. This research aims to know the influence of gamma ray irradiation toward viability and protein profile which is produced in *Staphylococcus aureus* bacterium cell. This research is expected that protein can be expressed more until it is potentially as vaccine material. Gamma ray which is used radioactive Cs-137, Am-241, Co-60, dan Na-22 with exposure length variation i.e. 0 minute, 15 minute, 30 minute, 45 minute, 60 minute, 75 minute and 90 minute. The Examination of viability is conducted by dilution technique then conducted bacterium plantation by TPC method. The examination of protein profile is conducted by elektroforesis SDS-PAGE. For viability examination can be known that bacterium experiences reduction of colonial amount when it is irradiated is not more than 50% where this amount is used as requirement to make active vaccine. In characterisizing bacterium protein profile is concluded that protein is expressed more when it is given irradiation.

ملخص البحث

المغفر, إيفي واحدة. 2015. مؤثر إشعاع من الأشعة الجيمية على الجدوى ولمحة البيروتين العزلات البكتيرية *Staphylococcus aureus* كالمادة لقاح. البحث الجامعي. في قسم الفيزياء في كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفان : (I)الدكتورة ألفين عينور فطريا نغسية، (II)الماجستير وإيريك راني، الماجستير.

الكلمات الأساسية : *Staphylococcus aureus* والإشعة الجيمية والجدوى والبيروتين والكهربائي.

Staphylococcus aureus يعنى من الجرثومة الإيجابية الأكثر ضراوة من احدى الجرثومة مسبب إعداء على الناس والحيوان يستطيع أن يطفو مريض حتى الموت. ومن المانع العام لمريض إصابة هي المضادات الحيوية، بل هذه المضادات الحيوية يملك تأثير السلبي. وتلقيح من احدى طريقة ليمنع موجود مقاومة بقايا المضادات الحيوية. ومن احدى منهج ليصنع لقاح بإشعاع من الأشعة الجيمية. وهدف من هذا البحث العلمى ليعرف مؤثر إشعاع من الأشعة الجيمية على الجدوى ولمحة البيروتين يحصل من العزلات البكتيرية *Staphylococcus aureus*. ومن هذا البحث الباحثة يرجو على البيروتين كثير أعرب حتى تأثير كالمادة لقاح. والإشعة الجيمية مستعمل يملك جرعة ثابتة يعنى باختلاف بطيئ إشعاع يعنى صفر دقائق وخمس وأربعون دقائق وستون دقائق وخمس وسبعون دقائق. أما تجريب الجدوى يعمل بتقنية التخفيف ثم يعمل بزراعة البكتيرية بمنهج TPC. وتجريب لمحة الجدوى يعرف أنّ البكتيرية بتجربة انخفاض في عدد المستعمرات عند المشع لاتجاوز 50%، وهذه جملة يستعمل كشرط مصنع لقاح نشط.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam dunia kesehatan dan hampir setiap negara mengalami masalah dengan penyakit infeksi. Penyakit ini 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 (Tetrianan dan Sugoro, 2007).

Infeksi adalah invasi dan berkembang biaknya mikroorganisme patogen (bakteri, parasit, fungi, virus, prion, atau viroid) pada bagian tubuh dan jaringan yang menyebabkan kerusakan jaringan. Proses berikutnya berkembang menjadi penyakit. Hal ini disebabkan oleh berbagai mekanisme seperti metabolisme kompetitif, toksin, replikasi intra seluler, atau reaksi antigen-antibodi (Smeltzer dan Bare, 2002).

Salah satu bakteri penyebab infeksi pada manusia dan hewan adalah *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* merupakan bakteri yang paling virulen diantara spesies staphylococcal yang lain. Bakteri ini diperkirakan 20-75% ditemukan pada saluran pernapasan atas, muka, tangan, rambut dan vagina. Infeksi bakteri ini dapat menimbulkan penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, tampak sebagai jerawat, infeksi folikel rambut, dan pembentukan abses (Lowy, 2014). Diantara organ yang sering diserang oleh bakteri *Staphylococcus*

aureus adalah kulit yang mengalami luka dan dapat menyebar ke orang lain yang juga mengalami luka.

Bakteri *Staphylococcus aureus* bisa masuk ke aliran darah yang dikenal sebagai bakteremia atau sepsis. Apabila hal ini terjadi maka dapat menyebabkan infeksi yang serius. Sepsis staphylococcal adalah penyebab utama syok karena peredaran darah pada orang dengan luka bakar parah di daerah yang luas dari tubuh. Apabila tidak diobati, maka 80% akan menyebabkan kematian.

Dilihat dari faktor penyebabnya yaitu bakteri, penggunaan antibiotik sangat tepat untuk pengobatan penyakit ini. Antibiotik yaitu substansi yang memiliki kemampuan untuk menghalangi pertumbuhan bakteri. Namun pemberian antibiotik yang tidak sesuai dengan aturan medis dapat menimbulkan dampak negatif seperti timbulnya residu dan resistensi bakteri.

Sir Alexander Fleming merupakan seorang peneliti berkebangsaan Skotlandia yang berhasil menemukan *Penicillin* (antibiotik untuk melawan bakteri). Tahun-tahun berikutnya Fleming melakukan penelitian yang menemukan bahwa pemberian dosis antibiotik yang tidak tepat akan membuat bakteri berkembang biak semakin kuat dan kebal terhadap antibiotik.

Fenomena superbugs menjadi masalah besar pada era ini. Superbugs adalah istilah informal yang digunakan untuk bakteri yang kebal. Pada saat pemaparan antibiotik, bakteri yang kebal akan tetap hidup, dan bakteri yang sensitif akan mati. Bakteri yang kebal akan berkembang biak dan selanjutnya akan mentransfer materi genetik ke bakteri-bakteri lain. Akibatnya bakteri yang sensitif akan menjadi bakteri yang kebal.

Penyakit dan kerugian yang ditimbulkan superbugs sangatlah besar. Menurut data *Centers for Disease Control* (CDC) di Amerika Serikat, terdapat 2 juta pasien terinfeksi superbugs dan 23 ribu diantaranya meninggal dunia. Biaya kesehatan bertambah 20 Milyar Dollar AS (sekitar 200 trilyun rupiah) rupiah per tahun akibat infeksi bakteri-bakteri ini. Kerugian produktivitas yang ditimbulkannya sekitar 35 milyar dollar (359 trilyun rupiah) pertahun (Kresnawati, 2013).

Menurut CDC, ancaman superbugs tersebut dibagi menjadi tiga kategori, yaitu kategori darurat, serius dan memprihatinkan. Bakteri yang tergolong dalam kategori ancaman yang serius salah satunya adalah *Methicillin-Resistance Staphylococcus aureus* (MRSA) (Kresnawati, 2013). MRSA merupakan jenis *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *methicillin* antibiotik dan obat lain di kelas yang sama, termasuk penisilin, amoksisilin, dan oksasilin.

Vaksinasi merupakan salah satu upaya pencegahan penyakit dan mencegah terjadinya resistensi bakteri dan residu antibakteri. Pembuatan vaksin dapat dilakukan dengan metode fisika seperti pemanasan dan radiasi, atau metode kimia yakni menggunakan suatu senyawa spesifik, maupun metode biologi seperti modifikasi genetik. Radiovaksin adalah teknik terbaru pembuatan vaksin dengan cara iradiasi. Dalam dunia nuklir dikenal fenomena hormesis radiasi. Menurut Akhadi (2000) Hormesis radiasi memiliki pengertian bahwa radiasi dosis rendah bersifat mampu memberikan efek yang menguntungkan bagi kehidupan.

Fenomena hormesis radiasi dapat terjadi pada hewan, tumbuhan, hingga manusia. Penelitian yang dilakukan pada organisme bersel tunggal, tumbuhan dan

binatang bersel banyak menunjukkan bahwa paparan radisasi dosis rendah dapat memberikan efek positif seperti peningkatan kesuburan, kesehatan, penyembuhan luka, kerentanan terhadap penyakit dan ketahan terhadap infeksi. Hormesis pada manusia hingga kini masih dalam penelitian. Obyek penelitian yang dilakukan adalah para korban bom atom di Hiroshima dan Nagasaki yang selamat. Dari data yang dikumpulkan selama 24 tahun sejak tahun 1958 hingga 1982 menunjukkan bahwa sejumlah korban yang diperkirakan menerima radiasi dengan dosis antara 0,12 – 0,36 Sievert justru tercatat tingkat kematiannya akibat leukemia paling minim dibandingkan penduduk lain yang tidak menerima paparan radiasi pada saat terjadi ledakan bom atom.

Bertitik tolak pada fenomena hormesis radiasi, salah satu manfaat yang bisa digunakan dalam dunia nuklir adalah pembuatan vaksin berbasis radiasi pengion. Jenis radiasi yang biasanya digunakan adalah sinar gamma yang memiliki daya tembus tinggi dan panjang gelombang pendek (Hall, 1994). Sinar gamma digunakan untuk menurunkan infektivitas, virulensi, dan patogenitas agen penyakit, tetapi diharapkan mampu merangsang timbulnya kekebalan pada tubuh terhadap infeksi penyakit.

Teknik iradiasi juga harus memperhatikan proses atenuasi dan virulensi organisme. Proses atenuasi berguna untuk membuat vaksin hidup pada dosis iradiasi yang mematikan atau menurunkan jumlah populasi bakteri hingga 50% atau *lethal dose-50* (LD_{50}).

Vaksin menjadi pro kontra dikalangan masyarakat, terutama di Indonesia yang mayoritas penduduknya adalah muslim. Hal ini dikarenakan pada masa

Rasulullah Saw. belum ada vaksinasi sehingga belum ada hukum yang jelas mengenai hal ini. Maka dari itu para ulama melakukan ijtihad mengenai masalah ini namun banyak yang tidak menghasilkan kesepakatan umum, sehingga terdapat khilafiyah diantara para ulama bahkan ada yang menyatakan haram atau halal.

Proses pembuatan vaksin yang bersinggungan dengan media haram menjadi pembahasan utama kelompok yang menentang adanya vaksin, di antaranya adalah enzim babi, ginjal babi, ginjal kera dan lain-lain. Ada pula yang menggunakan janin hasil aborsi. Menurut laporan LPPOM MUI, beberapa vaksin memang dihasilkan dari calon bayi manusia yang sengaja digugurkan, seperti vaksin cacar air, hepatitis, dan MMR (*Measles Mumps Rubella*/campak, gondok) diperoleh dengan menggunakan *fetal cell line* (sel janin) yang diaborsi, yakni MRC-5 dan WI 38. Bio Farma, selaku satu-satunya pemasok resmi vaksin yang ditunjuk pemerintah pada PIN campak kali ini, mengatakan bahwa mereka tidak memakai sel janin hasil aborsi dalam pembiakan virusnya. Direktur pemasaran Bio Farma, Sarumuddin, menyatakan bahwa virus campak dibiakkan dalam telur ayam yang sangat bersih dari kuman. Tapi diakuinya, ginjal jabang bayi kera sampai saat ini memang masih digunakan sebagai alat bantu dalam pembiakkan virus (Anonim, 2015).

Dalam pembuatan vaksin, unsur binatang termasuk babi sering dipakai sebagai media untuk membiakkan bibit vaksin dari kuman yang dilemahkan. Media ini berfungsi sebagai pemotong rantai kimia tertentu, sehingga bersinggungan dengan bahan baku pembuatan vaksin. Dalam islam dijelaskan bahwa islam melarang umatnya untuk memasukkan sesuatu yang najis ke dalam

tubuh. Ada juga yang mengatakan bahwa vaksin itu adalah sesuatu yang dilakukan orang non muslim yang berpendapat bahwa manusia itu lemah sehingga perlu dilakukan vaksinasi. jadi sebagai orang muslim tidak patut mencontoh tindakan ini.

Pendapat dari kalangan yang pro terhadap vaksin salah satunya bahwa mencegah lebih baik daripada mengobati. Jika paradigma kesehatan dapat mengutamakan pencegahan daripada pengobatan, maka secara bertahap resiko timbulnya residu akibat pengobatan bisa diminimalisasi. Mengenai paradigma ini Allah Swt. berfirman dalam surat Az-Zumar ayat 55 yang berbunyi:

وَاتَّبِعُوا أَحْسَنَ مَا أُنزِلَ إِلَيْكُمْ مِنْ رَبِّكُمْ ﴿٥٥﴾

“Dan ikutilah sebaik-baik apa yang telah diturunkan kepadamu dari Tuhanmu (alqur'an)” (Az-Zumar (39): 55).

Vaksin diproduksi untuk pencegahan pada suatu penyakit. Allah berfirman dalam Alqur'an yang banyak menganjurkan untuk melakukan pencegahan. Di dalam masalah kesehatan, Alqur'an lebih banyak menjelaskan tindakan-tindakan yang bersifat pencegahan (preventif), daripada tindakan pengobatan dan penyembuhan (kuratif). Hal ini harus direnungkan dan menjadi panduan manusia dalam membangun kesehatan individu dan masyarakat. Secara umum, kesehatan dalam islam berprinsip pada upaya menjaga kesehatan secara preventif (menjaga kesehatan sebelum sakit). Kemudian setelah itu, islam menganjurkan pengobatan bagi siapa yang membutuhkan karena sakit. Inilah salah satu prinsip dalam islam yang sesuai dengan karakteristik, kemampuan dan keadaan fitrah manusia.

Proses pembuatan vaksin yang bersinggungan dengan media haram tidak menjadi masalah pada kalangan yang pro karena bahan ini merupakan bahan satu-satunya dan tidak bisa diganti dengan bahan lain yang halal. Berbeda lagi jika sudah ditemukan bahan halal yang bisa menggantikan posisi yang haram, tentu pemberian vaksin yang bersinggungan dengan media haram menjadi haram hukumnya jika diinjeksikan ke tubuh manusia. Namun proses menuju kearah itu masih dalam tahap penelitian. Dari sebuah artikel yang peneliti temukan dalam media online, seorang peneliti senior PT Biofarma, Dr. Neni Nurainy, Apt, mengatakan bahwa saat ini penggunaan unsur binatang sudah mulai ditinggalkan. Sebagai gantinya, industri vaksin diarahkan untuk memakai bahan sintetis yang dibuat semirip mungkin dengan unsur binatang. Selain itu juga banyak dampak negatif yang ditimbulkan dari penggunaan media binatang karena beresiko memicu penularan penyakit dari binatang ke manusia.

Dr. Piprim Basarah Yanuarso, Sp.A(K), dari Departemen Kesehatan Anak Universitas Indonesia mengungkapkan bahwa sebenarnya tidak dibenarkan bahwa vaksin diharamkan. Vaksin tidak mengandung babi, tetapi hanya bersinggungan dengan enzim tripsin dari babi selama pembuatan jenis vaksin tertentu. Jadi, tidak semua vaksin bersinggungan dengan bahan ini. Dalam penjelasannya Prof. Jurnalis mengatakan, tripsin babi sebenarnya bukanlah bahan baku vaksin. Dalam proses pembuatan vaksin, tripsin hanya dipakai sebagai enzim proteolitik (enzim yang digunakan sebagai katalisator pemisah sel/protein). Pada hasil akhirnya (vaksin), enzim tripsin yang merupakan unsur turunan dari pankreas babi ini tidak

terdeteksi lagi. Enzim ini akan mengalami proses pencucian, pemurnian dan penyaringan, hingga jejaknya pun tidak terlihat lagi (Anonim, 2015).

Kekebalan memang ada yang sudah berasal dari tubuh manusia. Namun lingkungan juga mempengaruhi daya tahan tubuh. Tidak bisa dipungkiri bahwa kita hidup di lingkungan yang tingkat kebersihannya rendah. Sehingga resiko terkena penyakit itu pasti ada. Vaksin mungkin merupakan salah satu diantara solusi lain yang bisa mencegah resiko terjadinya penyakit terutama yang disebabkan karena infeksi. Namun ini semua kembali pada masing-masing individu. Vaksin bukan menjadi kewajiban bagi setiap manusia. Jadi bebas hukumnya seseorang menentukan apakah dia mau divaksinasi atau tidak. Banyak orang yang tidak divaksin tetap sehat, namun banyak juga kejadian luar biasa yang terjadi karena penyakit akibat tidak dilakukan vaksinasi dalam suatu populasi.

Dari beberapa uraian diatas peneliti tidak menekankan untuk pro terhadap masalah ini, meskipun penelitian ini berhubungan dengan pengembangan vaksin. Terlepas dari masalah diatas, penelitian ini dilakukan untuk menjadi salah satu pengetahuan yang bisa menjadi langkah awal menuju pencerahan. Pada pembahasana sebelumnya dijelaskan bahwa salah satu metode pembuatan vaksin yaitu dengan iradiasi.

Teknik iradiasi bisa merubah konfigurasi molekuler salah satunya adalah protein yang berfungsi sebagai respon kekebalan. Selain itu, DNA yang terkena radiasi akan mengalami pemutusan rantai dan dapat kembali menyusun ulang urutan basa nitrogennya. Hasil penyusunan kembali tersebut bisa sama atau

berbeda dengan semula. Penyusunan ulang yang berbeda dapat berakibat pada kematian sel. Untuk mendukung hal tersebut perlu dilakukan pengukuran jumlah mikroorganisme yang bertahan hidup setelah proses iradiasi atau dikenal sebagai viabilitas dan analisis profil protein isolat sebelum dan sesudah iradiasi. Analisa profil protein dapat dilakukan melalui elektroforesis SDS-PAGE, sehingga dapat diketahui apakah protein isolat bakteri *Staphylococcus aureus* mengalami perubahan yang signifikan atau tidak setelah proses iradiasi.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang di atas, maka masalah penelitian yang dapat dirumuskan adalah:

1. Bagaimana pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap viabilitas bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Bagaimana pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap profil protein sel bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai bahan vaksin?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap viabilitas bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap profil protein yang dihasilkan pada sel bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai bahan vaksin.

1.4 Hipotesis

1. H_0 = Tidak ada pengaruh yang signifikan antara iradiasi sinar gamma terhadap viabilitas dan profil protein yang dihasilkan.

2. H_1 = Ada pengaruh yang signifikan antara iradiasi sinar gamma terhadap viabilitas profil protein yang dihasilkan.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis : Sebagai langkah awal dalam pembuatan bahan vaksin dengan radiasi pengion untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Manfaat Praktis : Sebagai solusi untuk masyarakat dalam pengendalian suatu penyakit akibat infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* yang diaplikasikan dalam bentuk vaksinasi.

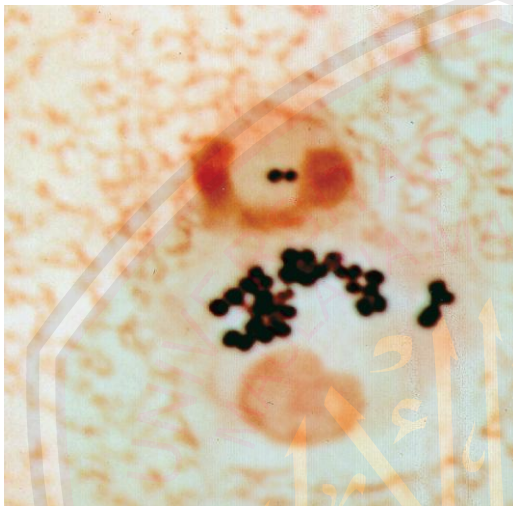
1.6 Batasan Masalah

1. Data yang di ambil dari perlakuan iradiasi sinar gamma dengan variasi lama pemaparan dan mengabaikan perlakuan yang lain seperti jarak antara sampel dengan sumber radiasi.
2. Sumber radiasi sinar gamma yang digunakan yaitu berasal dari beberapa jenis radioisotop seperti Cobalt (Co), Amerisium (Am), Natrium (Na), dan Cesium (Cs) dengan mengabaikan pengaruh masing-masing terhadap sampel.
3. Analisa profil protein yang dilakukan menggunakan elektroforesis SDS-PAGE.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Profil Bakteri *Staphylococcus aureus*



Klasifikasi Ilmiah

Domain : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : Staphylococcus aureus

Gambar 2.1 Stain gram *S. aureus* dalam sampel dahak dengan leukosit polimorfonuklear (Lowy, 2014)

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang bersifat anaerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan non motil, umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok, dengan diameter sekitar 0,9-1,3 μm . Bakteri ini tumbuh dengan baik pada suhu tubuh manusia dan juga pada pangan yang disimpan pada suhu kamar serta menghasilkan toksin pada suhu tersebut. Toksin ini disebut enterotoksin karena dapat menyebabkan gastroenteritis atau radang lapisan saluran usus. Suhu optimum untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah $35^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$ dengan suhu minimum $6,7^{\circ}\text{C}$ dan suhu maksimum $45,4^{\circ}\text{C}$. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0 – 9,8 dengan pH optimum 7,0 – 7,5 (Anishida, 2011).

Bakteri ini biasanya terdapat pada saluran pernapasan atas dan kulit. Keberadaan *Staphylococcus aureus* pada saluran pernapasan atas dan kulit pada individu jarang menyebabkan penyakit. Individu sehat biasanya hanya berperan sebagai karier. Infeksi serius terjadi ketika resistensi inang melemah karena adanya perubahan hormon, adanya penyakit, luka, atau penggunaan steroid atau obat lain yang mempengaruhi imunitas sehingga terjadi pelemahan inang (Jawetz dan Adelberg's, 2005).

Lesi yang ditimbulkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada abses lesi ataupun jerawat. Bakteri menginvasi dan berkembang biak dalam folikel rambut yang menyebabkan kematian sel atau nekrosis pada jaringan setempat. Selanjutnya diikuti dengan penumpukan sel radang dalam rongga tersebut, sehingga terjadi akumulasi penumpukan pus dalam rongga. Penumpukan pus ini mengakibatkan terjadinya dorongan terhadap jaringan sekitar dan terbentuklah dinding-dinding oleh sel-sel sehat sehingga terbentuklah abses. Bakteri ini juga akan bisa menyebar ke bagian tubuh yang lain lewat pembuluh getah bening dan pembuluh darah sehingga terdapat juga peradangan dari vena dan trombosis (Lowy, 2014).

Staphylococcus sebagian merupakan bagian dari flora normal kulit dan mukosa yang jika dalam keadaan inang yang lemah imunitasnya dapat menimbulkan infeksi oportunistik berupa radang supuratif, abses, dan septikemia yang fatal. *Staphylococcus* yang patogen mampu menghemolisis darah, mengkoagulasi plasma, dan memproduksi berbagai enzim serta toksin. Genus *heat-stable staphylococcal enterotoxin* dapat menyebabkan keracunan makanan

(food poisoning). Genus ini cepat membentuk galur yang resisten terhadap berbagai antimikroba dan menjadi sulit diobati (Jawetz dan Adelberg's, 2005).

Tabel 2.1 Penyakit umum yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Sumber: Lowy, 2014)

Infeksi kulit dan jaringan halus	<i>Folliculitis</i>
	<i>Furuncle, carbuncle</i>
	<i>Cellulitis</i>
	<i>Impetigo</i>
	<i>Mastitis</i>
	Infeksi luka bedah (<i>surgical wound infection</i>)
	<i>Hidradenitis suppurativa</i>
Infeksi muskuloskeletal	<i>Septic arthritis</i>
	<i>Osteomyelitis</i>
	<i>Pyomyositis</i>
	<i>Psoas abscess</i>
Infeksi saluran pernapasan	<i>Ventilator-associated or nosocomial pneumonia</i>
	<i>Septic pulmonary emboli</i>
	<i>Postviral pneumonia (influenza)</i>
	<i>Empyema</i>
Bakteremia dan komplikasinya	<i>Sepsis, septic shock</i>
	<i>Metastatic foci of infection</i> (ginjal,

	tulang sendi, tulang, paru-paru)
	<i>Infective endocarditis</i>
<i>Infective endocarditis</i>	Injeksi penggunaan obat-obatan
	<i>Native-valve</i>
	<i>Phrosthetic-valve</i>
	Nosokomial
Infeksi alat-alat	Kateter intravaskular
	<i>Prosthetic joints</i>
Penyakit yang diperantai toksin	<i>Toxic shock syndrome</i>
	Keracunan makanan
	<i>Staphylococcal scalded-skin syndrome</i>

Staphylococcus memiliki antigen pada dinding sel berupa polisakarida dan protein. *Peptidoglycan* yaitu suatu polimer polisakarida merupakan pembentuk dinding sel sehingga dinding sel menjadi kuat dan kaku. *Peptidoglycan* penting dalam patogenesis infeksi. Protein A merupakan komponen dinding sel *Staphylococcus aureus* yang mampu berikatan dengan *Fc portion* IgG sedangkan *Fab portion* IgG mampu mengikat protein A dan tetap bebas atau mampu berikatan dengan antigen spesifik lainnya (Jawetz dan Adelberg's, 2005).

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 tidak 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 (Pelczar, 2012).

Andaikan 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 ditembak secara acak terhadap banyak sasaran, maka peluang untuk mengenai satu sasaran semakin besar (Pelczar, 2012).

Peluang untuk mengenai suatu sasaran sebanding tidak hanya terhadap jumlah sasaran yang ada tetapi juga terhadap jumlah paparan atau pemberian perlakuan, yaitu konsentrasi bahan kimia atau intensitas sarana fisik. Semakin banyak paparan atau perlakuan dalam rentang waktu tertentu, semakin cepat sasaran yang berhasil dilemahkan atau dimatikan. Apabila sasarannya adalah bakteri dan perlakuan yang diberikan adalah paparan sinar x atau lainnya, maka sel-sel akan mati lebih cepat apabila intensitas radiasinya bertambah (Pelczar, 2012).

Semakin lama perlakuan diberikan, semakin banyak pula sasaran yang terkenai. Akan tetapi semakin banyak sasaran yang ada, maka semakin lama waktu yang diperlukan untuk mengenai semua sasaran, yaitu jika segala kondisi yang lain konstan. Jadi diperlukan banyak waktu untuk membunuh populasi. Apabila jumlah selnya banyak, maka perlakuan harus diberikan lebih lama agar peluang kematian sel lebih besar (Pelczar, 2012)

2.3 Protein

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 (Poedjiadi, 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).

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).

Ada beberapa jenis protein sangat peka terhadap perubahan lingkungannya. Apabila konformasi molekul protein berubah, misalnya oleh perubahan suhu, pH atau karena terjadi suatu reaksi dengan senyawa lain, ion-ion logam, maka aktivitas biokimiawinya berkurang. Perubahan konformasi alamiah menjadi konformasi tidak menentu merupakan suatu proses yang disebut denaturasi (Poedjiadi, 1994).

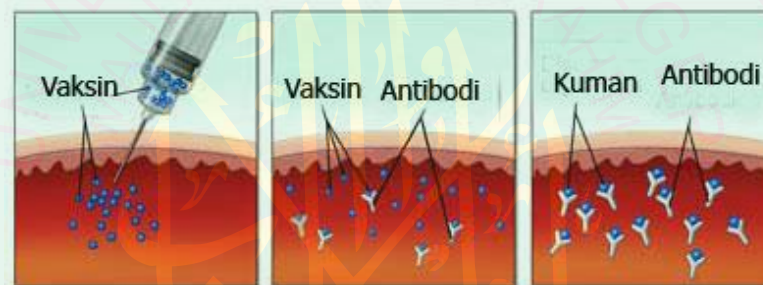
2.4 Vaksin

Vaksin berasal dari kata *vaccinia* 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 di inokulasikan (Baratawijadja dan 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 didalam media pembiakan yang disiapkan secara khusus. Bakteri atau kuman bisa hidup dialam, diluar tubuh makhluk hidup, atau juga dimedia pembiakan yang

sesuai dilaboratorium, namun virus hanya bisa hidup didalam sel makhluk hidup, atau dalam media pembiakan virus yang dibuat khusus terdiri dari sel hidup (*Medical Research News*, 2006).

Bila unsur asing ini menyerang tubuh, maka sistem kekebalan akan mengaktifkan sel-sel tertentu untuk 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 atau virus (*Medical Research News*, 2006).



Gambar 2.2 Mekanisme kerja vaksin (Scorvia, 2000)

Pada gambar 2.2 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 sistem (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).

Pembuatan vaksin secara konvensional banyak menimbulkan efek negatif. Oleh karena itu pembuatan vaksin secara konvensional diubah menggunakan rekayasa genetika untuk membantu mengurangi resiko-resiko yang merugikan.

Prinsip-prinsip rekayasa genetika dalam pembuatan vaksin adalah sebagai berikut:

(a) mengisolasi (memisahkan) gen-gen dari organisme penyebab sakit yang berperan dalam menghasilkan antigen yang merangsang limfosit untuk menghasilkan antibodi; (b) menyisipkan gen-gen di atas ke tubuh organisme yang kurang patogen; (c) mengkulturkan organisme hasil rekayasa, sehingga menghasilkan antigen dalam jumlah banyak dan (d) mengekstraksi antigen, lalu digunakan sebagai vaksin (Anonim, 2015).

2.5 Radiasi Sinar Gamma

Radiasi adalah suatu emisi (pancaran) dan perambatan energi melalui materi atau ruang dalam bentuk gelombang elektromagnetik dan atau partikel. Apabila terdapat inti atom yang tidak stabil, maka akan mengalami peluruhan menuju keadaan stabil dengan memancarkan radiasi. Salah satu jenis radiasi adalah radiasi sinar gamma.

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 inti 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).

Sinar gamma merupakan jenis radiasi gelombang elektromagnetik. Sinar gamma tidak bermassa dan tidak memiliki muatan sehingga daya tembusnya tinggi. Atom yang memancarkan sinar gamma tidak akan mengalami pengurangan nomor atom maupun nomor massa, hanya atomnya saja yang berada dalam keadaan tereksitasi kembali ke keadaan dasar (Akhadi, 2000).

Sinar gamma memiliki daya tembus paling besar dibanding sinar radioaktif lainnya seperti α dan β , tidak dipengaruhi medan magnet dan medan listrik karena tidak bermuatan, panjang gelombang antara 1 sampai 10 Angstrom, dan daya ionisasinya rendah. Jika sinar gamma mengenai materi maka akan menghasilkan ionisasi, hanya saja ionisasi yang dihasilkan sebagian besar melalui proses ionisasi sekunder. Interaksi antara sinar gamma dengan materi hanya beberapa pasang ion primer saja yang terbentuk. Ion-ion primer itu selanjutnya melakukan proses ionisasi sekunder sehingga diperoleh pasangan ion yang lebih banyak dibandingkan yang terbentuk pada proses ionisasi primer (Akhadi, 2000).

Kematian mikroorganisme karena paparan radiasi pengionisasi biasanya bersifat eksponensial. Hubungan dosis dengan persentase organisme yang dibunuh, selalu eksponensial. Suatu dosis 2,5 Mrad radiasi pengionisasi (1 Mrad = 10^6 rad) sudah diterima sebagai dosis sterilisasi. Dosis tersebut, cukup untuk membunuh sebagian besar mikroorganisme dan juga tersedia sebagai dosis yang aman untuk digunakan dalam praktek (Kusnadi. dkk, 2003).

2.6 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).

Anggapan ini didasarkan pada dugaan bahwa makhluk hidup mempunyai kemampuan untuk beradaptasi pada suatu lingkungan yang dosis radiasinya lebih tinggi dari radiasi latar alamiah. Paparan radiasi tersebut mampu merangsang fungsi-fungsi sel dalam mengurangi kerusakan akibat paparan radiasi berikutnya. Jadi ada semacam proses imunisasi yang terjadi pada sel. Dalam hal ini kerusakan sel akibat paparan radiasi akan diimbangi bukan hanya dalam bentuk perbaikan kembali sel yang rusak melainkan juga kekebalan sel terhadap radiasi berikutnya (Akhadi, 2000).

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)

2.7 Sumber Radiasi Eksternal

2.7.1 Pengaturan Waktu

Seorang pekerja radiasi yang berada di dalam medan radiasi akan menerima dosis radiasi yang besarnya sebanding dengan lamanya pekerja tersebut didalam medan radiasi dan dapat dirumuskan dengan (Akhadi, 2000):

(2.1)

$$D = \dot{D} \cdot t$$

Dengan D adalah dosis akumulasi yang diterima pekerja, \dot{D} adalah laju dosis serap dalam medan radiasi, dan t adalah lamanya seseorang berada di dalam medan radiasi (Akhadi, 2000).

2.7.2 Pengaturan Jarak

Apabila jarak antara sumber dengan suatu titik sedemikian dekatnya, maka laju dosis pada titik tersebut sangat besar. Oleh sebab itu, betapapun kecilnya sumber radiasi, setiap pekerja dilarang memegang sumber radiasi tersebut secara langsung (Akhadi, 2000).

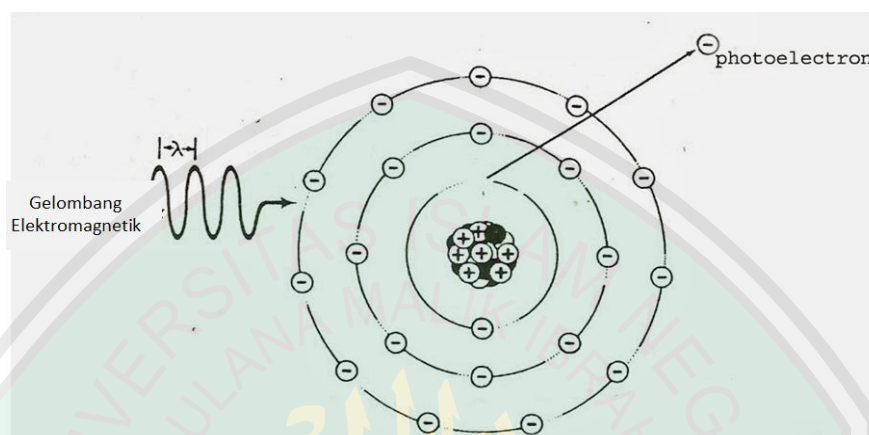
2.8 Interaksi Radiasi dengan Materi Fisik

Ada tiga proses utama yang dapat terjadi apabila radiasi gamma melewati bahan, yaitu efek fotolistrik, hamburan Compton dan produksi pasangan. Ketiga proses tersebut melepaskan elektron yang selanjutnya dapat mengionisasi atom-atom lain dalam bahan.

2.8.1 Efek Fotolistrik

Efek foto listrik adalah peristiwa terlepasnya elektron dari orbitnya ketika atom menyerap seluruh energi foton yang mengenainya. Pada peristiwa

fotolistrik, sebuah foton diserap oleh elektron orbit yang terikat dalam atom. Tenaga foton diberikan kepada elektron sebagian untuk melepaskan diri dari orbit atom dan sisanya digunakan untuk bergerak sebagai tenaga kinetik (Beiser, 1995).



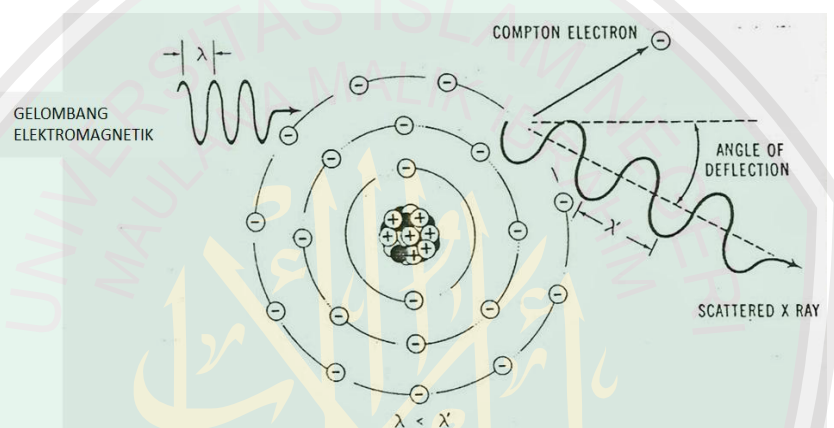
Gambar 2.3 Efek fotolistrik (Bushong, 2001)

Dengan kata lain, Efek fotolistrik adalah gejala terlepasnya elektron dari permukaan suatu logam akibat adanya cahaya yang menyinari permukaan logam tersebut. Proses pengeluaran elektron ini terjadi pada penyinaran dengan energi foton rendah kira-kira 50 KeV. Efek fotolistrik dapat terjadi jika energi foton (cahaya) lebih besar daripada energi ikat dari suatu logam. Elektron yang terlepas dinamakan fotoelektron.

2.8.2 Efek Compton

Hamburan Compton terjadi ketika sebagian dari energi yang dimiliki foton sinar gamma di transfer ke elektron. Foton akan dihamburkan/dibelokkan dan mengalami kehilangan energi, sedangkan elektron akan terlempar keluar atom. Elektron itu dilepaskan dari ikatan inti dan bergerak dengan energi kinetik tertentu disertai foton lain. Energi radiasi hanya sebagian saja diserap untuk mengeluarkan

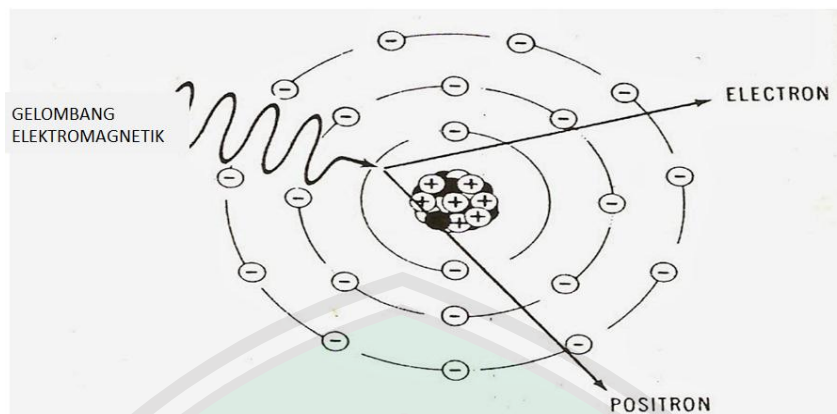
elektron dari atom (fotoelektron) sedangkan sisa energi akan terpancar sebagai “*scattered radiation*” atau hamburan radiasi dengan energi yang lebih rendah daripada energi semula. Hamburan Compton terjadi pada elektron-elektron bebas atau terikat secara lemah pada lapisan kulit yang terluar pada penyinaran dengan energi radiasi yang lebih tinggi yaitu berkisar antara 200-1.000 KeV (Gabriel, 1996).



Gambar 2.4 Efek compton (Bushong, 2001)

2.8.3 Produksi Pasangan

Produksi pasangan adalah proses pembentukan positron dan elektron melalui energi radiasi sinar gamma yang melebihi 1,02 MeV. Proses produksi pasangan terjadi bila foton datang 1.02 MeV. Proses ini terjadi apabila radiasi dengan energi yang sangat tinggi mendekati/memasuki medan listrik atom/inti (Gabriel, 1996). Foton itu akan lenyap sebagai gantinya timbul sepasang elektron-positron. Positron adalah partikel yang massanya sama dengan elektron dan bermuatan listrik positif yang besarnya juga sama dengan muatan elektron (Steward, 2001).



Gambar 2.5 Efek produksi pasangan (Bushong, 2001)

Proses ini sesuai dengan teori Einstein yang memenuhi hukum kekekalan energi (Yudi, 2008) :

$$hv = (2m_0c^2) + (K_+) + (K_-) \quad (2.2)$$

K_+ = energi kinetik positron

K_- = energi kinetik elektron

Oleh karena itu proses ini hanya bisa berlangsung bilamana energi foton yang datang minimal $2m_0c^2$ ($=1.20$ MeV), m_0 adalah massa diam elektron dan c adalah kecepatan cahaya. Berkaitan dengan uraian ini maka nilai atau besaran absorpsi linier akan bergantung pada energi foton yang datang disamping bergantung pada jenis medium/materi/zat yang dilaluinya atau bergantung pada nomor atom (Z) media/materi yang dilaluinya (Yudi, 2008).

2.9 Interaksi Radiasi dengan Materi Biologi

Sinar gamma merupakan radiasi pengion. Interaksi antara sinar gamma dengan materi biologis sangat tinggi sehingga mampu memukul elektron pada kulit atom sehingga menghasilkan pasangan ion (pair production). Cairan sel baik

intraseluler maupun ekstraseluler akan terionisasi sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian pada mikroorganisme tersebut (Gabriel, 1996).

Sinar elektromagnetik dengan panjang gelombang lebih pendek, seperti sinar-x dan sinar- γ dapat memperlihatkan efeknya jika diserap oleh bakteri. Energi suatu kuantum berbanding terbalik dengan panjang gelombangnya. Pada reaksi primer, hanya 1 kuantum cahaya yang diserap oleh setiap molekul substansi pengabsorpsi. Jumlah kuantum yang diabsorpsi oleh suatu sistem biologi sebanding dengan lamanya dan intensitas produk radiasi, juga sebanding dengan koefisien absorpsi bahan teriradiasi. Absorpsi kuantum oleh elektron dalam satu atom menyebabkan inaktivasi molekul, yang selanjutnya menggunakan kelebihan energi untuk merubah senyawa kimia, seperti dekomposisi dan penyusunan-kembali bagian dalam ("*internal rearrangements*"), atau dapat hilang sama sekali sebagai panas atau dapat hilang sama sekali sebagai panas atau fluoresensi (Kusnadi, dkk, 2003).

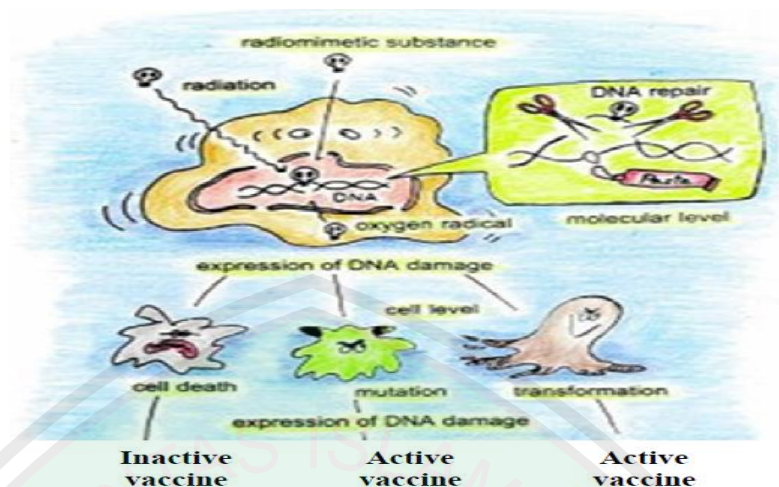
Radiasi menyebabkan pemindahan segera tenaga ke jaringan. Ionisasi hasilnya menyebabkan kehilangan kemampuan reproduksi sel dan kemudian kematian sel. Persentase sel yang mati dan waktu kematian sel tergantung atas kinetik sel. Jenis jaringan berbeda bervariasi dalam kerentanannya. Pada umumnya sel normal dan ganas paling sensitif selama mitosis. Sehingga sel yang cepat membelah paling sensitif (Sabiston, 1995).

Pada tingkatan dosis iradiasi paling rendah pun radiasi sinar gamma dapat menyebabkan kerusakan pada tingkatan seluler. Kerusakan tingkat seluler dapat mengganggu proses pembelahan sel hingga kematian sel. Meskipun pada

tingkatan tersebut sel masih dapat bertahan hidup, sehingga berdasarkan hasil perhitungan statistik yang diperoleh diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dalam melemahkan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam pembuatan vaksin aktif, tetapi kemampuannya untuk menimbulkan tanggap kebal masih memerlukan penelitian lebih lanjut (Windusari, 2014).

Radiasi dapat menghambat atau menghalangi pembelahan sel sebagai akibat atau kerusakan pada kromosom. Beberapa fragmen kromosom mulai terlihat pada stadia metafase, yang disusul kemudian oleh timbulnya jembatan kromosom pada stadia anafase ataupun telofase. Semua ini dapat mengarah pada tertundanya atau terhentinya proses pembelahan sel. Jika proses pembelahan sel dihambat atau dihalangi secara terus-menerus dapat menimbulkan kematian sel atau jaringan (Darussalam, 1996).

Pada gambar 2.6 menunjukkan target utama bagian sel adalah DNA yang merupakan sumber informasi genetik. Perubahan genetik akan berakibat pada terganggunya kinerja atau kematian sel. DNA yang terkena radiasi akan mengalami pemutusan rantai dan dapat kembali menyusun ulang urutan basa nitrogennya. Hasil penyusunan kembali tersebut bisa sama atau berbeda dengan semula. Penyusunan ulang yang berbeda dapat berakibat pada kematian sel, mutasi atau transformasi (Hall, 1994).

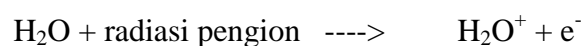


Gambar 2.6 Efek radiasi terhadap sel yang dapat dimanfaatkan untuk pembuatan vaksin iradiasi (Tetrianan dan Sugoro, 2007)

Suatu materi hidup seperti sel, apabila terkena sinar gamma akan mengalami kerusakan secara langsung atau tidak langsung. Efek langsung adalah terjadi pemutusan ikatan senyawa-senyawa penyusun sel. Efek tidak langsung terjadi karena materi sel terbanyak adalah air yang apabila terkena sinar gamma akan mengalami hidrolisis dan menghasilkan radikal bebas. radikal bebas inilah yang akan menyebabkan kerusakan materi sel seperti molekul enzim, DNA, RNA, dan yang lainnya. Mengingat bahwa 80% komposisi organisme hidup terdiri dari air, maka hampir setiap efek radiasi terhadap sistem biologi sebagian besar diawali oleh peristiwa pengaktifan (radiolisis) molekul air (Darussalam, 1996). Ada empat tahapan interaksi, yaitu (Akhadi, 2000):

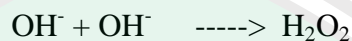
a. Tahap fisik

Tahap Fisik berupa absorpsi energi radiasi pengion yang menyebabkan terjadinya eksitasi dan ionisasi pada molekul atau atom penyusun bahan biologi (proses dalam orde 10-16 detik) (Akhadi, 2000).



b. Tahap fisikokimia

Atom atau molekul yang tereksitasi atau terionisasi mengalami reaksi dan menghasilkan radikal bebas yang tidak stabil (dalam orde 10⁻¹⁶ detik). Radikal bebas OH[•] dapat membentuk peroksida (H₂O₂) yang bersifat oksidator kuat melalui reaksi berikut (Akhadi, 2000):



c. Tahap kimia dan biologi

Berlangsung beberapa detik ditandai terjadinya reaksi antara radikal bebas dan peroksida dengan molekul organik sel serta inti sel yang terdiri atas kromosom dan dapat merusak struktur biokimia molekul enzim sehingga fungsi enzim terganggu. Kromosom dan molekul DNA di dalamnya juga dapat dipengaruhi oleh radikal bebas dan peroksida sehingga terjadi mutasi genetik (Akhadi, 2000).

d. Tahap biologis

Ditandai terjadinya tanggapan biologis yang bereaksi dengan radikal bebas dan peroksida yang terjadi pada tahap ketiga. Proses berlangsung dalam orde beberapa puluh menit hingga beberapa puluh tahun, bergantung pada tingkat kerusakan sel yang terjadi. Dampak kerusakan sel (kematian sel) pembelahan sel terhambat / tertunda serta terjadinya perubahan permanen pada sel anak setelah sel induknya membelah. Kerusakan yang terjadi dapat meluas dari skala seluler ke jaringan, organ dan dapat pula menyebabkan kematian (Akhadi, 2000).

Pada prinsipnya terdapat tiga tahapan interaksi antara radiasi pengion dengan materi (DNA) yang dilaluinya yakni pertama, perjalanan partikel pengion dalam lingkungan DNA. Tahap kedua yaitu simulasi target (sasaran) biologik dan ketiga adalah langkah atau proses menuju pembentukan kerusakan awal biologik, dengan segala ketidak tentuannya. Studi lebih dari 40 tahun juga menunjukkan bahwa sel raksasa (*giant*) terbentuk baik secara *in vivo* maupun secara *in vitro* setelah pajanan radiasi pengion. Di dalam sel tersebut, volume sel dan DNA, RNA serta massa protein bertambah hingga 20-200 kali lipat daripada sel normal. Sebagian besar pengamatan menunjukkan bahwa sel raksasa terbentuk setelah radiasi dosis 1,5 Gy atau lebih, meskipun dapat juga terjadi pada dosis serendah 0,12 Gy (Prieur, 2003).

2.10 Aplikasi Teknik Nuklir Dalam Bidang Vaksin

Young (1981), dalam percobaannya menyatakan bahwa iradiasi dapat mengubah agen penyakit patogen menjadi non patogen yang mampu menstimulasi sistem kekebalan dalam tubuh. Smith (1992), juga menyatakan bahwa teknik nuklir/iradiasi dapat melemahkan agen penyakit tanpa menghilangkan daya imunogeniknya dan mampu meningkatkan daya kekebalan pada hewan yang dicobakan (Smith, 1992). Secara teknis iradiasi merupakan proses sederhana yang mampu mempertahankan sifat struktural mikroorganisme patogen tanpa menghancurkan antigen alamiah atau suatu *adjuvant* intrinsik. Oleh karena itu suatu respon imun yang kuat akan terbentuk pada inang yang diberi vaksin (Biello, 2006).

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

No.	penyakit	Jenis vaksin	Target vaksinasi
1.	<i>Porcine parvovirus</i>	Virus DNA, inaktif	Manusia
2.	Ebola Zaire	Virus RNA, inaktif	Manusia
3.	Marburg Musake	Virus RNA, inaktif	Manusia
4.	VEE 1A/B	Virus RNA, inaktif	Manusia
5.	WEE CBA 87/4	Virus RNA, inaktif	Manusia
6.	Leukimia	Virus DNA, inaktif	Manusia
7.	Influenza	Virus DNA, inaktif	Manusia
8.	TBC	Bakteri, inaktif	Manusia, Hewan
9.	Listeria	Bakteri, inaktif	Manusia
10.	<i>Brucella abortus</i>	Bakteri, inaktif	Hewan
11.	Malaria	Protozoa, aktif	Manusia
12.	Trypanosoma	Protozoa, aktif	Manusia
13.	Koksivet	Protozoa, aktif	Hewan
14.	<i>Neospora caninum</i>	Protozoa, aktif	Hewan
15.	<i>Dictyocaulus</i>	Cacing, inaktif	Hewan
16.	Fasciolosis	Cacing, aktif	Hewan
17.	HHVI	Cacing, aktif	Manusia

Radiasi yang ditimbulkan dari inti tidak stabil dapat dimanfaatkan untuk pembuatan bahan vaksin, terutama dari radiasi pengion, seperti sinar gamma (γ), beta (β), dan alfa (α), dan neutron. Dalam pembuatan bahan vaksin, jenis radiasi

yang biasanya digunakan adalah sinar gamma (γ) yang memiliki sifat daya tembus tinggi dan ionisasi rendah. Besar kecilnya efek radiasi sinar gamma (γ) tergantung dari energi dan jarak sumber radioaktif (Hall, 1994).

Teknologi iradiasi telah banyak dikembangkan untuk pembuatan vaksin dengan memanfaatkan efek radiasi. 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 diinaktivasi dengan iradiasi. Vaksin inaktif non rekombinan adalah pemakaian iradiasi untuk inaktivasi organisme patogen secara langsung (Anonim, 2005).

Radiasi dalam menimbulkan efeknya dapat dikatakan spesifik. Kerusakan asam deoksi ribonukleat (DNA) merupakan kejadian kritis dalam sel yang terkena radiasi dan patahan untai ganda (*double strand breaks*) merupakan lesi DNA utama yang bertanggung jawab terhadap munculnya efek biologi dari radiasi pengion. Radiasi pengion memiliki ciri khusus karena kemampuannya untuk menetrasi sel dan jaringan dan memberikan energinya pada sel dalam bentuk ionisasi. Tidak seperti agen kimia, radiasi bukan *organ-specific* dalam menginduksi suatu efek. Toksisitasnya tidak bergantung pada absorpsi, ekskresi atau lokalisasinya dalam tubuh. Proses ini juga tidak bergantung pada adanya sisi ikat (*binding*) atau reseptor yang spesifik dalam sel, dan juga tidak pada

mekanisme aktivasi atau detoksifikasinya yang umum dijumpai pada agen kimia yang genotoksik. Dengan demikian radiasi pengion juga memiliki karakteristik yang unik sebagai agen genotoksik dalam hal kerusakan DNA yang dihasilkan. Radiasi sinar gamma dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan suatu imunogen yang potensial untuk vaksin dan memicu pembentukan antibodi yang optimal dalam menahan serangan infeksi parasit selanjutnya (Hook, 2003).

Berdasarkan percobaan pada parasit (Hoffman SL et al., 2002) atau bakteri (Rachmilewitz D et al., 2004) dan sel ragi (Demicheli MC et al., 2006) diketahui bahwa vaksin iradiasi lebih efektif karena mampu menstimulasi respon protektif sari sel imun (sel T) melalui protein *toll-like receptor* dan tidak perlu disimpan dalam ruangan dingin. Meskipun vaksin vaksin yang dibuat dengan pemanasan atau kimia lebih aman dan mudah dibuat akan tetapi respon imunnya lebih kecil.

Pajanan radiasi sinar gamma dapat menimbulkan efek pada agen penyakit berupa virus, bakteri, protozoa dan cacing. Dalam pembuatan bahan vaksin, jenis radiasi yang biasanya digunakan adalah sinar gamma yang memiliki daya tembus tinggi dan panjang gelombang pendek (Hall, 1994). Dosis iradiasi yang optimum akan menghancurkan DNA, sehingga membuat mikroorganisme tidak mampu melakukan replikasi dan tidak menimbulkan infeksi. Hilangnya kemampuan infeksi dari parasit memungkinkan untuk memperoleh bahan yang layak untuk pembuatan vaksin. Dengan demikian parasit dapat dinonaktifkan dengan mempertahankan sifat-sifat parasit seperti hemoaglutinasi, antigenisitas dan lain sebagainya. Berdasarkan hasil-hasil penelitian dan percobaan, keberhasilan memperoleh bahan tidak aktif ini bergantung pada faktor eksternal seperti dosis

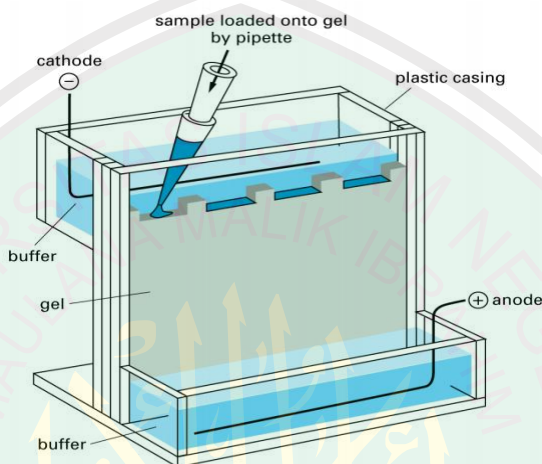
radiasi, laju dosis, jenis radiasi, suhu dan sifat inang dimana parasit berada selama proses, dan juga karakteristik parasit itu sendiri seperti komposisi DNA inti atau pada sifat struktur molekulnya (Syarifudin. dkk, 2008).

2.11 Elektroforesis

Elektroforesis adalah sebuah metode untuk separasi atau pemisahan sebuah molekul besar (seperti protein, fragmen DNA, RNA dan lain sebagainya) dari campuran molekul yang serupa. Elektroforesis digunakan untuk memisahkan komponen atau molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik. Sebuah arus listrik dilewatkan melalui medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Teknik ini dapat digunakan dengan memanfaatkan muatan listrik yang ada pada makromolekul, misalnya DNA yang bermuatan negatif. Jika molekul yang bermuatan negatif dilewatkan melalui suatu medium (misal agarosa), maka molekul tersebut akan bergerak dari muatan negatif menuju muatan positif. Kecepatan gerak molekul tersebut tergantung pada rasio muatan terhadap massa dan bentuk molekulnya (Yuwono, 2008).

Ada dua jenis elektroforesis yaitu elektroforesis kertas dan elektroforesis gel. Elektroforesis gel merupakan elektroforesis yang menggunakan gel sebagai fase diam untuk memisahkan molekul-molekul seperti DNA dan protein menjadi pita-pita yang masing-masing terdiri atas molekul-molekul dengan panjang yang sama. Elektroforesis gel merupakan teknik memisahkan suatu makromolekul dengan cara memberi gaya pada makromolekul tersebut untuk melewati medium berisi gel yang dibantu dengan tenaga listrik. Elektroforesis gel memisahkan berdasarkan laju perpindahannya melewati suatu gel dibawah pengaruh medan

listrik. Media atau gel yang dapat digunakan yaitu agarose gel (elektroforesis DNA) dan poliakrilamid gel (elektroforesis protein). Laju pergerakan molekul dipengaruhi oleh ukuran molekul, konsentrasi gel, bentuk molekul, densitas muatan, pori-pori gel, voltase, dan larutan buffer elektroforesis (Martin, 2006).



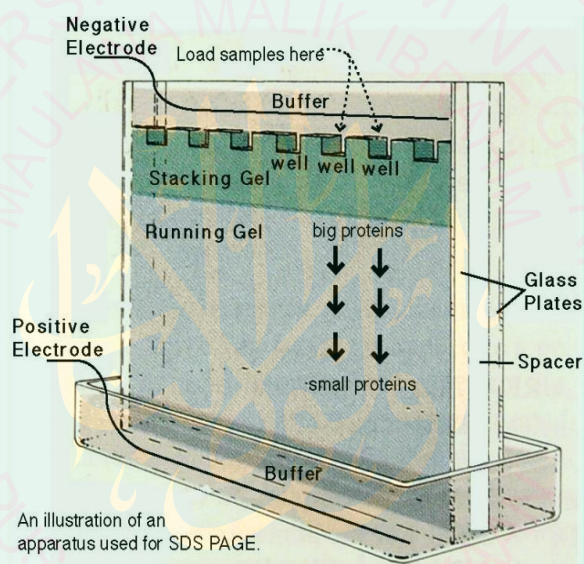
Gambar 2.7 Elektroforesis jenis gel (Sudjadi, 2008)

Metode yang paling umum untuk memisahkan protein adalah dengan cara elektroforesis menggunakan *discontinuous polyacrylamide gel* sebagai medium penyangga dan *sodium dodecyl sulfate* (SDS) untuk mendenaturasi protein. Metode ini disebut *Sodium Dodecyl Sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE).

SDS (Sodium Dodecyl Sulfat) merupakan detergen anionik, yang apabila dilarutkan molekulnya memiliki muatan negatif dalam range pH yang luas. Fungsi utama SDS yaitu untuk memberikan muatan negatif pada protein yang akan dianalisis, mendenaturasi protein, mempermudah menyamakan kondisi, dan menyederhanakan protein (bentuk, ukuran dan muatan). Muatan negatif SDS akan

menghancurkan sebagian struktur kompleks protein dan secara kuat tertarik ke arah anoda bila ditempatkan pada suatu medan listrik (Anam, 2010).

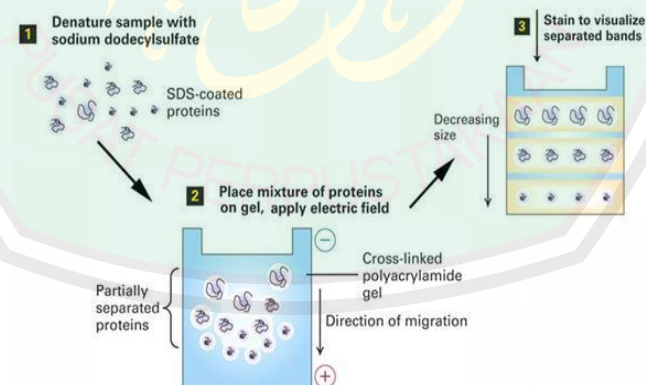
Gel akrilamid berfungsi untuk mencegah difusi akibat timbulnya panas pada arus listrik. Selain itu gel akrilamid sering dimanfaatkan untuk memisahkan molekul protein yang kecil. Konsentrasi akrilamid total dalam gel dapat mempengaruhi migrasi protein. Pada proses pembuatan gel, akrilamid akan berpolimerisasi secara spontan bila tidak ada oksigen (Prihanto, 2011).



Gambar 2.8 Ilustrasi bagian-bagian yang digunakan untuk SDS-PAGE

Molekul protein merupakan molekul dengan tingkat kompleksitas atau kerumitan yang tinggi. Selain berbeda satu sama lain karena perbedaan muatan listriknya, protein mungkin pula berbeda karena berat molekul atau jumlah ukuran molekulnya. Ini berarti, perbedaan tersebut disebabkan oleh jumlah asam amino yang menyusun protein. Berdasarkan perbedaan berat atau ukuran molekul ini, protein dapat dipisahkan satu sama lain, yaitu dengan teknik elektroforesis menggunakan gel poliakrilamid sebagai medium pemisah (Kurniati, 2002).

Teknik elektroforesis memiliki beberapa tahap, antara lain mula-mula protein didenaturasi dengan pemanasan dalam larutan dapar yang mengandung sodium dodesil sulfat (SDS). Denaaturasi dalam SDS panas ini akan memberikan muatan negatif pada seluruh protein dalam larutan, karena terjadi interaksi hidrofobik antara molekul protein dengan molekul SDS. Interaksi ini sebanding dengan ukuran-ukuran molekul protein. Jadi, makin besar ukuran molekul suatu protein, makin banyak muatan listrik, kompleks protein terdenaturasi-SDS di dalam gel poliakrilamid akan berjalan satu arah, yaitu kutub positif (anoda). Jarak yang ditempuh ditentukan oleh ukuran molekul dalam menembus pori-pori gel. Makin kecil molekul tersebut, makin jauh jarak yang ditempuh. Dengan demikian terjadilah pemisahan protein berdasarkan berat molekul. Pada umumnya, teknik pemisahan protein dengan elektroforesis ini digunakan untuk tujuan analisis (Pratiwi, 2001).



Gambar 2.9 Prinsip Kerja SDS PAGE ((1) Denaturasi sampel dengan SDS menyelubungi protein. (2) Penempatan protein sampel pada gel kemudian dialiri listrik. (3) pewarnaan untuk visualisasi pemisahan pita (Stryer, 2002)

2.12 Viabilitas

Viabilitas sel dapat didefinisikan sebagai jumlah sel-sel yang mampu berkembang dalam medium kultur. Pengujian viabilitas sel sering digunakan pada sel yang terisolasi misalnya pada sel primer dan dipelihara dalam kultur untuk menentukan kondisi kultur optimal untuk populasi sel. Viabilitas sel adalah kemungkinan sel untuk dapat hidup setelah terpapar suatu bahan. Viabilitas sel menunjukkan respon sel jangka pendek seperti konfluen sel perubahan permeabilitas membran atau adanya jalur metabolisme tertentu dalam sel. Viabilitas sel merupakan perbandingan jumlah sel yang hidup dan sel yang mati (Wulandari, 2003).

Viabilitas sel sering digunakan sebagai penanda sitoksitas suatu material. Tes sitotoksitas ini berguna untuk mengetahui sifat biologis suatu bahan apakah bersifat toksik terhadap sel tertentu atau tidak. Salah satu yang mengindikasikan sitotoksitas suatu bahan adalah adanya penurunan proliferasi sel dan penurunan viabilitas (Freshney, 2000). Viabilitas sel ditentukan dari kemampuan sel untuk hidup dan menjalankan metabolismenya dimana merupakan faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur sel (Prihastanti, 1999).

Koloni bakteri yang tumbuh dihitung %viabilitasnya dengan persamaan (Tuasikal, 2006):

$$\%viabilitas = \frac{\text{jumlah koloni bakteri hidup setelah radiasi}}{\text{jumlah koloni bakteri hidup tanpa radiasi}} \times 100\% \quad (2.3)$$

Pengetahuan dan pengertian tentang faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan tersebut sangat penting untuk dapat mengendalikan mikroorganisme.

Beberapa faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme meliputi suplai zat gizi, waktu, suhu, air, pH dan tersedianya oksigen.

2.13 *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, 2015).

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 merubah 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 mikrobia sebelum dan sesudah proses iradiasi. Nilai LD_{50} 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 dari populasi awal mikroorganisme (Windusari, 2014).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

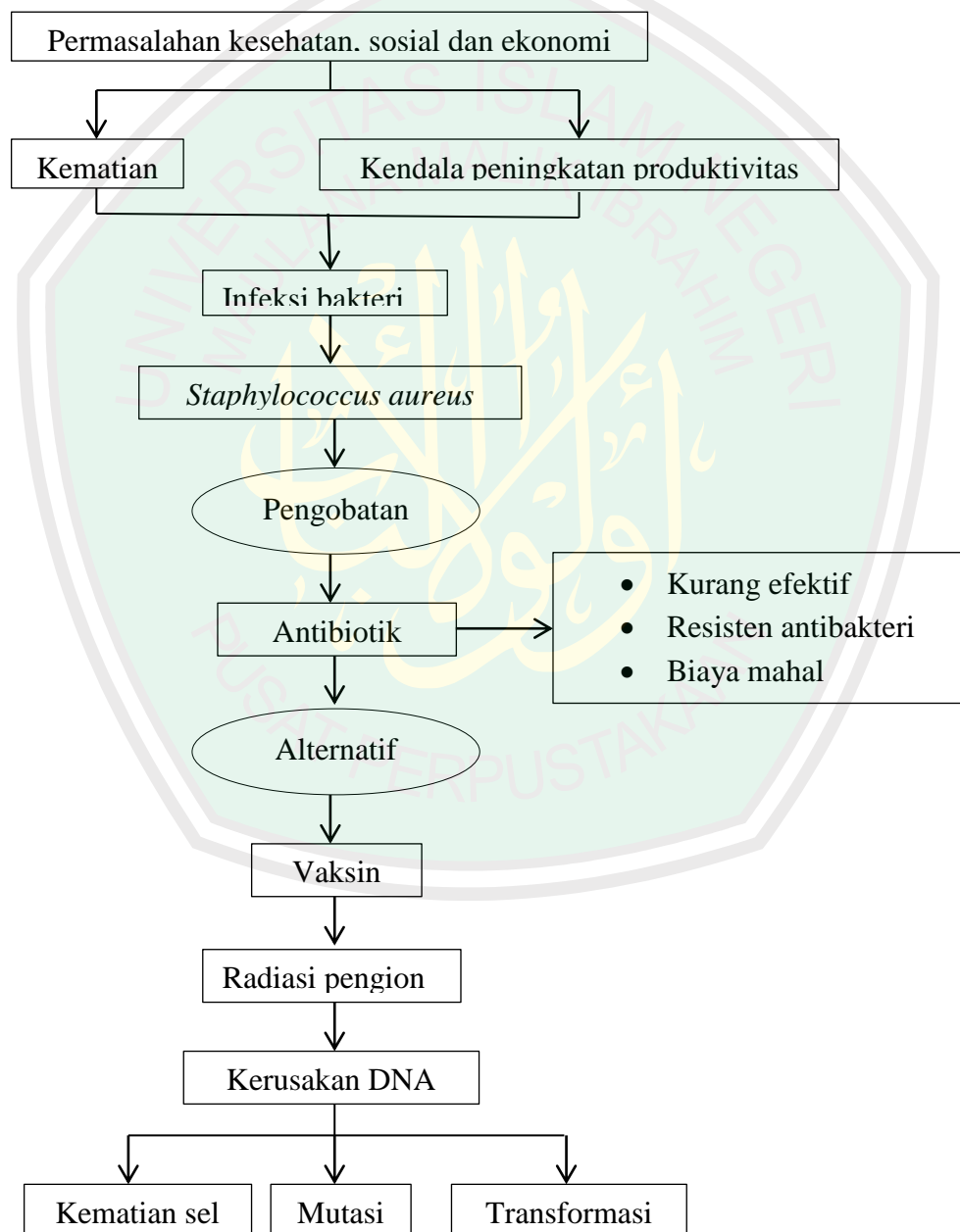
Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Fisika Lanjutan jurusan fisika Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Laboratorium Sentral Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Waktu penelitian dimulai pada bulan Mei-Oktober 2015.

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 viabilitas dan mengetahui kecenderungan profil protein isolat bakteri *Staphylococcus aureus* hasil iradiasi sinar gamma sebagai bahan vaksin. Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang diberi perlakuan iradiasi sinar gamma dengan variasi lama pemaparan antara 15 menit sampai 90 menit dengan interval 15 serta 0 menit sebagai kontrol. Jarak antara sampel dan sumber radiasi adalah sama. Adapun prosedur penelitian antara lain sterilisasi alat dengan cara membungkus alat-alat dengan *aluminium foil* dan diinkubasi, penyiapan media NA dan NB, dan peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada fase mid log pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* diberi perlakuan iradiasi sinar gamma. Selanjutnya kultur hasil iradiasi dilakukan

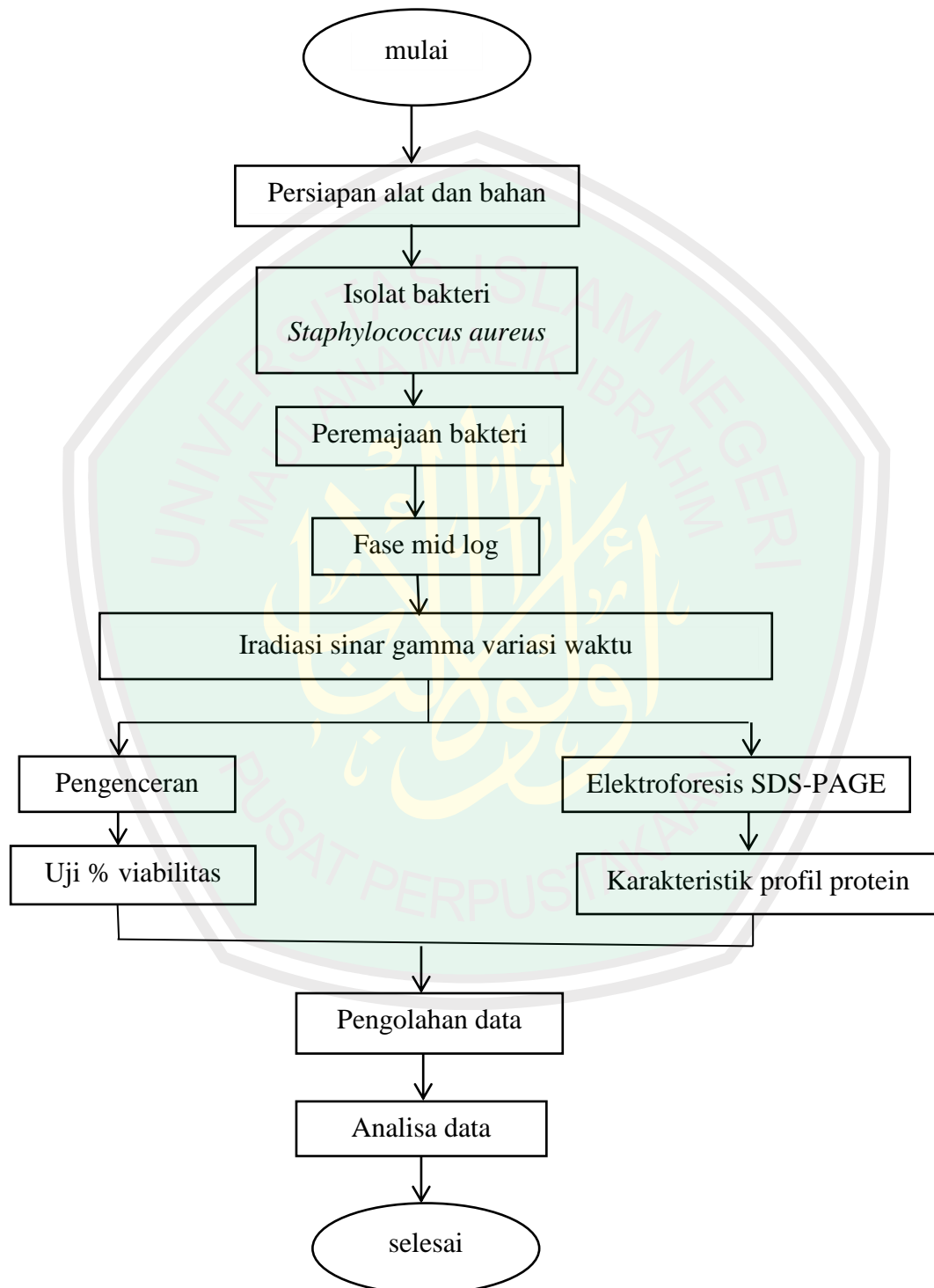
pengenceran untuk menghitung jumlah sel (uji viabilitas). Kultur hasil iradiasi dilakukan pengujian profil protein menggunakan elektroforesis SDS-PAGE. Langkah terakhir dilakukan analisa dari data-data yang diperoleh.

3.3 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

3.4 Kerangka Prosedur



Gambar 3.2 Kerangka prosedur penelitian

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

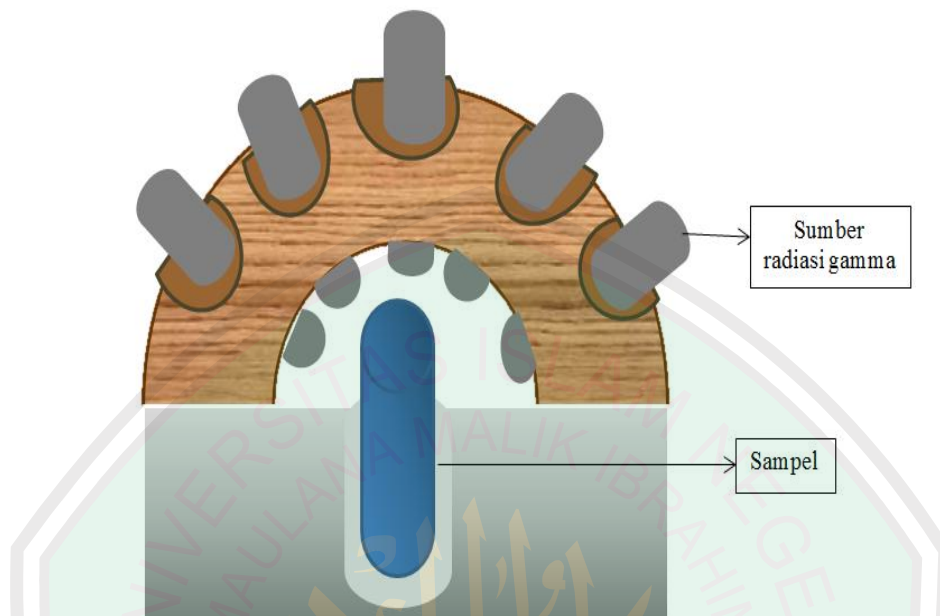
3.5.1 Alat-Alat yang Digunakan

- Jarum ose 1 buah
- Autoklaf 1 buah
- Cawan petri 9 buah
- Tabung reaksi 10 buah
- Inkubator 1 buah
- Inkubator shaker 1 buah
- Tabung eppendorf 1 buah
- Erlenmeyer 500 ml 1 buah
- Erlenmeyer 100 ml 1 buah
- *Mini-Protein Gel Electrophoresis* 1 buah
- Pengaduk kaca (spatula) 1 buah
- *Beaker glass* 500 ml 1 buah
- Sumber *Gamma ray* terdiri dari Cobalt (Co), Amerisium (Am), Natrium (Na), Cesium (Cs) dan Stronsium (Sr)
- Botol semprot 1 buah
- Gelas ukur 50 ml 1 buah
- Pipet tetes 1 buah
- *Magnetic stirrer* 1 buah
- Timbangan analitik
- Bunsen 1 buah
- Vortek 1 buah
- Korek api 1 buah
- *Aluminium foil*
- Termometer 1 buah
- Mikropipet 10 buah
- *Coloni counter*
- *Blue tip* 15 buah
- Sentrifuge 1 buah
- *Hot plate* 1 buah

3.5.2 Bahan-Bahan yang Digunakan

- Isolat bakteri *Staphylococcus aureus*
- *Tetramethylethylenediamine* (TEMED)
- *Running buffer* (*Tri-Glisin*)
- 10% *Ammonium persulfate*
- *Coomassie brilliant blue staining*
- *Destain solution coomassie R-250*
- 30% *Acrylamide solution*
- *Separating gel buffer* (1,5 M Tris-HCL, pH 8,8
- *Sampel buffer*
- Medium NA
- Medium NB
- Larutan NaCl
- Aquades
- Alkohol 95%
- Aquabides
- *Stacking gel buffer* (0,5 M Tris-HCL, pH 6,8)

3.6 Desain Rangkaian



Gambar 3.3 Desain rangkaian sumber *gamma ray* sebagai perlakuan iradiasi pada bakteri *Staphylococcus aureus*

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 erlemeyer 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 40-45°C.
- d. Dituang ke tabung reaksi sebanyak 5 ml untuk membuat agar miring dan sisanya tetap didalam 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 Ditimbang 2.5 gr media NB lalu dimasukkan ke dalam erlemeyer 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. Disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit, pada suhu 121°C dan tekanan 1-2 atm.

3.7.2 Pengujian Viabilitas Bakteri *Staphylococcus aureus* Hasil Iradiasi

Sinar Gamma

Langkah-langkah yang harus dilakukan, antara lain (Tuasikal. dkk, 2012):

- a. Kultur bakteri dipermuda dengan cara mengambil satu ose isolat *Staphylococcus aureus* ke dalam medium NA miring.

- b. Disimpan di inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.
- c. Kultur yang tumbuh diambil dua ose untuk diinokulasikan ke dalam erlenmeyer berisi NB 20 ml dan diinkubasi pada inkubator shaker dengan suhu 39°C pada agitasi 120 rpm selama 24 jam.
- d. Sebanyak 20 ml kultur pada fase mid log (pada penelitian terdahulu fase mid log diperoleh pada menit ke 180) pada suhu 4°C 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.
- e. Pelet dilarutkan dengan NaCl 0,9% hingga diperoleh jumlah sel 10^8 sel/ml.
- f. Larutan *Staphylococcus aureus* tersebut dibagi ke dalam 6 tabung reaksi masing-masing 5 ml. Kemudian diiradiasi dengan sinar gamma dengan variasi lama waktu pemaparan yaitu antara 0 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit.
- g. Perlakuan untuk pemaparan radiasi diulangi 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.
- h. Setelah diiradiasi, masing-masing larutan bakteri diencerkan berseri dari 10^{-1} sampai 10^{-7} .
- i. Bakteri ditanam pada medium NA plate dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

- j. Dilakukan penghitungan koloni bakteri untuk penentuan *Lethal Dose 50%* (LD_{50}) yang dipetakan pada kurva persentasi viabilitas bakteri yang bertahan hidup pasca iradiasi. Koloni bakteri yang tumbuh dihitung %viabilitasnya dengan persamaan 2.3.

3.7.3 Pengenceran (Dilusi) Bakteri *Staphylococcus aureus* Hasil Iradiasi

Sinar Gamma

- a. Persiapan Alat dan Sterilisasi
1. Disiapkan cawan petri.
 2. Dimasukkan ke dalam autoklaf.
- b. Dilusi (Pengenceran)
1. Suspensi dalam tabung reaksi dihomogenkan dengan vortex mixer.
 2. Diambil 1 ml suspensi dari tabung reaksi yang sudah di iradiasi maupun sebagai kontrol dan dimasukkan 0,1 suspensi ke dalam tabung reaksi steril yang berisi 9 ml aquades dan dan diberi tanda 10^{-1} .
 3. Diambil kembali 1 ml dari suspensi 10^{-1} yang sudah dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi 9 ml aquades sebagai pengenceran 10^{-2} dan diberi tanda 10^{-2} .
 4. Diambil kembali 1 ml dari suspensi 10^{-2} yang sudah dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi 9 ml aquades sebagai pengenceran 10^{-3} dan diberi tanda 10^{-3} .
 5. Pengenceran ini dilakukan sampai pengenceran 10^{-7} .
 6. Suspensi pada pengenceran 10^{-7} dituangkan 25 μ l ke dalam cawan petri steril yang sudah terisi NA cair sebagai media untuk hidup.

7. Semua proses di atas dilakukan secara aseptis, yaitu di dekat api bunsen.
8. Setelah media membeku, dimasukkan dalam inkubator dengan posisi terbalik (bagian tutup berada di bawah).
9. Diinkubasi 24 jam dengan suhu ruang.
10. Dihitung koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan diberi tanda untuk menghindari penghitungan ulang.

3.7.4 Karakteristik Profil Protein Bakteri *Staphylococcus aureus* Hasil Iradiasi Sinar Gamma

Pada penelitian ini menggunakan metode elektroforesis 1 dimensi SDS-PAGE dengan sistem *buffer* Laemmli. Konsentrasi gel poliakrilamida yang digunakan adalah 12%. Langkah-langkah yang harus dilakukan, antara lain :

a. Preparasi sampel

Kultur hasil iradiasi sinar gamma dengan variasi lama pemaparan yaitu 0 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit disentrifugasi. Sebanyak 7 sampel disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan dibuang dan diambil peletnya. Pelet diencerkan dengan menambah *sample buffer* sebanyak 1 ml kemudian divorteks. Selanjutnya sampel disonikasi dengan amplitudo 40% selama 5 menit pada suhu rendah. Sampel disentrifugasi dua kali dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit dan 15.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit. Supernatan diambil dan ditambahkan PMSF dan divorteks hingga homogen. Disiapkan RSB dan sampel dengan perbandingan 1:1 masing-masing 20 µl. Sampel dididihkan selama ± 10 menit.

b. Persiapan komponen larutan pada elektroforesis SDS-PAGE

1. Acrylamide/Bis (30%)

Disiapkan 2,92 gr acrylamide dan 0,08 gr N'N'-bis-methylene-acrylamide. Kemudian dilarutkan dalam 7 ml DDH₂O dan diaduk perlahan hingga homogen.

2. 1,5 M Tris-HCl, pH 8,8

Disiapkan 1,82 gr Tris base dan dilarutkan dalam 10 ml DDH₂O. Kemudian diaduk hingga homogen. Sesuaikan pada pH 8,8 dan disimpan pada suhu 4°C. Komposisi ini digunakan untuk *separating gel buffer*.

3. 0,5 M Tris-HCl pH 6,8

Disiapkan 0,75 gr Tris base dan dilarutkan dalam 10 ml DDH₂O. Kemudian diaduk hingga homogen. Sesuaikan pada pH 6,8. Disimpan pada suhu 4°C. Komposisi ini digunakan untuk *stacking gel buffer*.

4. 10 % SDS

Larutkan 10 gram SDS dalam 90 ml air dengan diaduk perlahan dan dimasukkan 100 ml DDH₂O.

5. APS 10%

Disiapkan 0,1 gr ammonium persulfate dan dilarutkan dalam 1 ml DDH₂O. Kemudian diaduk hingga homogen.

6. *Running buffer* pH 8,3

Disiapkan 30,3 Tris-base, 144 gr glycine, 10 gram SDS dan dilarutkan dalam 1 liter DDH₂O. Kemudian diaduk hingga homogen.

7. *Sample buffer*

Disiapkan 3,55 ml aquabides dan ditambahkan 1,25 ml 0,5 M Tris-HCl, pH 6,8. Kemudian ditambahkan 2,5 ml glycerol, 2 ml 10% SDS, 0,2 ml 0,5% Bromophenol blue dan diaduk hingga homogen.

c. Persiapan pembuatan gel

1. *Separating gel* (12%)

DDH₂O sebanyak 3,4 ml ditambahkan acrylamide/bis sebanyak 4 ml.

Kemudian ditambahkan 2,5 gel *buffer* dan 0,1 10% SDS. Ketika sudah siap untuk dimasukkan kedalam cetakan segera dicampurkan 100 µl 10% APS dan 10 µl TEMED. Ditunggu 7 menit hingga menjadi gel.

2. *Stacking gel* (4%)

DDH₂O sebanyak 6,1 ml ditambahkan Acrylamide/Bis sebanyak 1,3 ml.

Kemudian ditambahkan 2,5 gel *buffer* dan 0,1 10% SDS. Ketika sudah siap untuk dimasukkan kedalam cetakan segera dicampurkan 50 µl 10% APS dan 5 µl TEMED. Ditunggu 7 menit hingga menjadi gel.

c. Pembuatan kolom gel

Setelah *separating gel* dibuat kemudian dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam alat elektroforesis dengan mikropipet, lalu ditambahkan aquades untuk meratakan *separating gel* tersebut. Setelah *separating gel* membeku dimasukkan *stacking gel* sedikit demi sedikit, lalu pasang sisir pembentuk kolom biarkan hingga *stacking gel* membeku lalu diangkat sisirnya. Kemudian dipasang hasil gel tersebut pada perangkat elektroforesis.

d. *Loading sampel*

Larutan *buffer* dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis. Kemudian sampel sebanyak 30 μ l dimasukkan ke dalam kolom gel dengan hati-hati lalu dielektroforesis selama \pm 75 menit pada 200 Volt.

e. Pewarnaan gel

Gel diangkat lalu diwarnai dengan *coomassie brilliant blue staining gel* warna biru *Coomassie R-250*, selama \pm 24 jam.

f. Pencucian gel

Gel dicuci dengan larutan *destain solution coomassie R-250*, selama \pm 24 jam. Selanjutnya hasil pencucian discan.

3.8 Teknik Pengolahan Data

Data yang telah diperoleh ada 2 kategori. Data pertama yaitu berupa hasil penghitungan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* setelah diberi paparan iradiasi sinar gamma dengan variasi lama pemaparan 0 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit. Selanjutnya di hitung % viabilitas menggunakan persamaan 2.3. Kemudian dicatat pada tabel 3.1 dan dibuat kurva dengan axis (dosis radiasi) dan ordinat (bertahan hidup/%viabilitas). Data ketiga adalah hasil karakterisasi profil protein isolat bakteri *Staphylococcus aureus* hasil iradiasi sinar gamma menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE.

Tabel 3.1 Pengamatan jumlah sel bakteri *S. aureus* hasil iradiasi sinar gamma

Lama pemaparan (menit)	Jumlah bakteri			Persentase (%)
	Sampel			Viabilitas
	I	II	III	
0				
15				
30				
45				
60				
75				
90				

3.9 Teknik Analisa Data

Untuk menganalisa data viabilitas bakteri setelah perlakuan iradiasi sinar gamma dengan variasi lama pemaparan 0 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit dapat diperoleh dari perbandingan antara jumlah koloni bakteri hidup setelah iradiasi dengan jumlah koloni bakteri sebelum iradiasi. Selanjutnya masing-masing sampel dianalisa profil protein yang dihasilkan dari elektroforesis SDS-PAGE yaitu dari gel hasil pencucian kemudian discan. Selanjutnya dihitung densitas masing-masing pita protein yang terbentuk menggunakan Ms. Excel untuk mengetahui bobot molekul pita protein yang dihasilkan. Untuk analisis data statistik digunakan uji normalitas untuk mengetahui bahwa data terdistribusi normal dan analisis varian (Anova) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sumber sinar gamma yang digunakan adalah Co-60, Na-222, Cs-137, dan Am-241. Iradiasi sinar gamma yang diberikan menggunakan variasi lama pemaparan yaitu antara 0 menit (kontrol), 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit. Dosis iradiasi akan meningkat seiring dengan meningkatnya lama pemaparan yang diberikan. Pada penelitian Unggul J. Siswono dkk pada dosis 0-1 Gy merupakan area dimana sel lebih sensitif terhadap radiasi sehingga lebih banyak sel yang tidak bertahan hidup pada dosis kecil. Dosis yang dipakai pada penelitian ini adalah 0,004-0,02 Gy dengan variasi lamanya penyinaran yaitu 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 menit.

Peneliti ingin mengetahui tentang adanya hormesis radiasi yaitu radiasi dengan dosis rendah bisa menyebabkan efek kekebalan. Menurut Akhadi (2000), pada hasil penelitian 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. Hal ini bisa dilihat dari pembahasan berikutnya mengenai hubungan iradiasi terhadap profil protein isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, dimana protein berperan terhadap bahan pembuatan vaksin.

4.1 Analisa Prosedur

4.1.1 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*

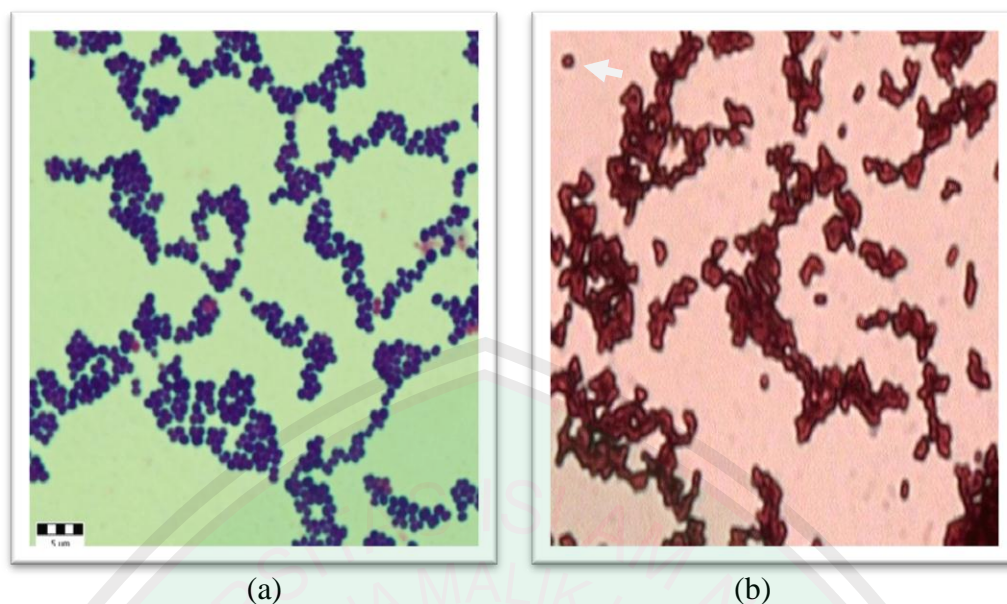
Staphylococcus merupakan coccus gram positif dalam keluarga *Staphylococcusaceae*. Organisme ini merupakan katalase-positif. *S. aureus* dibedakan dari spesies *Staphylococcus* lainnya dengan melihat dari produksi koagulasenya. *S. aureus* memiliki morfologi, struktur dan sifat-sifat yang khas. Salah satu cara untuk mengidentifikasi *S. aureus* ialah dengan metode pewarnaan sel bakteri, sehingga sel dapat terlihat secara jelas dan mudah untuk diamati. Hal tersebut juga untuk mengetahui reaksi dinding sel bakteri melalui serangkaian pewarnaan (Lestari, 2013).

Pewarnaan dilakukan karena mikroba sulit dilihat dengan cahaya karena tidak mengabsorpsi dan membiaskan cahaya. Alasan inilah yang menyebabkan zat warna digunakan untuk mewarnai mikroorganisme. Zat warna dapat mengabsorpsi dan membiaskan cahaya sehingga kontras mikroba dengan sekelilingnya dapat ditingkatkan. Penggunaan zat warna memungkinkan pengamatan struktur mikroba (Lestari, 2013).

Salah satu teknik yang digunakan adalah pewarnaan gram. Teknik ini merupakan pewarnaan yang digunakan untuk mengelompokkan bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif akan mempertahankan zat warna kristal violet dan akan tampak berwarna ungu tua di bawah mikroskop. Adapun bakteri gram negatif akan kehilangan zat warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi zat pewarna air fucshin atau safranin akan tampak berwarna merah. Perbedaan zat warna ini disebabkan oleh perbedaan dalam struktur kimiawi dinding selnya (Lay, 1994).

Langkah-langkah yang dilakukan dalam pewarnaan antara lain pertama membersihkan *object glass* dengan alkohol 70% dengan menggunakan *tissue*. Setelah dibersihkan kemudian dilakukan fiksasi *object glass* dengan tujuan untuk menghilangkan lemak yang akan mengganggu terhadap pengamatan. Selanjutnya pijarkan jarum ose, ambil suspensi *Staphylococcus aureus* dan ditetaskan ke *object glass* kira-kira 1 cm² dan difiksasi. Kemudian diberi kristal violet kurang lebih satu tetes dan digoyangkan hingga rata. Biarkan hingga mengering kurang lebih 1 menit. Kristal violet pada pengujian ini merupakan zat warna utama. Jika sudah mengering, bilas dengan dialiri aquades steril. Kemudian diberi satu tetes larutan Iodine dan didiamkan hingga mengering kurang lebih 1 menit. Larutan Iodine merupakan mordant yaitu suatu zat yang dapat menaikkan pengikatan antara sel dengan zat warna. Setelah mengering kemudian dibilas dengan mengalirkan alkohol. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan warna kristal violet (decolourize).

Cairan terakhir yang ditetaskan adalah safranin 0.5%, merupakan cairan penutup atau zat warna kedua. Safranin berwarna merah dan berfungsi untuk mewarnai kembali sel-sel yang telah kehilangan zat warna utama. Diamkan kurang lebih 1 menit dan bilas menggunakan air yang mengalir, tunggu hingga kering sempurna. Sel-sel yang tidak segera melepaskan zat warna setelah pencucian akan tetap berwarna seperti zat warna utama, sedangkan sel-sel yang segera melepaskan zat warna utama setelah pencucian akan mengikat zat warna kedua. Selanjutnya diamati menggunakan mikroskop inferted. Gambar 4.1 merupakan perbandingan hasil pewarnaan gram bakteri *S. aureus* dari literatur dan pengujian yang dilakukan oleh peneliti.



Gambar 4.1 Hasil pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* (a) literatur dan (b) hasil pengujian

Hasil pengujian pewarnaan gram bakteri *S. aureus* bisa dilihat pada gambar 4.1. Gambar 4.1(a) merupakan hasil pengujian dari literatur. Gambar 4.1(b) merupakan hasil pengujian yang dilakukan peneliti. Dari kedua gambar diatas tampak ada persamaan dari bentuk keduanya. Menurut Anishida (2011), *S. aureus* adalah bakteri gram positif umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok atau bisa dikatakan mirip buah anggur. Dari hasil pengujian yang dilakukan menunjukkan bahwa sebagian besar bakteri bergerombol membentuk kelompok-kelompok. *S. aureus* merupakan bakteri berbentuk coccus yang berarti bulat. Dari hasil pengujian tampak jika bakteri berbentuk bulat (lihat panah).

Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal. Hal ini bisa diamati dari gambar dimana daerah tepi sel bakteri tampak memiliki warna yang lebih tebal. Menurut Fitria (2009), Bakteri gram positif memiliki selapis dinding sel berupa peptidoglikan yang tebal. Setelah pewarnaan dengan kristal violet, pori-

pori dinding sel menyempit akibat dekolorisasi oleh alkohol sehingga dinding sel tetap menahan warna biru.

Pada pengujian hasil warna yang muncul tidak sesuai dengan literatur. Pada pengujian yang dilakukan didapatkan hasil bahwa bakteri berwarna merah dimana warna merah menurut literatur merupakan ciri dari bakteri gram negatif. Hal ini kemungkinan disebabkan karena prosedur pewarnaan yang terlalu lama dalam memberikan zat-zat warna atau pancucian dengan alkohol, sehingga menyebabkan gram positif dapat menjadi gram negatif. Menurut Fitria (2008), sel bakteri gram positif mungkin akan tampak merah jika waktu dekolorisasi terlalu lama. Sedangkan bakteri gram negatif akan tampak ungu bila waktu dekolorisasi terlalu pendek. Selain itu Bakteri-bakteri gram positif sering kali tidak dapat menyerap dan mengikat zat warna kristal violet, terutama apabila dibuat preparat dari bakteri-bakteri biakan murni yang telah tua. Akibatnya bakteri akan tampak berwarna safranin yaitu merah atau merah muda.

4.1.2 Prosedur Pengujian Viabilitas Bakteri *Staphylococcus aureus* Hasil Iradiasi Sinar Gamma

Pada penelitian ini sebelum tahap pengujian terdapat beberapa langkah-langkah yang harus dipersiapkan. Tahap awal adalah mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Semua alat dan media pertumbuhan bakteri yaitu media NB (*Nutrient Broth*) dan NA (*Nutrient Agar*) harus disterilisasi terlebih dahulu didalam autoklaf menggunakan suhu 121°C. Sterilisasi merupakan proses penghilangan semua jenis organisme hidup yang terdapat dalam suatu benda. Autoklaf adalah alat pemanasan tertutup yang digunakan untuk mensterilisasikan suatu benda menggunakan uap bersuhu dan bertekanan tinggi. Menurut Sumarsih

(2010), sterilisasi menggunakan autoklaf merupakan cara yang paling baik karena uap air panas dengan tekanan tinggi menyebabkan penetrasi uap air ke dalam sel mikroba menjadi optimal sehingga secara langsung dapat mematikan mikroba.

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* diremajakan dengan cara mengambil 1 ose isolat bakteri ke dalam NA miring. Selanjutnya bakteri diinkubasi pada inkubator memakai suhu 37°C selama 24 jam. Peremajaan bakteri bertujuan agar mendapatkan bakteri yang aktif. Hal ini dikarenakan sebelumnya bakteri tersebut disimpan pada keadaan inaktif dalam media NA di lemari pendingin. Setelah 24 jam, hasil peremajaan bakteri pada media NA dipindah ke media NB dengan cara diambil 1 ose isolat bakteri dan dimasukkan ke dalam 50 ml media NB. Isolat bakteri pada media NB di inkubasi pada inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam. Menurut Anishida (2011) suhu 37°C merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan *S. aureus*. Suhu optimum adalah suhu dimana pertumbuhan berlangsung paling cepat dan optimum. Semua proses pemindahan bakteri dilakukan secara aseptik yaitu dalam keadaan steril didalam LAF (*Laminar Air Flow*) dan menyalakan api bunsen.

Isolat bakteri yang tumbuh pada media NB di tuang sebanyak 10 ml ke dalam tabung eppendorf dan disentrifugasi. Sebelum dituang sampel divorteks terlebih dahulu agar homogen. Hal ini dikarenakan bakteri yang tumbuh pada media NB lebih banyak didasar media. Kemudian sampel disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Menurut Kimball (2005), alat sentrifugasi bekerja dengan prinsip pemberian gaya sentrifugal yaitu dengan memutar bahan dengan kecepatan tertentu dan selang waktu tertentu, sehingga terjadi pemisahan berdasarkan bobot dan untuk mempercepat endapan. Ketika

disentrifugasi, sampel akan terbagi menjadi 2 bagian yaitu supernatan dan pelet. Supernatan merupakan bagian atas atau yang berbentuk cairan, sedangkan pelet merupakan bagian bawah atau yang berbentuk endapan.

Sentrifugasi yaitu metode yang digunakan untuk mempercepat proses pengendapan dengan memberikan gaya sentrifugasi pada partikel-partikelnya. Gaya yang berperan dalam metode ini adalah gaya sentrifugal yang menyatakan bahwa setiap partikel yang berputar pada kecepatan sudut yang konstan memperoleh gaya keluar sebesar F . Pemisahan sentrifugal menggunakan prinsip dimana objek diputar secara horizontal pada jarak tertentu. Apabila objek berotasi di dalam tabung atau silinder yang berisi campuran cairan dan partikel, maka campuran tersebut dapat bergerak menuju pusat rotasi. Namun hal tersebut tidak terjadi karena adanya gaya yang berlawanan yang menuju ke arah dinding luar silinder atau tabung. Gaya tersebut adalah gaya sentrifugasi. Gaya inilah yang menyebabkan partikel-partikel menuju dinding tabung dan terakumulasi membentuk endapan (Zulfikar, 2008).

Sampel yang disentrifugasi diambil peletnya dan supernatan dibuang. Pelet dicuci dengan NaCl 0,9% sebanyak 2 kali. Pencucian dengan NaCl bertujuan untuk mendapatkan pelet yang murni. Pelet murni yang telah didapatkan diencerkan dengan NaCl 0,9% dan disamakan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland 3×10^8 sel/ml. Menurut Safitri (2014), Mc Farland adalah penyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl_2 1 % dan H_2SO_4 1 %. Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba. Mc Farland biasa digunakan

untuk menghitung bakteri dengan metode spektrofotometri. Keuntungan dari penggunaan standar Mc Farland adalah tidak dibutuhkannya waktu inkubasi yang cukup untuk memperoleh jumlah kepadatan bakteri yang diinginkan.

Pengenceran sebanyak 7 kali dengan aquades steril setelah pemberian perlakuan maupun kontrol. Pada pengenceran ketujuh sampel ditanam pada media NA. Teknik penanaman bakteri adalah menggunakan metode *pour plate*. *Pour plate* adalah suatu teknik dalam menumbuhkan mikroorganisme dalam media agar dengan cara mencampurkan media agar cair dengan stok kultur. Bakteri yang ditanam pada media NA diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Selama 24 jam bakteri akan memperbanyak diri atau mengalami pembelahan. Setelah 24 jam bakteri bisa dihitung. Teknik yang digunakan untuk perhitungan bakteri adalah dengan TPC (*Total Plate Count*). Peneliti menggunakan metode ini karena metode ini merupakan metode yang paling mudah tanpa harus memiliki keahlian khusus pada bidangnya. Koloni bakteri yang tumbuh dihitung secara manual dan ditandai dengan spidol untuk memudahkan perhitungan. Jumlah koloni yang tumbuh dicatat pada tabel dan digunakan sebagai data untuk pengujian viabilitas.

Pemberian perlakuan pada sampel dilakukan pada langkah sebelum pengenceran. Sampel yang sudah dilarutkan dengan NaCl 0,9% dan disamakan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland 3×10^8 sel/ml, diambil sebanyak 5 ml per sampel dan dimasukkan ke dalam botol flakon. Variabel yang digunakan adalah 3 variasi lama pemaparan dan kontrol dimana masing-masing sampel diulang sebanyak 3 kali. Jadi sampel yang dibutuhkan sebanyak 12 sampel. Kemudian sampel siap untuk diberi perlakuan. Kemudian dilakukan pengenceran pada

sampel dimana langkah-langkahnya sudah dijelaskan pada pembahasan sebelumnya.

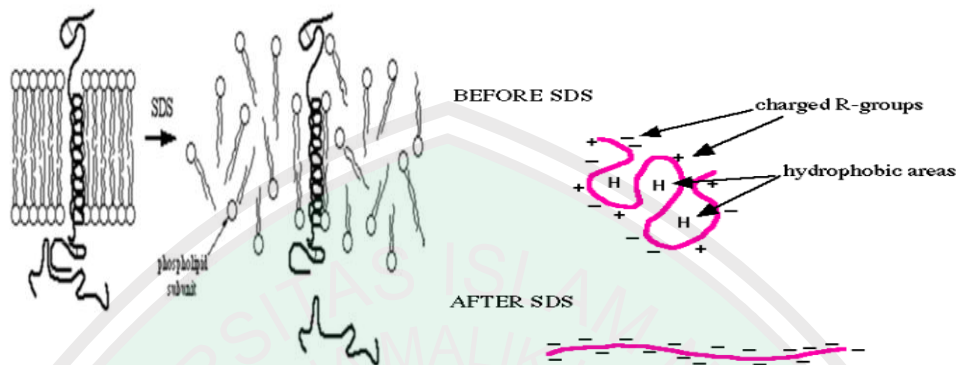
4.1.3 Prosedur Pengujian Karakterisasi Profil Protein Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Elektroforesis SDS-PAGE

Metode yang paling umum untuk memisahkan protein adalah dengan cara elektroforesis menggunakan *discontinuous polyacrylamide* gel sebagai penyangga dan *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) untuk mendenaturasi protein. Metode ini disebut *Dodecyl Sulfate Polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE).

Terdapat 2 jenis gel yang digunakan yaitu gel penumpuk (*stacking gel*) yang berada diatas dan memiliki pori-pori besar. Gel yang kedua adalah gel pemisah (*separating gel*) yang berada dibawah dan memiliki pori-pori kecil. Sampel dimasukkan dari atas yaitu pada gel penumpuk (*stacking gel*). Molekul sampel yang melewati gel penumpuk dengan cepat akan bertumpuk dalam suatu zona yang sangat sempit. Sampel yang tertumpuk itu akan bergerak sepanjang gel penumpuk yang berpori besar dan kemudian masuk ke gel pemisah berpori kecil sebagai suatu pita tipis. Molekul sampel terpisah berdasarkan muatan dan ukuran.

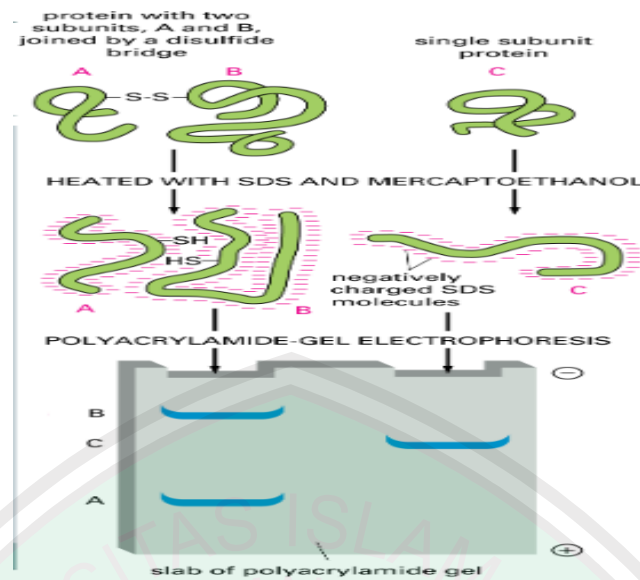
SDS adalah deterjen anionik yang apabila dilarutkan molekulnya memiliki muatan negatif dalam range pH yang luas. Ketika protein di treatment dengan SDS, maka protein akan bermuatan negatif. Muatan negatif SDS akan menghancurkan sebagian besar struktur kompleks protein. Suatu rantai polipeptida dapat berikatan dengan sejumlah tertentu SDS sesuai ukuran molekul. Agar seluruh rantai terpapar pada deterjen maka dilakukan pemanasan pada suhu 100°C selama 2-5 menit. Dengan cara ini sebagian besar polipeptida akan diselubungi oleh SDS dengan rasio tertentu (1,4 gr per gram protein). Migrasi

polipeptida dalam gel poliakrilamid adalah berdasarkan berat molekulnya. Kecepatan migrasi protein selama elektroforesis akan berbanding terbalik dengan berat molekulnya.



Gambar 4.2 Struktur protein ketika ditambahkan dengan SDS

Dalam rangkaian elektroforesis vertikal terdapat dua kutub positif dan negatif. Kutub positif berada pada daerah atas dan kutub negatif berada pada daerah bawah. Diantara rangkaian terdapat suatu larutan penyangga (running buffer) yang digunakan untuk menghantarkan arus listrik. Ketika listrik dialirkan maka molekul protein yang diselubungi muatan negatif akan bergerak menuju muatan positif (menuju ke bawah). Makin besar diameter molekulnya, semakin lambat gerakannya. Dengan demikian elektroforesi SDS akan memisahkan molekul berdasarkan berat molekulnya.



Gambar 4.3 Proses separasi protein ketika *running* elektroforesis SDS-PAGE

Pada pengujian ini terdapat beberapa langkah yang harus dilakukan, antara lain:

a. Isolasi protein bakteri *S.aureus*

Pada tahap ini merupakan tahap mengisolasi protein bakteri *Staphylococcus aureus*. Langkah-langkah yang harus dilakukan antara lain mempersiapkan kultur bakteri yang sudah diberi perlakuan. Kultur bakteri ditumbuhkan pada media NB dan diinkubasi pada inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur bakteri diberi perlakuan iradiasi sinar gamma dengan variasi lama pemaparan 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit. Kultur hasil iradiasi disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan dibuang dan diambil peletnya. Pelet yang diperoleh diberi *sample buffer* 1 ml yang didalamnya mengandung SDS dimana SDS akan memberikan muatan negatif pada sampel yang dianalisis serta β -mercaptoetanol yang dapat mereduksi ikatan disulfida pada protein. Selanjutnya disimpan pada suhu rendah.

Protein terdapat didalam sel bakteri sehingga diperlukan suatu tindakan supaya protein bisa terisolasi. Salah satu metodenya yaitu dilakukan sonikasi dengan tujuan untuk memecahkan dinding sel bakteri. Sonikasi dilakukan dengan amplitudo 40% pada suhu rendah selama 5 menit. Prinsip sonikasi adalah memecahkan dinding sel bakteri dengan frekuensi ultrasonik yaitu lebih dari 20 KHz. Bakteri adalah organisme yang terdiri dari satu sel yang dibentuk oleh bahan inti, sitoplasma dan dinding luar yang terdiri dari lapisan lendir. Dinding sel memberi perlindungan berfungsi untuk mengatur masuknya bahan kimia dan memegang peranan penting dalam pembelahan sel. Ketika bakteri berada pada medan ultrasonik, bakteri akan menderita stress mekanik yang besar dan dindingnya akan mengalami peregangan yang besar. Ketika dinding sel bakteri meregang dengan melampaui batas elastisitasnya maka dinding tersebut akan pecah. Efek ini yang dinamakan kavitasi.

Sampel yang sudah disonikasi kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit. Sentrifugasi yang digunakan adalah dengan kecepatan tinggi karena sampel yang berbentuk lebih pekat. Dari hasil sentrifugasi ini diambil supernatannya. Supernatan disentrifugasi kemabali dengan kecepatan 15.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit. Hal ini dikarenakan sampel masih mengandung pelet yang nanti akan berpengaruh pada terbentuknya pita protein pada saat dielektroforesis. Pada pengujian profil protein yang dideteksi adalah protein keseluruhan dari bakteri (*whole cell*), sehingga sampel yang diambil adalah supernatan. Kemudian supernatan diberi larutan PMSF 50 mikroliter. PMSF berperan sebagai inhibitor protease. Tujuan pemberian PMSF adalah supaya protein tidak terdegradasi. Selanjutnya dilakukan *nano drop test*

yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi sel bakteri yang dihasilkan. Pengujian dilakukan pada panjang gelombang 280 nm. Hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri rata-rata sesuai (tidak negatif) sehingga memungkinkan untuk mendeteksi profil proteinnya.

Sampel yang telah siap ditambahkan RSB 20 μ l. Perbandingan antara RSB dengan sampel adalah 1:1. RSB berfungsi sebagai pemberat sehingga protein bisa turun ketika dielektroforesis. Kemudian sampel dipanaskan diatas kompor listrik sehingga sampel dapat terdenaturasi sempurna pada suhu 90°C selama 10 menit. Sampel diangkat dan selanjutnya dilakukan analisis. Sampel yang telah siap dimasukkan ke dalam sumur.

b. pembuatan gel

Gel yang akan dibuat terdiri dari 2 jenis dimana komposisinya sama namun berbeda konsentrasi dan pH. Gel atas disebut dengan *stacking gel* dan gel bawah disebut *separating gel*. Sebelumnya disiapkan beberapa komponen larutan untuk pembuatan gel yang terdiri dari Acrylamide/Bis (30%), 1,5 M Tris-Hcl, pH 8,8 untuk gel bawah (*separating gel*), 0,5 M Tris-HCl pH 6,8 untuk gel atas (*stacking gel*), 10% SDS, dan APS 10%.

Penambahan akrilamid berfungsi untuk menentukan pori-pori gel pada proses pemisahan gel. Semakin tinggi konsentrasi akrilamid maka diameter pori-pori di dalam gel akan semakin kecil. Sebaliknya jika konsentrasi akrilamid rendah maka diameter pori-pori gel akan semakin besar. Pada penelitian ini konsentrasi akrilamid yang digunakan adalah 30%. Selain itu menurut Prihanto (2011) akrilamid berfungsi untuk mencegah difusi akibat timbulnya panas pada arus listrik. Gel akrilamid sering dimanfaatkan untuk memisahkan molekul

protein yang kecil. Konsentrasi akrilamid total dalam gel dapat memengaruhi migrasi protein.

SDS merupakan detergen anionik, yang apabila dilarutkan molekulnya memiliki muatan negatif. Fungsi utama SDS pada metode SDS-PAGE yaitu untuk memberikan muatan negatif pada protein yang akan dianalisis. Selain itu menurut Anam (2009), SDS dapat mendenaturasi protein, mempermudah menyamakan kondisi, dan menyederhanakan protein (bentuk, ukuran, dan muatan). Muatan negatif SDS akan menghancurkan sebagian struktur kompleks protein dan secara kuat tertarik ke arah anoda apabila ditempatkan pada suatu medan listrik. APS digunakan sebagai inisiator yang dapat mengaktifkan akrilamid agar bereaksi dengan gel poliakrilamid lain membentuk rantai polimer yang panjang.

Separating gel berfungsi untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya. Pada pengujian ini *separating gel* yang digunakan memiliki konsentrasi 12% karena pita protein yang diharapkan muncul pada berat molekul diatas 10 kDa. Pada Pertama dimasukkan DDH₂O sebanyak 3.4 ml, 4 ml T. akrilamid, 2.5 gel buffer, dan 0.1 ml 10% SDS. Kemudian diaduk hingga homogen. Setelah larutan siap dimasukkan ke cetakan, sebelumnya dimasukkan 100 µl 10% APS dan 10 µl. Keduanya dimasukkan hampir bersamaan supaya terjadi polimerisasi secara sempurna. Kemudian diaduk perlahan hingga homogen dalam waktu yang tidak lama.

Sebelum *separating gel* dimasukkan ke dalam cetakan, terlebih dahulu kaca loading dibersihkan dengan dibilas aquades sampai bersih kemudian dilap searah menggunakan tisu supaya tidak tergores. Dalam proses pembersihan diperhatikan apakah ada sisa-sisa tisu yang menempel. Hal ini dapat mempengaruhi proses

analisis yang dilakukan. Kemudian kaca loading dipasang pada alat elektroforesis. Separating gel yang telah dibuat dimasukkan ke dalam cetakan dengan menggunakan mikropipet pada batas yang ditentukan yakni sekitar $\frac{3}{4}$ bagian dan $\frac{1}{4}$ bagian sisanya digunakan untuk stacking gel. Kemudian gel dibiarkan terpolimerisasi pada suhu ruang selama kurang lebih 7 menit. Kemudian dituangkan sedikit aquades untuk membuat permukaan separating gel rata. hal ini dilakukan karena apabila permukaan separating gel tidak rata akan menyebabkan sekat diantara separating gel dengan stacking gel yang dapat mengganggu proses pemisahan molekul.

Stacking gel merupakan gel pengumpul yang terletak apada bagian atas. Stacking gel digunakan untuk mencetak sumuran (well). Selain itu menurut Utami (2007) stacking gel digunakan untuk menimbun atau memekatkan protein menjadi satu jalur yang sempit sebelum protein itu memasuki gel pemisah. Stacking gel juga digunakan untuk menahan sementara agar sampel bermigrasi pada waktu yang bersamaan. Stacking gel yang digunakan pada penelitian ini memiliki konsentrasi 4%.

Cara pembuatannya hampir sama dengan separating gel, yang membedakan yaitu banyaknya komposisi yang digunakan. Selain itu pada stacking gel digunakan gel buffer dengan konsentrasi yang berbeda dari separating gel. Langkah pertama dimasukkan DDH₂O sebanyak 6.1 ml, T-ackrilamid 1.3 ml, gel buffer 2.5 ml, dan 10% SDS 0,1 ml. Setelah siap dimasukkan kedalam cetakan, sebelumnya dimasukkan 10% APS sebanyak 50 μ l dan TEMED sebanyak 5 μ l. Keduanya dimasukkan hampir bersamaan supaya terpolimerisasi sempurna. Selanjutnya diaduk hingga homogen dan tidak terlalu lama.

Komposisi untuk *stacking gel* dituang kedalam cetakan. Sebelum dimasukkan ke dalam cetakan dipastikan terlebih dahulu jika separating sudah terpolimerisasi. Maka baru dimasukkan *stacking gel* di atasnya secara perlahan menggunakan mikropipet dan disisipkan sisir di atasnya. Gigi sisir berfungsi untuk mencetak sumuran yang akan digunakan sebagai tempat meletakkan sampel. *Stacking gel* dibiarkan hingga gel terpolimerisasi pada suhu ruang selama kurang lebih 7 menit.

c. Running elektroforesis

Sampel yang telah siap kemudian dimasukkan ke dalam sumur sebanyak 30 μ l. Sebelumnya cetakan telah dipasang pada alat elektroforesis dan dimasukkan *running buffer* ke dalam chamber elektroforesis sampai pada batas sumuran. Buffer ini berfungsi sebagai penghantar listrik yang akan membantu memisahkan sampel saat listrik dialirkan. Running dilakukan selama 75 menit dengan tegangan 200 Volt. Setelah gel terpisah sempurna maka diambil cetakan dari alat elektroforesis. Gel yang berisi sampel diambil dari cetakan dan diberi pewarnaan (staining).

Pewarnaan (staining) pita protein dilakukan dengan merendam gel hasil elektroforesis dalam larutan *Coomasie Brilliant Blue*. Gel direndam menggunakan wadah plastik dan dishaker selama 24 jam. Shaker dilakukan untuk mengoptimalkan rekasi staining yang dilakukan oleh *Coomasie Brilliant blue*.

Setelah 24 jam dan terlihat gel terwanai sempurna maka dilakukan destaining untuk menghilangkan kelebihan warna. Destaining dilakukan dengan cara merendam gel dalam larutan destaining yang terdiri dari aquabides, metanol, dan asam asetat glasial. perendaman dilakukan untuk menghilangkan *Coomasie*

brilliant blue yang tersisa dan memperjelas band protein yang terbentuk. Gel dalam larutan destaining dishaker selama 24 jam supaya didapatkan hasil yang optimal. Gel yang sudah berwarna bening dan terlihat pita-pita proteinnya diambil dan discan. Kemudian hasil scan bisa dianalisa dengan menghitung berat molekul yang terbentuk pada protein yang terekspresi.

4.2 Data Penelitian

4.2.1 Data Pengujian Viabilitas Bakteri *Staphylococcus aureus* Hasil Iradiasi Sinar Gamma

Viabilitas sel adalah kemungkinan sel untuk dapat hidup setelah terpapar suatu bahan. Pengujian viabilitas ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap kematian bakteri. Distribusi data hasil penelitian diuji dengan menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* variabel viabilitas dan variasi lama pemaparan iradiasi sinar gamma. Sebelum data diuji *One Way ANOVA*, data dilakukan pengujian normalitas terlebih dahulu. Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak. Syarat pengujian ANOVA adalah data yang digunakan harus berdistribusi normal. Jika asumsi ini dilanggar, maka uji statistik menjadi tidak valid terutama untuk sampel kecil. Uji normalitas yang digunakan adalah *Shapiro-Wilk* karena data yang ada berjumlah ≤ 50 .

Dari hasil uji normalitas semua data lama pemaparan baik kontrol, 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit memiliki nilai signifikan $> 0,05$ (lihat lampiran 1) yang berarti data berdistribusi normal. Karena data berdistribusi normal maka pengujian ANOVA bisa dilakukan. Dari hasil uji parametrik *One Way ANOVA* (lihat lampiran 2) didapatkan nilai signifikan $p =$

0,000 ($p < 0,05$) maka keputusannya H_0 ditolak, berarti bahwa variasi lama pemaparan iradiasi sinar gamma berpengaruh terhadap nilai viabilitas sel bakteri. Hasil penelitian pengaruh lama pemaparan iradiasi sinar gamma terhadap viabilitas isolat bakteri *Staphylococcus aureus* disajikan dalam tabel 4.1 berikut ini :

Tabel 4.1 Hasil pengamatan jumlah sel bakteri *S. aureus* iradiasi sinar gamma

Lamanya penyinaran (menit)	Jumlah bakteri (sel/ml)			Rata-rata (sel/ml)	Persentase Viabilitas (%)
	Sampel				
	I	II	III		
0	273×10^7	290×10^7	279×10^7	281×10^7	100
15	29×10^7	32×10^7	22×10^7	28×10^7	9.9
30	31×10^7	29×10^7	27×10^7	29×10^7	10.3
45	47×10^7	58×10^7	46×10^7	50×10^7	17.8
60	57×10^7	48×10^7	51×10^7	52×10^7	18.5
75	80×10^7	96×10^7	98×10^7	91×10^7	32.4
90	124×10^7	116×10^7	112×10^7	117×10^7	41.8

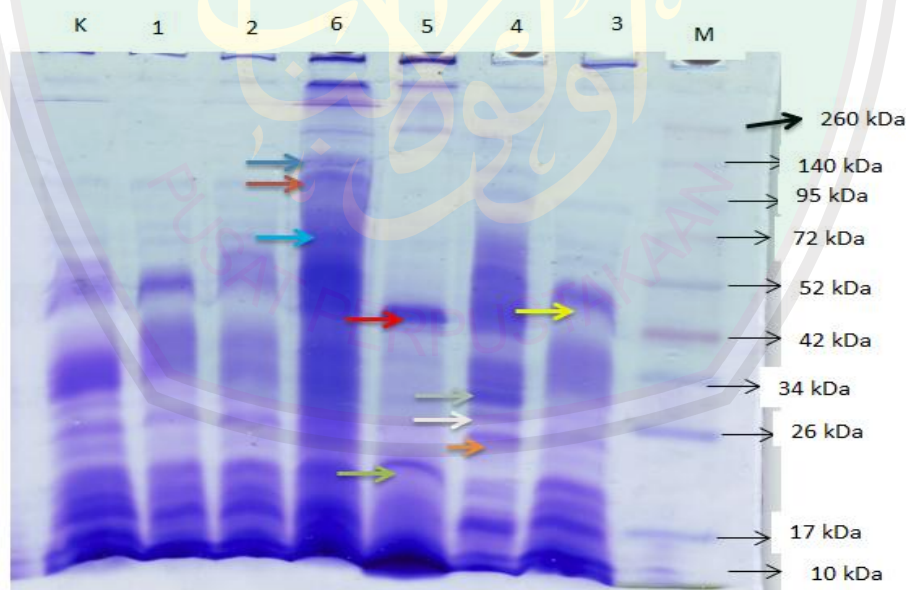
Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa pada kontrol bakteri yang hidup berjumlah 281×10^7 cfu/ml, pada lama pemaparan 15 menit berjumlah 28×10^7 cfu/ml, pada lama pemaparam 30 menit berjumlah 29×10^7 cfu/ml, pada lama pemaparan 45 menit berjumlah 50×10^7 cfu/ml, pada lama pemaparan 60 menit berjumlah 52×10^7 cfu/ml, lama pemaparan 75 menit berjumlah 91×10^7 cfu/ml, dan lama pemaparan 90 menit berjumlah 117×10^7 cfu/ml. Dari data tersebut bisa dicari nilai % viabilitas dengan menggunakan persamaan (2.3) :

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

Dengan menggunakan persamaan diatas maka didapat nilai % viabilitas antara lain untuk kontrol adalah 100%, lama pemaparan 15 menit adalah 9.9 %, lama pemaparan 30 menit adalah 10,3 %, lama pemaparan 45 menit adalah 17.8%, lama pemaparan 60 menit adalah 18.5%, lama pemaparan 75 menit adalah 32.4%, dan lama pemaparan 90 menit 41.8%.

4.2.2 Data Karakterisasi Profil Protein Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Elektroforesis SDS-PAGE

Elektroforesis adalah sebuah metode untuk separasi atau pemisahan sebuah molekul besar (seperti protein, fragmen DNA, RNA dan lain sebagainya) dari campuran molekul yang serupa. Hasil elektroforesis SDS-PAGE pada gambar memperlihatkan pola yang hampir sama namun berbeda intensitasnya.



Gambar 4.4 Profil protein *S.aureus* hasil iradiasi sinar gamma variasi lama pemaparan (1) 15 menit, (2) 30 menit, (3) 45 menit, (4) 60 menit, (5) 75 menit dan (6) 90 menit. keterangan biru tua (127,07 kDa), coklat (104,67 kDa), biru muda (67,46 kDa), kuning (46,7 kDa), merah (45,10 kDa), abu-abu (31,09 kDa), putih (28,43 kDa), orange (25,01 kDa), hijau (21,43 kDa)

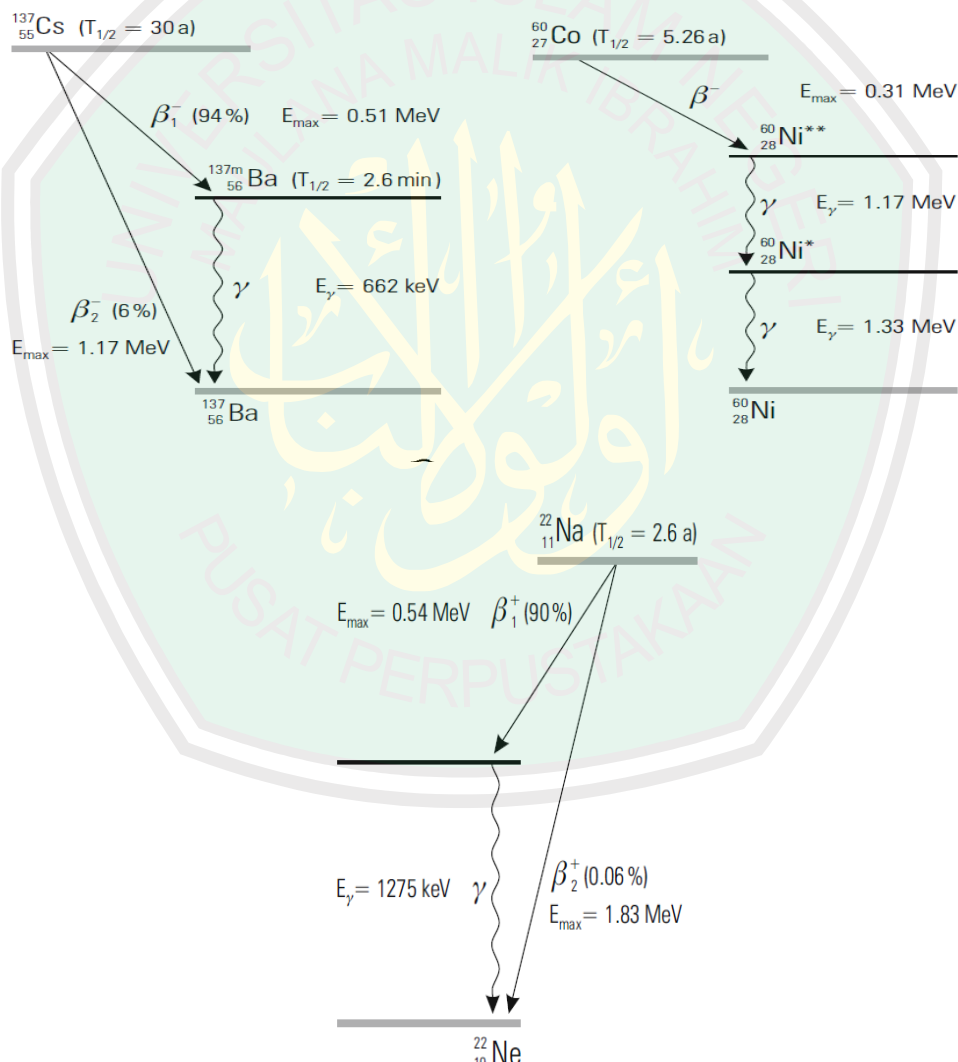
Pada gambar 4.4 menjelaskan hasil elektroforesis SDS-PAGE protein bakteri *S.aureus*. pada penelitian sampel yang digunakan adalah protein *whole cell* bakteri *S.aureus*. Sumuran (*well*) yang terbentuk ada 10, tapi yang digunakan 8 karena jumlah sampel ada 8 termasuk marker, dimana sumuran pertama diisi dengan protei marker. Sampel protein bakteri yang diinjeksikan ada 7, dengan variasi lama pemaparan. Perlakuan lama pemaparan 15 menit ditandai dengan angka 1, lama pemaparan 30 menit ditandai dengan angka 2, lama pemaparan 45 menit ditandai dengan angka 3, lama pemaparan 60 menit ditandai dengan angka 4, lama pemaparan 75 menit ditandai dengan angka 5, dan lama pemaparan 90 menit ditandai dengan angka 6. M merupakan marker dan K adalah kontrol atau tanpa iradiasi. Dari gambar dapat dianalisa bahwa protein bisa terekspresi dengan perlakuan iradiasi sinar gamma. Dari hasil pengujian didapat masing-masing perlakuan menunjukkan ekspresi protein yang berbeda-beda.

Setelah dilakukan running, pita yang terbentuk selama pengujian yaitu ada 17 pita protein yang terekspresi, yaitu 10 kDa, 17 kDa, 21.43 kDa, 25.01 kDa, 26 kDa, 28.43 kDa, 31.09 kDa, 34 kDa, 42 kDa, 45.10 kDa, 46.7 kDa, 52 kDa, 67.46 kDa, 72 kDa, 95 kDa, 104.67 kDa dan 127.07 kDa. Dari data-data ini yang terekspresi pada kontrol sebanyak 12 pita protein sedangkan selebihnya terekspresi saat di iradiasi sinar gamma.

4.3 Pembahasan Penelitian

Kebanyakan bahan Radioaktif tidak langsung berubah ke bentuk stabilnya, namun secara bertahap meluruh ke bentuk isotop lain yang mengikuti rantai peluruhan tertentu. setiap kali terjadi proses peluruhan, isotop memancarkan energi radiasi sesuai dengan mode peluruhan yang terjadi. Mode peluruhan

tersebut dapat berupa radiasi Alpha (α), Beta (β) ataupun Gamma (γ). Setelah peluruhan alfa dan beta, inti biasanya dalam keadaan tereksitasi. Seperti halnya atom, inti akan mencapai keadaan dasar (stabil) dengan memancarkan foton (gelombang elektromagnetik) yang dikenal dengan sinar gamma (γ). Peluruhan gamma tidak menyebabkan perubahan nomor atom maupun nomor massa, karena radiasi yang dipancarkan dalam peluruhan ini berupa gelombang elektromagnetik (foton).



Gambar 4.5 Skema peluruhan unsur radioaktif Cs-137, Co-60, Na-22

Gambar 4.5 merupakan skema peluruhan inti radioaktif yang digunakan pada penelitian ini. Penelitian ini menggunakan sumber sinar gamma dari radioaktif Co-60 dengan aktivitas 74 kBq pada tahun 1993, Na-222 dengan aktivitas 74 KBq pada tahun 1993, Cs-137 dengan aktivitas 333 KBq pada tahun 1993, dan Am-241 dengan aktivitas 4.44 KBq pada tahun 1993.

Energi sinar gamma yang dihasilkan pada unsur Co-60 sebesar 2,5 MeV, Cs-137 sebesar 0,662 MeV, Na-22 sebesar 1,275 MeV, dan Am-241 sebesar 0,1957. Jadi total energi sinar gamma yang dihasilkan sebanyak 4,6327 MeV. Aktivitas radioaktif merupakan jumlah peluruhan radioaktif per satuan waktu. Jika dilihat dari aktivitas radioaktif pada masing-masing radionuklida pada tahun 1993 diatas, maka pada tahun 2015 aktivitasnya semakin menurun. Hal ini yang menyebabkan dosis yang dihasilkan semakin menurun. Maka dari itu digunakan variasi lama pemaparan supaya dosis yang dikeluarkan lebih besar. Karena dosis yang terakumulasi berbanding lurus dengan waktu pemaparan.

Laju dosis diukur menggunakan alat ukur surveimete dan dihasilkan laju dosis sebesar $2,4 \times 10^{-6}$ Gy/s. Selanjutnya bisa dicari nilai dosis pada masing-masing perlakuan menggunakan persamaan 2.1 ((Akhadi, 2000):

$$D = \dot{D} \cdot t$$

Maka didapatkan dosis pada masing-masing perlakuan antara lain 15 menit 0,002 Gy, 30 menit 0,004Gy, 45 menit 0.006 Gy, 60 menit 0,009 Gy, 75 menit 0,011 Gy, dan 90 menit 0,013 Gy.

Sinar gamma merupakan gelombang elektromagnetik (foton). Tidak seperti pada partikel bermuatan, foton dalam melewati materi tidak dapat kehilangan energi secara kontinyu sepanjang jejak yang dilalui. Pada interaksi dengan materi

dalam penelitian ini bakteri dianggap sebagai materi, seluruh energi foton akan diserap oleh materi. Penyerapan energi oleh materi yang selanjutnya akan menimbulkan efek pada materi.

Secara fisika, sinar gamma apabila berinteraksi dengan materi akan menimbulkan beberapa efek antara lain efek Compton, efek fotolistrik, dan produksi pasangan. Penjelasan dari masing-masing terdapat pada bab sebelumnya. Pada penelitian ini bakteri dianggap sebagai materi. Jadi apabila sinar gamma mengenai bakteri maka akan menimbulkan beberapa efek yang selanjutnya akan menyebabkan perubahan salah satunya perubahan susunan organel-organel sel bakteri.

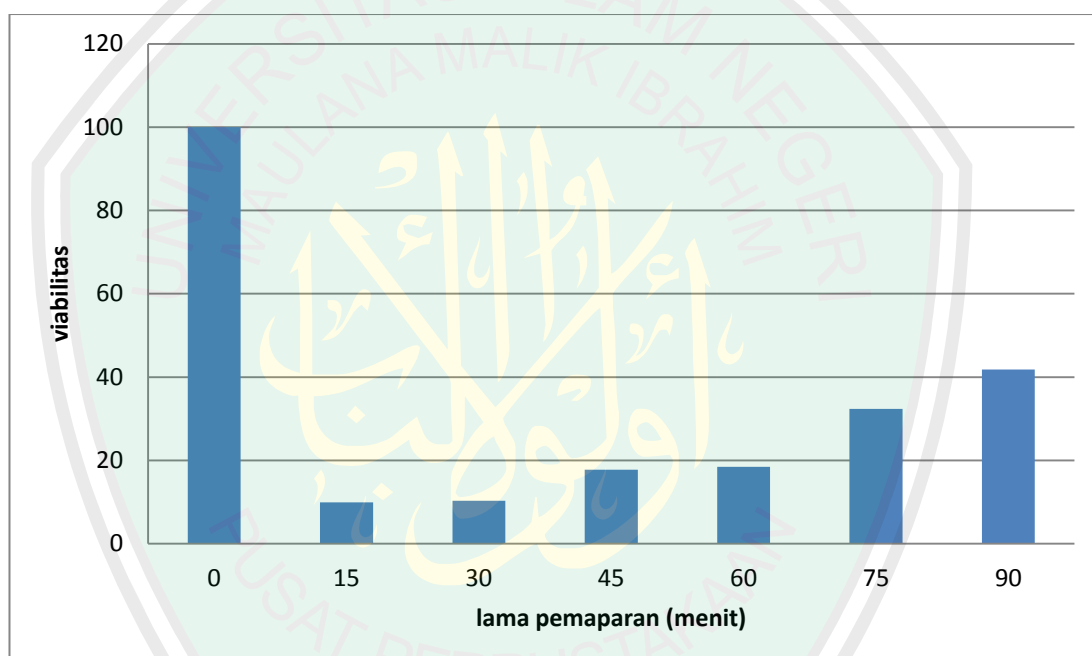
Energi yang diserap oleh atom ini dibawa oleh sebuah elektron, untuk membentuk pasangan elektron. Peristiwa ini yang disebut sebagai produksi pasangan. Pada proses ini foton harus memiliki energi paling tidak sebesar 1,02 MeV dan berinteraksi di dalam medan inti atom. Pada penelitian ini energi yang diberikan adalah 4,6327 MeV. Hal ini yang mengakibatkan terjadinya efek produksi pasangan. Pada efek ini, foton tersebut akan hilang dan sebagai gantinya diciptakan dua partikel yaitu elektron dan positron. Karena positron merupakan partikel yang tidak stabil memiliki umur yang sangat pendek, maka akan mencari pasangannya yaitu elektron, dan bergabung untuk menuju ke kestabilan. Penggabungan antara kedua partikel tersebut akan menghasilkan dua radiasi gelombang elektromagnetik dengan arah berlawanan. Proses tersebut disebut sebagai proses pemusnahan (anihilasi).

Sebagian besar elektron yang dihasilkan oleh foton akan kehilangan energinya karena tumbukan inelastik (ionisasi dan eksitasi) dengan elektron atom

materi, beberapa tergantung pada nomor atom materi, akan kehilangan energy melalui interaksi bremsstrahlung dengan inti atom. Energi bremsstrahlung dipancarkan sebagai sinar X dan tidak termasuk dalam perhitungan energi yang terserap di tempat itu.

4.3.1 Viabilitas Bakteri *Staphylococcus aureus* Hasil Iradiasi Sinar Gamma

Dari data-data yang diperoleh pada tabel 4.1 dapat dibuat kurva dan bisa diamati pada gambar 4.6 dibawah ini.



Gambar 4.6 Hubungan antara lama pemaparan sinar gamma dengan % viabilitas bakteri *Staphylococcus aureus*

Dari gambar 4.6 dapat kita analisa hubungan antara % viabilitas isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan variasi lama pemaparan iradiasi sinar gamma. Dari gambar 4.6 dapat dianalisa bahwa jumlah bakteri mengalami penurunan ketika diberikan perlakuan. Terlihat pada lama pemaparan 0 menit atau dengan kata lain tanpa iradiasi (kontrol), bakteri berjumlah lebih banyak atau dalam gambar ditandai dengan nilai 100% viabilitas. Kemudian ketika diberi

pemaparan iradiasi dengan lama pemaparan 15 menit mengalami penurunan jumlah bakteri ditandai dengan penurunan garis kurva yang cukup drastis. Nilai viabilitas diperoleh dari hasil perhitungan sekitar 9,9 %, artinya memiliki nilai yang cukup jauh dari kontrol. Begitu juga dengan lama pemaparan 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit diperoleh % viabilitas berturut-turut adalah 10,3 %, 17,8%, 18,5 %, 32,4% dan 41,8 %. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pemaparan iradiasi sinar gamma sangat berpengaruh terhadap viabilitas isolat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Menurut Wulandari (2003) viabilitas sel dapat didefinisikan sebagai jumlah sel-sel yang mampu berkembang dalam medium kultur. Dari data-data yang diperoleh diatas dapat diketahui bahwa iradiasi sinar gamma mempengaruhi viabilitas sel bakteri. Pada literatur dijelaskan bahwa apabila sinar gamma mengenai sel bakteri, maka pada sel bakteri akan terjadi kematian sel, sel tetap hidup normal, sel tetap hidup tetapi mengalami mutasi, atau sel akan mati setelah beberapa generasi. Dari hasil pengujian dapat diketahui bahwa bakteri mengalami kematian ketika diberi paparan sinar gamma.

Pada penelitian ini radiasi sangat rendah dapat menyebabkan kematian sel. Sinar gamma tidak bermassa dan tidak memiliki muatan sehingga daya tembusnya tinggi. Menurut Hall (1994), target utama bagian sel adalah DNA yang merupakan sumber informasi genetik. Perubahan genetik akan berakibat pada terganggunya kinerja atau kematian sel. DNA yang terkena radiasi akan mengalami pemutusan rantai dan dapat kembali menyusun ulang urutan basa nitrogennya. Hasil penyusunan kembali tersebut bisa sama atau berbeda dengan

semula. Penyusunan ulang yang berbeda dapat berakibat pada kematian sel, mutasi atau transformasi.

Menurut Darussalam (1996), radiasi dapat menghambat atau menghalangi pembelahan sel sebagai akibat atau kerusakan pada kromosom. Beberapa fragmen kromosom mulai terlihat pada stadia metafase, yang disusul kemudian oleh timbulnya jembatan kromosom pada stadia anafase ataupun telofase. Semua ini dapat mengarah pada tertundanya atau terhentinya proses pembelahan sel. Jika proses pembelahan sel dihambat atau dihalangi secara terus-menerus dapat menimbulkan kematian sel atau jaringan.

Secara lebih terperinci menurut Akhadi (2000), terdapat empat tahap yang terjadi apabila radiasi pengion mengenai suatu materi biologi yaitu tahap fisik, tahap fisikokimia, tahap kimia biologi dan tahap biologi. Energi yang terdapat pada radiasi pengion akan diserap oleh materi biologi. Penyerapan energi radiasi menyebabkan terjadinya eksitasi dan ionisasi pada atom penyusun bahan biologi. Selanjutnya atom yang tereksitasi dan terionisasi mengalami reaksi yang menghasilkan radikal bebas yang selanjutnya dapat membentuk peroksida. Radikal bebas dan peroksida bereaksi dengan molekul organik serta inti sel. Reaksi ini bisa merusak struktur biokimia molekul enzim, kromosom dan molekul DNA yang dapat menyebabkan mutasi genetik. Dampak kerusakan sel (kematian sel) adalah pembelahan sel terhambat/tertunda serta terjadinya perubahan permanen pada sel anak setelah sel induknya membelah. Kerusakan yang terjadi dapat meluas dari skala seluler ke jaringan, organ dan dapat pula menyebabkan kematian.

Hasil pengujian viabilitas dari sampel yang diberi pemaparan iradiasi sinar gamma dari 15 menit hingga 90 menit dengan interval 15 masing-masing mendapatkan nilai dibawah 50%. Hal ini berarti bahwa jumlah bakteri mengalami penurunan dibawah 50% dari jumlah awal. Pada literatur disebutkan bahwa untuk memperoleh vaksin aktif maka bakteri yang bisa digunakan adalah kurang dari sama dengan 50% dari jumlah awal sebelum iradiasi dan tidak mencapai 0 nilainya. Jika sudah bernilai 0, maka tidak bisa digunakan sebagai pembuatan vaksin aktif. Namun pada penelitian ini, hasil yang digunakan tidak sampai 0 sehingga terdapat kemungkinan jika isolat bakteri bisa digunakan sebagai bahan vaksin aktif.

Hubungan antara lama pemaparan dengan nilai viabilitas dengan mengabaikan kontrol. Dari penelitian ini variasi lama pemaparan yang digunakan adalah 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit dan 90 menit. Hasil % viabilitas pada masing-masing secara berturut-turut adalah 9,9%, 10,3%, 17,8%, 18,5 %, 32,4 % dan 41,8%. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa semakin lama waktu pemaparan yang diberikan maka semakin banyak jumlah bakteri. Bakteri memiliki fase pertumbuhan. Menurut Windusari (2008) bakteri *S.aureus* membelah diri tiap 60 menit. Kemungkinan bakteri melakukan pembelahan pada waktu tersebut sehingga jumlahnya lebih banyak. Hal ini dapat diketahui bahwa semakin lama pemaparan yang dilakukan maka hasilnya kurang efektif .

Hubungan antara nilai viabilitas dengan lama pemaparan dengan mengabaikan kontrol yang hasilnya tidak sesuai dengan literatur kemungkinan tidak terlalu mempengaruhi syarat untuk vaksin aktif. Hal ini dikarenakan dari keenam variasi waktu tersebut, nilai viabilitasnya sama-sama $\leq 50\%$ dan tidak

mencapai 0 yang berarti isolat bakteri tersebut masih ada kemungkinan dapat digunakan sebagai bahan vaksin aktif.

4.3.1 Karakterisasi Profil Protein Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Elektroforesis SDS-PAGE.

Tabel 4.2 Pita protein yang terbentuk pada pengujian elektroforesis SDS-PAGE pada sampel protein bakteri *whole cell S.aureus*.

Berat molekul (kDa)	Kontrol	15 menit (1)	30 menit (2)	45 menit (3)	60 menit (4)	75 menit (5)	90 menit (6)
10	+	+	+	+	+	+	+
17	+	+	+	+	+	-	+
21,43	+	+	+	-	+	+	+
25,01	-			-	+		
26	+	+	+	-	+		
28,43				-	+		
31,09	-		-		+		
34	+	+	+	+	+	-	
42		+	-		+	-	
45,10						+	
46,7	+	+	+	+	+		
52	-		+		+		
67,46	-	-	-	-		-	
72	-	-	-			-	
95				-	+		
104,67	-	-	-		-		+
127,07					-		+

Keterangan : (+) terekspresi kuat

(-) terkspresi lemah

Tabel diatas merupakan hasil dari protein yang terekspresi. Protein bisa terekspresi antara 10 kDa hingga 127,07 kDa. Menurut Hames (2004), pita-pita bisa terbentuk atau nampak karena adanya sejumlah partikel sampel yang tersangkut pada titik-titik tertentu dalam gel akibat adanya muatan listrik pada sampel yang bergerak menuju katoda. Partikel yang memiliki berat molekul sama akan terakumulasi dititik yang sama, sehingga membentuk pita dengan panjang berbeda yang terpisah berdasarkan berat molekulnya.

Dari hasil percobaan sampel membentuk garis lurus, namun berbeda pada intensitas warnanya. Hal ini disebabkan ada beberapa protein yang terekspresi dan ada protein yang sedikit terekspresi atau bahkan tidak terekspresi. Pada berat molekul 10 kDa pita protein terekspresi kuat pada semua lama pemaparan dan kontrol. Berat molekul 17 kDa pita protein terekspresi kuat pada semua perlakuan dan kontrol kecuali lama pemaparan 60 menit pita protein terekspresi lemah. Pada berat molekul 21,43 kDa pita protein terekspresi kuat pada semua lama pemaparan dan kontrol kecuali pada lama pemaparan 45 menit protein terekspresi lemah. Pada berat molekul 25,01 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 60 menit dan terekspresi lemah pada kontrol dan lama pemaparan 45 menit.

Berat molekul 26 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 15 menit, 30 menit, 60 menit, kontrol dan terekspresi lemah pada lama pemaparan 45 menit. Berat molekul 28,43 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 60 menit dan terekspresi lemah pada lama pemaparan 45 menit.

Berat molekul 31,09 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 60 menit dan terekspresi lemah pada kontrol dan lama pemaparan 30 menit. Berat molekul

34 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 15 menit, 30 menit, 45 menit dan 60 menit, kontrol dan terekspresi lemah pada lama pemaparan 75 menit. Berat molekul 42 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 15 menit dan 60 menit dan terekspresi lemah pada lama pemaparan 30 dan 75 menit. Berat molekul 45,10 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 75 menit. Berat molekul 46,7 protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit dan kontrol. Berat molekul 52 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 60 menit dan 30 menit dan terekspresi lemah pada kontrol.

Berat molekul 67,46 kDa protein terekspresi lemah pada lama pemaparan 15 menit, 30 menit, 45 menit, 75 menit dan kontrol. Berat molekul 72 kDa protein terekspresi lemah pada lama pemaparan 15 menit, 30 menit, 75 menit dan kontrol. Berat molekul 95 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 60 menit dan terekspresi lemah pada lama pemaparan 45 menit, 75 menit. Berat molekul 104,67 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 90 menit dan terekspresi lemah pada lama pemaparan 15 menit, 30 menit dan kontrol. Untuk yang terakhir berat molekul 127,07 kDa protein terekspresi kuat pada lama pemaparan 90 menit dan terekspresi lemah pada lama pemaparan 60 menit.

Pita protein yang terekspresi pada kontrol berjumlah 12, lama pemaparan 15 menit berjumlah 10 pita protein, lama pemaparan 30 menit berjumlah 12 pita protein, lama pemaparan 45 menit berjumlah 10 pita protein, lama pemaparan 60 menit berjumlah 14 pita protein, lama pemaparan 75 menit berjumlah 8 pita protein, dan lama pemaparan 90 menit berjumlah 5 pita protein. Pada kontrol ada beberapa pita protein yang tidak terekspresi namun terekspresi ketika diberi

pemaparan iradiasi. pita-pita protein yang berhasil muncul ketika diberi pemaparan iradiasi antara lain memiliki berat molekul 28,3 kDa, 42 kDa, 45,10 kDa, 95 kDa dan 127,07 kDa.

Analisa yang didapat adalah bahwa protein yang paling banyak terekspresi terdapat pada perlakuan 4 dengan lama pemaparan 60 menit yang terekspresi yaitu 14 pita protein. Selain itu juga pada lama pemaparan ini pita protein yang terekspresi lebih banyak dari kontrol. Pada konsep vaksin, bahan yang digunakan adalah protein-protein bakteri yang terekspresi. Semakin banyak yang protein yang terekspresi maka semakin besar pula berpotensi sebagai bahan pembuatan vaksin aktif. Hal ini masih memerlukan studi yang lebih jauh. Rata-rata protein yang terekspresi diatas 10 kDa. Hal ini sesuai dengan literatur dimana protein dengan berat molekul diatas 10 kDa bisa memiliki efek kekebalan. Intensitas yang paling tinggi terdapat pada perlakuan 5 yaitu lama pemaparan 75 menit dengan berat molekul 45,10 kDa.

Pada penelitian ini protein terekspresi lebih banyak ketika diiradiasi sinar gamma. Sinar gamma yang dihasilkan memiliki dosis konstan yaitu 0.02 Gy. Pada penelitian variabel yang digunakan adalah lamanya waktu pemaparan yakni sekitar 0-90 menit dengan interval 15. Dari penelitian protein bisa terekspresi dari lama pemaparan yang berbeda-beda. Menurut Alhadi (2000), Suatu medium yang berada dalam suatu medan radiasi akan menerima dosis radiasi yang besarnya sebanding dengan lamanya penyinaran. Semakin lama penyinaran, akan semakin besar dosis radiasi yang diterima. Ketika dosis yang diterima semakin besar, maka semakin besar pula efek yang terjadi apabila berinteraksi dengan materi.

Intensitas (konsentrasi) protein dapat berubah akibat iradiasi sinar gamma, demikian halnya struktur maupun ikatannya. Perubahan struktur dapat diakibatkan oleh denaturasi dan degradasi protein, maupun perubahan asam deoksiribonukleat (DNA). Perubahan DNA ini dapat menyebabkan peningkatan sintesis protein atau terbentuknya protein baru. Protein dapat mengalami dua kemungkinan, yaitu pengembangan/pemanjangan rantai peptida dan pemecahan protein menjadi unit yang lebih kecil tanpa disertai pengembangan molekul. Dari penelitian ini, protein mengalami penambahan jumlah oleh karena adanya pengembangan rantai peptida ketika diiradiasi sinar gamma.

Waktu pemaparan yang paling lama adalah 90 menit sehingga dosis yang terbesar terakumulasi pada lama pemaparan ini. Jika ditinjau dari literatur semakin besar radiasi maka semakin tinggi efek yang ditimbulkan salah satunya dalam merubah konformasi DNA yang selanjutnya bisa menyebabkan terbentuknya protein baru. Namun pada penelitian ini, protein banyak terekspresi pada perlakuan ke 4 yaitu lama pemaparan 60 menit. Hal ini dikarenakan setiap sel memiliki kemampuan tersendiri dalam menanggapi efek radiasi yang diberikan. Ada beberapa kondisi ketika sel tidak menimbulkan efek apapun ketika diiradiasi. Jadi intinya ada beberapa kondisi yang optimal yang terjadi pada sel jika dikenai suatu gangguan apalagi sel bakteri. selain itu juga menurut Wahyudi (2005), adanya kemungkinan kecepatan peningkatan aktivitas pembelahan sel terjadi pada dosis tertentu, tidak selalu mengikuti interval peningkatan dosisnya.

Bakteri memiliki beberapa fase pertumbuhan salah satunya fase mid log yaitu fase paling tinggi terjadi pembelahan. Menurut Windusari (2008), bakteri *Staphylococcus aureus* mengalami pembelahan pada menit ke-60. Dinding sel

akan menipis ketika membelah sehingga efek iradiasi terjadi secara maksimal. jadi ketika menit ke 60 bakteri mengaloi pembelahan yang selanjutnya akan terjadi efek radiasi yang maksimal. ketika mendapatkan efek radiasi yang maksimal, maka kemampuan bakteri untuk meningkatkan intensitas protein semakin besar. Pada penelitian bisa dilihat dari banyaknya protein yang terekspresi pada menit ke 60.

Menurut Prieur (2003), studi lebih dari 40 tahun juga menunjukkan bahwa sel raksasa (*giant*) terbentuk baik secara *in vivo* maupun secara *in vitro* setelah pajanan radiasi pengion. Di dalam sel tersebut, volume sel dan DNA, RNA serta massa protein bertambah hingga 20-200 kali lipat daripada sel normal. Sebagian besar pengamatan menunjukkan bahwa sel raksasa terbentuk setelah radiasi dosis 1,5 Gy atau lebih, meskipun dapat juga terjadi pada dosis serendah 0,12 Gy.

4.4 Integrasi Penelitian dalam Al-Qur'an

Al-Qur'an bukan merupakan buku teks tentang sains, melainkan kitab petunjuk bagi manusia. Al-Qur'an memberikan petunjuk tentang pandangan dunia yang dapat dijadikan landasan bagi pengembangan sains yang islami. Segala sesuatu mengenai alam semesta sudah diatur dalam alqur'an. Allah menciptakan segala sesuatunya tidak ada yang sia-sia.

Penelitian ini menjelaskan mengenai aplikasi dari radiasi pengion yaitu sinar gamma. Radiasi adalah suatu emisi (pancaran) dan perambatan energi melalui materi atau ruang dalam bentuk gelombang elektromagnetik dan atau partikel. Radiasi pengion berarti proses radiasi yang menyebabkan ionisasi. Sinar gamma dipancarkan dari atom. Atom yang memancarkan sinar gamma tidak akan

mengalami pengurangan nomor atom maupun nomor massa, hanya atomnya saja yang berada dalam keadaan tereksitasi kembali ke keadaan dasar.

Al-Qur'an banyak menjelaskan mengenai atom atau partikel. Allah Swt. berfirman dalam surat az-Zalzalah ayat 7-8 yang berbunyi:

فَمَنْ يَعْمَلْ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ خَيْرًا يَرَهُ ۖ وَمَنْ يَعْمَلْ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ شَرًّا يَرَهُ ۖ

“Barangsiapa yang mengerjakan kebaikan seberat zarrah pun, niscaya dia akan melihat (balasannya). Dan barangsiapa yang mengerjakan kejahatan seberat zarrah pun, niscaya dia akan melihat (balasannya) pula” (QS. Az-Zalzalah (99): 7-8).

Dalam kitab tafsir al-Qur'an Ibnu Katsir, dijelaskan bahwa Imam al-Bukhari meriwayatkan dari Abu Hurairah bahwa Rasulullah pernah bersabda yang artinya kuda itu untuk tiga orang. Bagi seseorang kuda itu akan menjadi pahala, bagi seseorang lagi akan menjadi satar (penutup), dan bagi seorang yang lainnya akan menjadi dosa. Adapun orang yang mendapatkan pahala adalah orang yang mengikat kuda itu di jalan Allah, lalu dia membiarkannya di tempat penggembalaan atau taman dalam waktu yang lama, maka apa yang selama masa penggembalaannya di tempat penggembalaan dan taman itu maka ia akan menjadi kebaikan baginya. Dan jika dia menghentikan masa penggembalaannya lalu kuda itu melangkah satu atau dua langkah, maka jejak kaki dan juga kotorannya akan menjadi kebaikan baginya. Dan jika kuda itu menyeberangi sungai lalu minum air dari sungai tersebut, maka yang demikian itu menjadi kebaikan baginya, dan kuda itu pun bagi orang tersebut adalah pahala. Dan orang yang mengikat kuda itu karena untuk memperkaya diri dan demi kehormatan diri tetapi dia tidak lupa hak Allah dalam pemeliharannya, maka kuda itu akan menjadi satar baginya. Serta

orang yang mengikatnya karena perasaan bangga dan riya', maka ia hanya akan menjadi dosa baginya.

Rasulullah Saw. Ditanya tentang keledai, maka beliau bersabda “Allah tidak menurunkan sedikitpun mengenainya melainkan ayat yang mantap dan mencakup ini: *“Barangsiapa mengerjakan kebaikan seberat dzarra pun, niscaya dia akan melihat (balasannya). Dan barangsiapa yang mengerjakan kejahatan seberat zarrah pun, niscaya dia akan melihat (balasannya) pula”* (HR. Muslim).

Pada QS. Az-Zalzalah ayat 7-8 menjelaskan tentang dzarra yang berarti sesuatu yang sangat kecil. Jika ditinjau dari ayat-ayat sebelumnya atau dintinjau dari surat az-zalzalah secara utuh maka ayat ini menjelaskan mengenai kejadian hari kiamat. Pada QS az zalzalah ini digambarkan bagaimana nanti manusia akan dibangkitkan kembali dari kuburnya. Selanjutnya pada ayat 7-8 dijelaskan bahwa segala sesuatu akan mendapatkan balasan yang setimpal besok di hari kiamat. Manusia yang melakukan kebaikan meskipun sebesar dzarra (sesuatu yang sangat kecil) kelak akan mendapatkan balasan kebaikan. Akan tetapi jika manusia melakukan kejelekan meski sebesar dzarra maka kelak akan dibalas dengan siksaan.

Allah berfirman dalam surat as-Saba' ayat 22 yang berbunyi:

قُلْ أَدْعُوا الَّذِينَ زَعَمْتُمْ مِّنْ دُونِ اللَّهِ لَا يَمْلِكُونَ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ فِي السَّمَوَاتِ وَلَا فِي الْأَرْضِ وَمَا هُمْ فِيهِمَا مِنْ شَرِكٍ وَمَا لَهُ مِنْهُمْ مِّنْ ظَهِيرٍ ﴿٢٢﴾

“Katakanlah: " serulah mereka yang kamu anggap (sebagai Tuhan) selain Allah, mereka tidak memiliki (kekuasaan) seberat zarrapun di langit dan di bumi, dan mereka tidak mempunyai suatu sahampun dalam (penciptaan) langit dan bumi dan sekali-kali tidak ada di antara mereka yang menjadi pembantu bagi-Nya.” (QS. as-Saba' (34): 22).

Dalam ayat diatas menjelaskan tentang orang-orang yang menyekutukan Allah. Mereka itu adalah golongan orang-orang yang tersesat. Tidak ada yang patut disembah kecuali Allah Swt. Allah yang menciptakan segala sesuatu yang berada di muka bumi ini atas kekuasaanNya.

Pada kedua ayat diatas terdapat kata *dzarrah*, dimana *dzarrah* diartikan sebagai sesuatu materi yang paling kecil. Dalam kamus fisika yang ditulis oleh Drs. Lilik Hidayat (2004) menyatakan bahwa kata *dzarrah* dalam ilmu fisika adalah istilah untuk menunjuk materi yang halus, berupa partikel. Dalam fisika nuklir, *dzarrah* digunakan untuk menunjukkan pengertian bidang atomer, misalnya struktur *dzarrah* yang diakibatkan oleh gerak spin elektron-partikel. Dengan demikian, pada dasarnya *dzarrah* adalah nama lain dari partikel. Pada ayat diatas dijelaskan bahwa *dzarrah* memiliki berat. Dimana dalam hal ini para ilmuwan telah dapat membuktikan bahwa atom memiliki berat dan dapat menentukan berat proton, neutron dan elektron (proton $1,673 \times 10^{-27}$ Kg, neutron $1,675 \times 10^{-27}$ Kg dan elektron $9,109 \times 10^{-31}$ Kg).

Penelitian ini dilakukan sebagai pengetahuan awal mengenai pembuatan vaksin. Bahan vaksin yang digunakan adalah protein isolat bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri merupakan mikroorganisme mikroskopis. Kata *dzarrah* yang berarti sesuatu yang kecil jika dikaitkan dalam kamus biologi bisa didefinisikan sebagai bakteri. Vaksin dibuat dengan tujuan sebagai pencegahan terhadap suatu penyakit. Dalam sebuah hadis Nabi yang diriwayatkan oleh Abu Dawud, Rasulullah bersabda bahwa sesungguhnya Allah menurunkan penyakit dan obat, dan menciptakan obat bagi setiap penyakit, maka berobatlah kalian namun jangan berobat dengan yang haram.

Sisi kemukjizatan dalam hadits Rasulullah Saw. Diatas tampak pada penegasan bahwa dalam kehidupan ini manusia menghadapi berbagai risiko penyakit. Hal ini sudah menjadi karakter dasar manusia. Namun Allah juga tidak akan menurunkan penyakit kecuali dengan obat penawarnya.

Islam mengajarkan umatnya untuk melakukan upaya-upaya pencegahan terhadap penyakit. Salah satunya dengan hidup bersih. Rasulullah mengajarkan kepada kita cara mencegah penyakit yang bersifat *ruhiy tabbudy* (cara-cara spiritual) yaitu dengan senantiasa membaca doa wirid pagi dan sore yang isinya permohonan agar Allah senantiasa memberi kesehatan badan, pendengaran dan penglihatan kita. Kesehatan adalah karunia yang sangat berarti bagi manusia.

Upaya-upaya pencegahan penyakit seperti yang dianjurkan agama, sesungguhnya membuka ruang yang sangat luas terhadap berbagai pilihan-pilihan. Imunisasi adalah salah satu pilihan. Sebab sebagaimana diketahui imunisasi dimaksudkan agar tubuh memiliki kekebalan terhadap jenis-jenis penyakit tertentu. Dengan melakukan cara ini, dimungkinkan seseorang akan kebal terhadap beberapa macam penyakit yang berbahaya. Tujuan imunisasi ini tentu sinkron dengan prinsip-prinsip kesehatan di atas dimana Islam menghendaki umatnya selalu dalam kondisi sehat dan terjauh dari penyakit.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisa dan pembahasan diatas, dapat ditarik kesimpulan antara lain:

- a. Iradiasi sinar gamma dengan dosis rendah dapat menyebabkan kematian bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dibuktikan dari hasil pengujian didapat bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma dapat menurunkan jumlah bakteri hingga dibawah 50%. Dari sini dapat diketahui bahwa iradiasi sinar gamma dapat mempengaruhi viabilitas bakteri *Staphylococcus aureus*.
- b. Sekitar 17 pita protein yang terekspresi dengan rincian 12 pita protein kontrol dan 17 pita protein hasil iradiasi sinar gamma. Hal ini dapat diketahui bahwa protein hasil iradiasi terekspresi lebih banyak dari kontrol. Pita protein tersebut memiliki berat molekul antara 10 kDa hingga 127.07 kDa. Hal ini berarti bahwa protein-protein tersebut berpotensi sebagai bahan vaksin karena memiliki berat molekul diatas 10 kDa. Protein yang paling banyak terekspresi yaitu sekitar 14 pita protein adalah pada lama pemaparan 60 menit dan protein yang terekspresi paling kuat ditandai dengan intensitas warna yang lebih tinggi terdapat pada perlakuan 75 menit dengan berat molekul protein 45,10 kDa.

5.2 Saran

Setelah dilakukan penelitian ini ada beberapa hal yang perlu diperhatikan sebagai saran untuk peneilitian selanjuan, antara lain:

- a. Perlu adanya pemberian variasi dosis sinar gamma dan variasi jarak antar sampel dan sumber.
- b. Perlu dilakukan analisa profil protein dengan metode lain.
- c. Bisa dilakukan uji lanjutan dengan mengujikannya pada hewan coba.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahman, Jumardi. 2015. *LD50 dan ED50*.
<http://jumardiabdurrahman.blogspot.com/2015/02/ld-50-dan-ed-50.html>
(diakses pada tanggal 4 April 2015).
- Akhadi, Mukhlis. 2000. *Dasar-Dasar Proteksi Radiasi*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Alatas, Zubaidah. 2005. *Efek Paparan Radiasi Pada Manusia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Keselamatan Radiasi dan Biomedika Nuklir*. Jakarta: Badan Tenaga Nuklir Nasional.
- Anam, K. 2010. *SDS-PAGE dengan Silver Staining dan Zimogram*. ITB: Bioteknologi Sekolah Pascasarjana.
- Anisahida. 2011. *Bakteri Staphylococcus aureus*.
<http://anisahida.wordpress.com/2011/04/08/bakteri-staphylococcus-aureus>
(diakses pada tanggal 3 April 2015).
- Anonim. 2005. *Nature Reviews Immunology*. Nature Publishing Group.
- Anonim. 2015. *Prinsip-Prinsip Dasar Vaksinasi Pada Ternak*.
<https://www.mankester.files.wordpress.com/2015/02/bab-5-dasar2-vaksinasi-edit1.pdf> (diunduh pada tanggal 12 September 2014).
- Anonim. 2015. *Dilema Haramnya Vaksin Dengan Kandungan Enzim Babi*.
<http://dinimon.com/dilema-haramnya-vaksin-dengan-kandungan-enzim-babi.html> (diakses pada tanggal 27 April 2015).
- Bahraen, dr. Raehanul. 2011. *Pro Kontra Hukum Imunisasi dan Vaksinasi*.
<http://muslim.or.id/fiqh-dan-muamalah.html> (diakses pada tanggal 27 April 2015).
- Baratawidjaja dan Karnen, G. 2004. *Imunologi Dasar Edisi ke-6*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Beiser, Arthur. 1995. *Applied Physics*. New York: McGraw-Hill, Inc.
- Berg, J.M. dkk. 2002. *Biochemistry 5th Edition*. New York: W.H Freeman and Company.
- Biello, D. 2006. *Irradiated pathogens used to create potent vaccine*. Science News, July 26, 2006.
- Bushong, C. S. 2001. *Radiologic Science for technologist Physics, Biology and Protection, 7th Edition*. Washington DC: CV. Mosby Company.

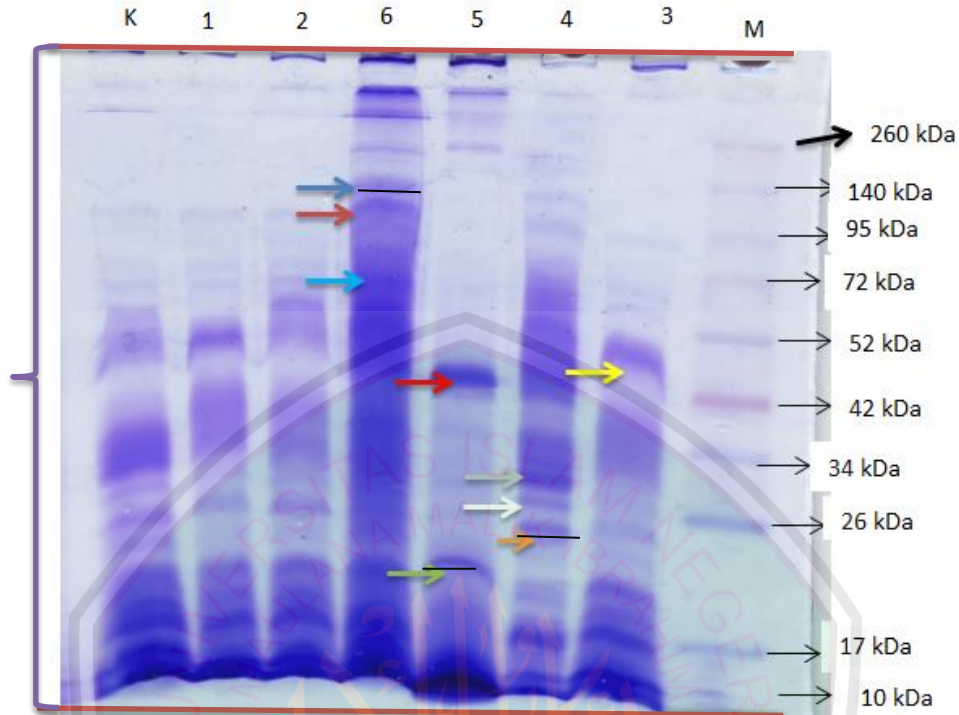
- Danusiri, M. Tanpa Tahun. Pandangan Islam Tentang imunisasi. <http://danusiri.dosen.unimus.ac.id/materi-kuliah/kebidanan/pandangan-islam-tentang-imunisasi/> (diakses 27 April 2015).
- Darussalam, M. 1996. *Radiasi dan Radioisotop Prinsip Kegunaan Dalam Biologi, Kedokteran dan Pertanian*. Bandung: TARSITO.
- Demicheli, M.C. dkk. 2006. *Paracoccidioides Brasiliensis: Attenuation of Yeast Cells by Gamma Irradiation*. *Mycoses*, 49(3): 184-189.
- Freshney, R.I. 2000. *Culture of Animal Cell, fourth edition. A Manual of Basic Technique*. New York: John Wiley and Sons, inc publication.
- Gabriel, J. F. 1996. *Fisika Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Hall, E.J. 1994. *Radiobiology for The Radiobiologist, Lippincott Williams and Walkin*. Philadelphia.
- Hermanto, S. 2003. *Spesifitas dan Sensitifitas Antibodi Anti Erf3 Ragi Saccharomyces cerevisiae*. Bandung: ITB
- Hoffman, S.L. dkk. 2002. *Protection of Humans Against Malaria by Immunization with Radiation-Attenuated Plasmodium falciparum*. *The Journal of Infectious Diseases*, 185: 1155 – 1164.
- Hook, R.H. Green, T.J. and Stuart, M.K. 2003. *Rheumatoid Factor-Like IgM in Plasmodium berghei (Apicomplexa Haemosporida) Infections of Balb /C Mice*. *Folia parasitologica*, 50: 176-182.
- Jaka. Tanpa Tahun. *WHO Batasi Penggunaan Babi untuk Pembuatan Vaksin*. <http://www.scribd.com/doc/62963410/> (diakses pada tanggal 27 April 2015).
- Jawetz, M. and Adelberg's. 2005. *Medical Microbiology, edisi 23*. Penj. Huriwati Hartanto dkk. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kresnawati, Windhi. 2013. *Zaman Pasca Antibiotik (Post Antibiotics Era)*. <http://milissehat.web.id> (diunduh 31 Maret 2015).
- Kusnadi. dkk. 2003. *Pertumbuhan dan Kontrol Bakteri*. http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._BIOLOGI/196805091994031KUSNADI/BUKU_COMMON_TEXT_MIKROBIOLOGI_Kusnadi,dkk/BAB_IV_PERTUMB.BAKTERI.pdf (diakses pada tanggal 3 April 2015).
- Lowy, F.D. 2014. *Staphylococcal Infections In: Harrison's Principles of Internal Medicine, 19th edition*. The McGraw- Hill Companies, Inc., In Press.

- Martin, R. 2006. *Gel Elektroforesis: Nucleid Acid*. Oxford: Bros Scientific Publisher Ltd.
- Medical Research News. 2006. *Using gamma radiation preserves T-cell responses in bacterial vaccine*. <http://www.news-medical.net/news/2006/07/26/19078.aspx> (diunduh pada tanggal 5 Januari 2015).
- Pelczar, Michael J. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI-Press.
- Pelczar, Michael J. 2012. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI-Press.
- Poedjiadi, Anna. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press.
- Pratiwi, R. 2001. *Mengenal Metode Elektroforesis*. <http://www.katalog.pdii.lipi.go.id/index.php/searchkatalog/download/Data/byld/1933/1934.pdf> (diunduh pada tanggal 6 Februari 2015).
- Prieur, Carillo G. dkk. 2003. *Computerized Video Time-Lapse (CVTL) Analysis Of The Fate Of Giant Cells Produced By x-Irradiating EJ30 Human Bladder Carcinoma Cells*. *Radiation Research*, 159: 705-712.
- Prihanto, A.A. 2011. *Teknik Molekuler: Elektroforesis*. <http://www.asep.lecturer.ub.ac.id> (diunduh pada tanggal 15 Desember 2014).
- Prihastanti, E. 1999. *Isolasi Sel Mesofil Daun Pegagan (centella asiatica (l) urban)*. Sellula: MIPA UNDIP Semarang. VII (7).
- Rachmilewitz, D. et al. 2004. *Toll-like Receptor 9 Signaling Mediates The Anti-Inflammatory Effects of Probiotics in Murine Experimental Colitis*. *Gastroenterology*, 126: 520-528.
- Ramamoorthy, D. et al. 2006. *Vaccination with Gamma-Irradiated Neospora Caninum Tachyzoites Protects Mice Against Acute Xchallenge With N.caninum, J. Eukaryot. Microbiaol.* 53(2): pp.151-156.
- Redaksi. 2015. *Vakin Halalkah?*. <http://www.motherandbaby.co.id/> (diakses pada tanggal 27 April 2015).
- Sabiston, David C. 1995. *Sabiston's Essentials Surgery*. Penj. Petrus Andrianto dan Timan I. S. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Sani, Sjahrin. 2013. *Penggunaan Radioisotop*. <http://auliyaberbagi.blogspot.com/2013/12/penggunaan-radioisotop.html> (diakses pada tanggal 4 April 2015).

- Scorvia, Imelda. 2000. *How Vaccine Work*.
<http://www.mayoclinic.com/invoke.cfm> (diunduh pada tanggal 22 September 2014).
- Smeltzer, Suzanne C. dan Bare, Brenda G. 2002. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah Brunner dan Suddarth (Ed.8, Vol. 1,2)*. Penj. Agung Waluyo, dkk. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Smith, N.C. 1992. *Concepts and Strategies for Anti-Parasite Immunoprophylaxis and Therapy*. Int. J. For Parasite, 22: 1047.
- Steward C, Bushong. 2001. *Radiologic Science for Technologists: Physics, Biology, and Protection*. St. Louis: Mosby, Inc.
- Sudjadi. 2008. *Bioteknologi Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Syaifudin, Mukh. Dkk. 2008. *Pengembangan Vaksin Malaria Dengan Radiasi Pengion*. Jakarta: Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN) .
- Tetrianana, D dan Sugoro, I. 2007. *Aplikasi Teknik Nuklir dalam Bidang Vaksin*. Buletin ALARA Vol. 2.
- Tuasikal, B.J. dkk. 2003. *Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma pada Pertumbuhan Streptococcus agalactiae sebagai Bahan Vaksin Penyakit Mastitis pada Sapi Perah*. Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia PATIR-BATAN(IV): 137-149.
- Tuasikal, B. J. 2006. *Instruksi Patologi Anatomi Laboratorium Kesehatan dan Reproduksi Ternak*. Jakarta: PATIR-BATAN.
- Windusari, Yuanita. dkk. 2014. *Iradiasi Sinar Gamma Untuk Menentukan Nilai LD₅₀ Staphylococcus aureus Sebagai Upaya Awal Pembuatan Vaksin Mastitis*. Jakarta: PATIR-BATAN.
- Young, B.A. 1981. *Nuclear techniques in animal agriculture*. IAEA Bulletin 23, p. 47.
- Yudi, 2008. *Interaksi Radiasi Nuklir*. Jakarta: Pusat Diseminasi IPTEK Nuklir (PDIN).
- Yuwono, Triwibowo. 2008. *Biologi Molekuler*. Jakarta: Erlangga.

Lampiran 1

Perhitungan BM protein yang terekspresi



Langkah-langkah menghitung BM protein yang terekspresi antara BM 26 kDa sampai 17 kDa (panah berwarna *orange* dan *hijau*), antara lain :

1. Buat garis lurus secara horizontal pada batas atas dan bawah (lihat garis horizontal berwarna merah muda pada batas atas dan bawah)
2. Diukur panjang gel keseluruhan dari atas sampai bawah (mm)
3. Ditandai pada pita protein yang akan dihitung BM nya (lihat garis warna hitam)
4. Dihitung pada Ms. Excel

	A	B	C	D
1	Bm	log BM	Tracking	Rf
2	26	1,41	41,00	0,71
3	17	1,23	52,00	0,90
4	25,01		42,00	0,72
5	21,43		46,00	0,79
6				
7	X1	0,91	0,18	1,40
8	X2	0,55	0,18	1,33
9			0,18	1,23

Keterangan :

- BM = Berat Molekul
- Tracking = panjang pita dari gel paling atas sampai pita protein yang akan dihitung BM nya
- R_f = Tracking:panjang gel keseluruhan
- Pada sel A2 merupakan marker yang sudah diketahui berat molekulnya
- Pada sel C2 merupakan panjang dari batas paling atas dengan pita marker BM 26 kDa
- Pada sel D2 merupakan Tracking (C2) : panjang gel keseluruhan
- Pada sel A3 merupakan marker yang sudah diketahui berat molekulnya
- Pada sel C3 merupakan panjang dari batas paling atas dengan pita marker dengan BM 17 kDa
- Pada sel D3 merupakan Tracking (C3) :panjang gel keseluruhan

Selanjutnya kita cari BM protein yang terkespresi diantara BM marker 26 kDa dan 17 kDa

- Sel C4 merupakan panjang dari batas paling atas dengan pita protein yang diberi tanda panah berwarna orange
- Sel D4 merupakan Tracking (C4) :panjang gel keseluruhan
- Sel B7 bisa didapat dengan menggunakan rumus :
$$\frac{(R_{f\text{kecil}} - R_{f\text{sampel}})}{(R_{f\text{kecil}} - R_{f\text{besar}})}$$
- Sel C7 bisa didapat dengan menggunakan rumus :
$$\log BM \text{ besar} - \log BM \text{ kecil}$$
- Sel D7 bisa didapat dengan menggunakan rumus :
$$\log BM \text{ sampel} = \left(\frac{R_{f \text{ kecil}} - R_{f \text{ sampel}}}{R_{f \text{ kecil}} - R_{f \text{ besar}}} \right) \times (\log BM \text{ besar} - \log BM \text{ kecil}) + \log BM \text{ kecil}$$
- Kemudian bisa dicari BM pada sampel yang terdapat pada sel A4 menggunakan rumus antilog BM sampel

Lampiran 3

Hasil Pengujian SPSS Normalitas dan ANOVA

Tests of Normality

lama pemaparan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
viabilitas kontrol	.243	3	.	.972	3	.679
15 menit	.269	3	.	.949	3	.567
30 menit	.175	3	.	1.000	3	1.000
45 menit	.358	3	.	.812	3	.144
60 menit	.253	3	.	.964	3	.637
75 menit	.349	3	.	.832	3	.194
90 menit	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

ANOVA

viabilitas	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	143035.619	6	23839.270	547.729	.000
Within Groups	609.333	14	43.524		
Total	143644.952	20			

Lampiran 4

Dokumentasi Penelitian



Hasil peremajaan bakteri
S.aureus



Pembuatan media NA



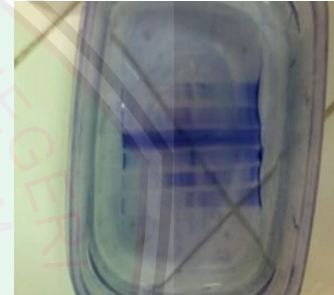
Bahan untuk uji
pewarnaan gram



Sampel ketika
dipapari iradiasi sinar



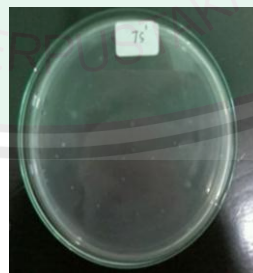
Running
elektroforesis SDS-
PAGE



Pita protein yang
terbentuk pada gel



Persiapan sampel untuk
diinkubasi pada
inkubator shaker



Hasil penanaman bakteri
pada media NA dengan
metode *pour plate*



Proses scan