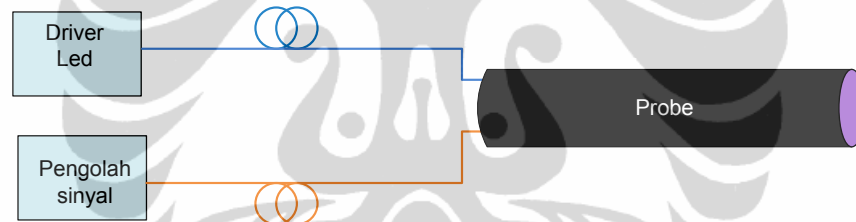


BAB 4 PERANCANGAN PERANGKAT OPTIK UNTUK MENGUKUR KOSENTRASI FITOPLANKTON

4.1 Komponen Perangkat Pengukuran

Pada bab ini dirancang probe untuk mengukur konsentrasi fitolankton yang terlarut dalam medium cair dengan menggunakan metode fluoresensi. Perangkat terdiri dari probe, pengolah sinyal, dan rangkaian driver. Probe terdiri dari sumber cahaya dan detektor yang diletakan berdekatan untuk mendapatkan intensitas fluoresensi yang maksimal. Perangkat diinginkan bersifat *portable* dan mudah digunakan di lapangan, karena itu probe ditempatkan terpisah dari rangkaian driver dan pengolah sinyal. Ketiga bagian ini dihubungkan dengan kabel seperti terlihat pada Gambar 4.1. Probe dapat dicelupkan ke dalam medium cair dan dihadapkan ke berbagai arah yang berbeda atau dipindahkan.



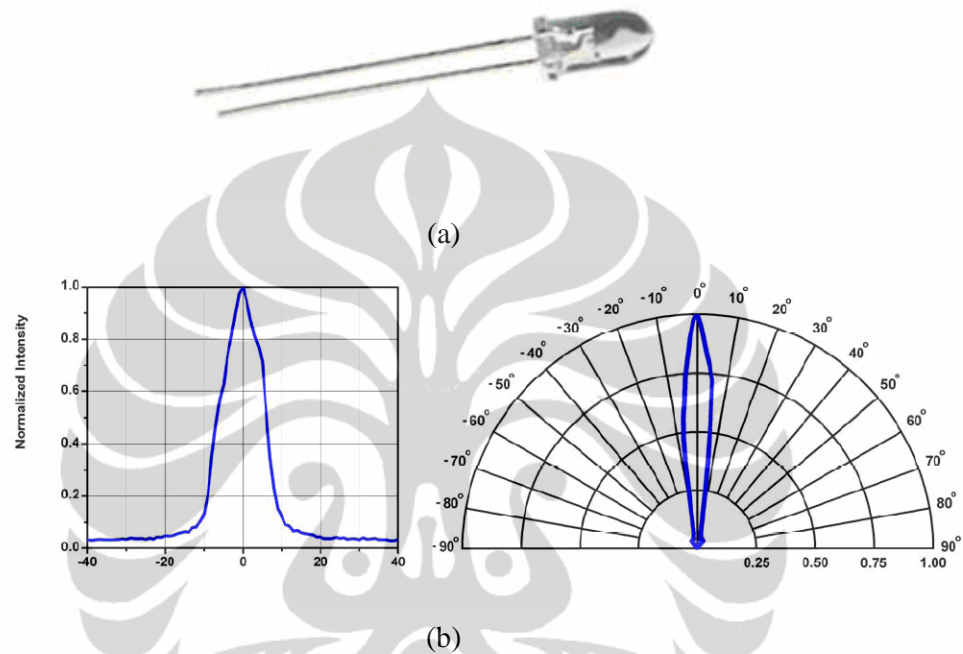
Gambar 4.1. Blok diagram perangkat pengukur konsentrasi fitoplankton.

4.1.1 Sumber Cahaya

Berdasarkan spektrum absorbansi yang diperoleh dari hasil uji *Scenedesmus sp.* Untuk dapat menghasilkan cahaya yang mampu mengeksitasi fitoplankton digunakan satu buah dioda *LED 405E* (Thorlabs). Pemilihan sumber cahaya *LED* selain bentuknya yang kompak juga harganya lebih murah dibanding dengan laser diode. Bentuk fisik dan spesifikasi *LED* yang digunakan seperti ditunjukkan pada Gambar 4.2, sebagai berikut :

- Panjang gelombang pusat = 405 nm \pm 10 nm
- FWHM = 15 nm
- Sudut luminasi (Near Field Pattern) = 5°
- Daya optik total = 10 mW pada 20mA
- Disipasi daya maksimum = 120 mWatt

- Tegangan maju = 3.8V
- Tegangan mundur = 5V
- Rentang injeksi arus maksimum = 30 mA
- Suhu kerja = -30°C – 80°C



Gambar 4.2 a. Bentuk fisik LED405E Thorlabs.

b. Arah distribusi intensitas LED405E Thorlabs

4.1.2 Fotodiode

Berdasarkan karakteristik fluoresensi *Scenedesmus sp* diperoleh spektrum yang dominan pada panjang gelombang 685 nm. Untuk dapat mendeteksi cahaya fluoresensi yang dihasilkan oleh fitoplankton digunakan sebuah fotodiode. Pada riset ini fotodiode yang digunakan jenis PIN dari bahan Si tipe FDS100 buatan Thorlabs. Seperti terlihat pada gambar 4.3, fotodiode ini memiliki respon spektrum 350 – 1100 nm dan digunakan sebagai detektor cahaya yang dikerjakan dalam moda foto konduktif dan dirangkai dengan sebuah penguat operasional (*Op-Amp*). Penggunaan *Op-Amp* dengan tujuan agar diperoleh tingkat sensitivitas yang tinggi untuk mendeteksi sinyal berintensitas cahaya yang rendah. Karakteristik fotodiode FDS100 adalah sebagai berikut:

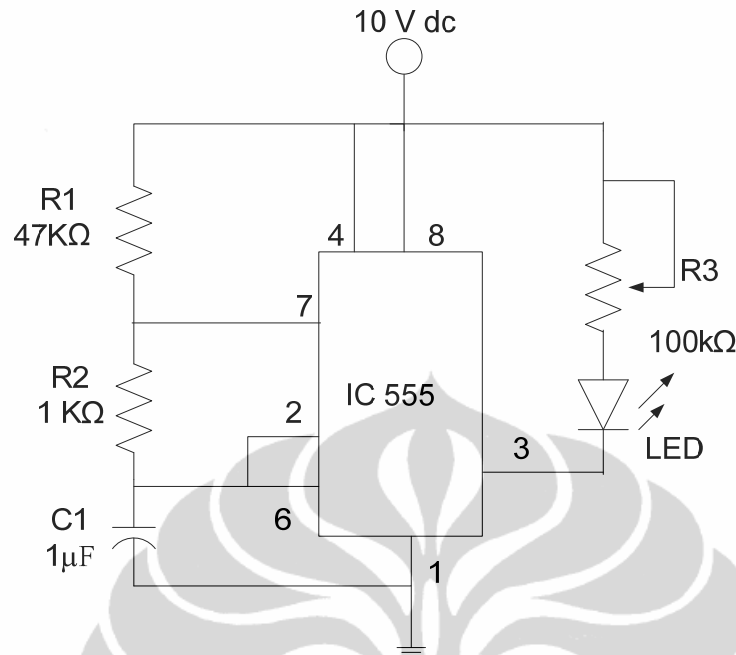
- Area aktif = 13,0 mm²
- Tegangan bias maksimal = 25V
- *Risetime* = 10ns
- *Falltime* = 10ns
- *NEP* pada 900nm = 1,2 x 10⁻¹⁴ W/(Hz)⁻² pada V_{bias} 20V
- *Dark current* = 20nA (maksimal) pada V_{bias} 20V
- Ambang daya maksimal (CW) = 100mW/cm³
- Ambang daya maksimal (pulsa 10ns) = 500mW/cm³

Gambar 4.3. Fotodiode FDS100.

4.1.3 *Driver LED*

Di dalam proses pengukuran, fotodiode berfungsi menerima cahaya flouresensi yang diakibatkan oleh cahaya yang datang dari *LED*. Tetapi pada kenyataannya, terdapat cahaya yang datang dari sumber lain seperti hamburan. Untuk mengatasi hal tersebut didalam proses pengukuran ini, cahaya yang dipancarkan oleh *LED* harus dapat dibedakan dan dideteksi tersendiri. Karena itu digunakan sebuah metode dengan cara menumpangkan sinyal modulasi amplitudo pada cahaya yang dipancarkan *LED*. Pada realisasinya, dirancang sebuah rangkaian *driver LED* yang berfungsi untuk menginjeksikan arus kedalam *LED* dengan karakteristik sebagai berikut:

- Rentang arus injeksi : 0 – 50 mA
- Kestabilan arus : 0,1 mA/h
- Rentang tegangan catu : 6 – 12V
- Frekuensi Modulasi : 625 Hz.



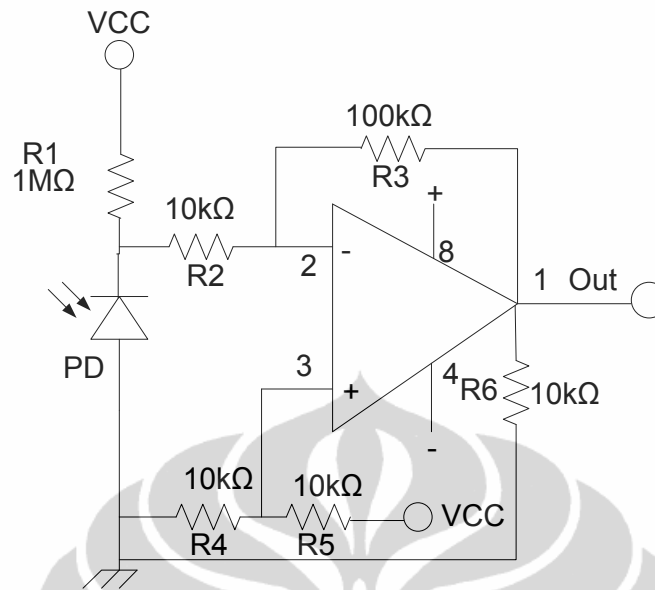
Gambar 4.4. Rangkaian Driver LED

Rangkaian *Driver LED* terlihat pada gambar 4.4 menggunakan IC 555 sebagai oscillator pembangkit gelombang segi empat dengan frekuensi sebesar 625 Hz. Besar frekuensi ditentukan oleh komponen R_1 , R_2 dan C_1 mengikuti persamaan 4.1 dibawah ini.

$$f = \frac{1.44}{C_1(R_1 + 2R_2)} \dots\dots\dots(4.1)$$

4.1.4 Penguat Dan Pengolah Sinyal Analog

Sinyal keluaran fotodiode sangat kecil, yaitu dalam orde μV . Karena itu dibutuhkan sebuah rangkaian penguat sinyal (*pre-amplifier*) sehingga diperoleh sinyal yang dapat dengan mudah untuk diproses selanjutnya. Sebuah penguat *Operational Amplifier* IC LM358 dipilih untuk maksud ini dengan pertimbangan bahwa karakteristiknya sudah memenuhi kebutuhan seperti terlihat pada gambar 4.5. dibawah ini.



Gambar 4.5. Rangkaian Penerima Fotodiode

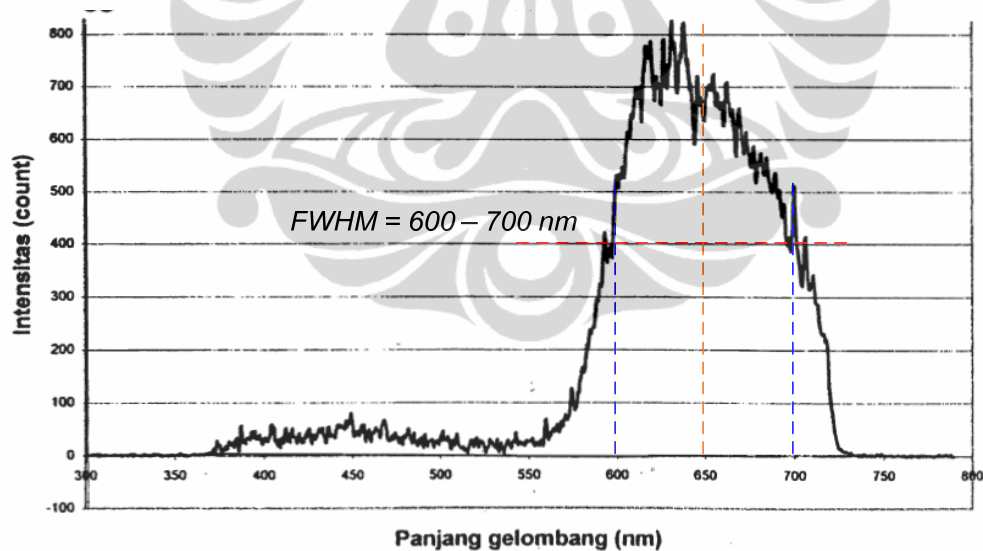
Penguat awal tersebut menggunakan moda fotokonduktif dalam integrasinya dengan fotodiode. Dalam moda tersebut fotodiode mendapatkan tegangan catu forward bias dari VCC. Dengan kondisi tersebut pada katoda dan anoda telah terjadi transport electron dan hole, dan disebut sebagai respon *DC* namun demikian mekanisme penguatan di *Op-Amp* belumlah terjadi. Mekanisme penguatan terjadi ketika *Op-Amp* mendapat inputan sinyal analog dari fotodiode. Pada saat arus gelap (*dark current*) fotodiode tidak berada dalam kondisi merespon sinyal cahaya fluoresensi. Pada saat menerima sinyal fluoresensi maka terjadi modulasi arus (konversi foton menjadi hole) yang selanjutnya akan diteruskan menuju ke input inverting *Op-Amp*. Fungsi R2 dalam rangkaian di atas adalah sebagai penapis arus DC agar tidak masuk ke dalam *Op-Amp* sehingga arus yang masuk ke input *Op-Amp* adalah murni sinyal cahaya fluoresensi yang telah termodulasi menjadi sinyal analog. Sedangkan input non-inverting akan menerima sinyal masukan dari anoda fotodiode, di mana dengan cara demikian maka di dalam *Op-Amp* tegangan yang diperkuat akan dibandingkan dengan tegangan penguatan dari input inverting setelah mengalami factor penguatan sebesar R_3/R_2 .

4.1.5 Wadah Ukur

Seperti telah dijelaskan sebelumnya bahwa *probe* optik bersifat *portable* dan mudah dipindahkan. Pada prinsipnya bahan dan bentuk wadah tidaklah menentukan hasil sejauh dapat diposisikan dalam meja ukur dan bersifat stabil. Wadah ukur dapat terbuat dari bahan apa saja. Namun agar dapat memonitor posisi titik fokus dan intensitas fluoresensi maka pada penelitian ini digunakan wadah ukur dari bahan mika transparan untuk menempatkan kultur *Scenedesmus* sp. Wadah ukur memiliki kapasitas volume 100 ml dengan dimensi $4 \times 4 \times 7 \text{ cm}^2$.

4.1.6 Filter Optik

Untuk menghindari ikut terdeteksinya cahaya selain cahaya fluoresensi digunakan filter optik yang hanya dapat melalui cahaya fluoresensi. Filter yang digunakan terbuat dari plastik dengan respon transmisi spektrumnya 600 – 730 nm [17]. Filter dipasang menempel pada permukaan fotodiode dan dilindungi oleh kaca untuk menghindari kontak langsung dengan air kultur.

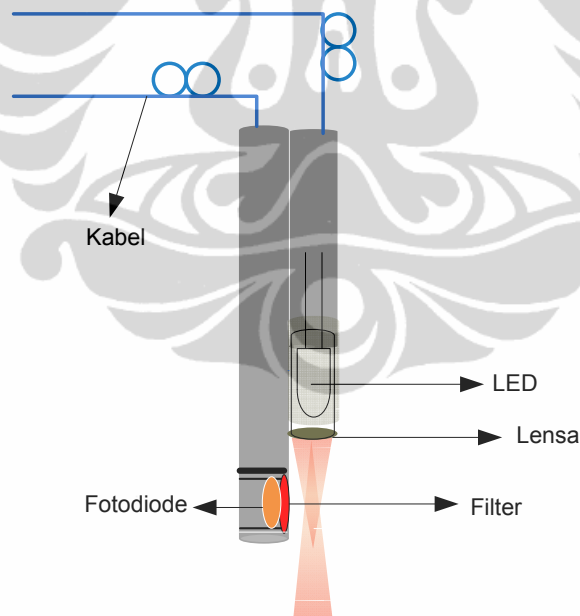


Gambar 4.6. Spektrum dari filter optik yang digunakan

4.2 Perancangan dan Pembuatan *Probe* Optik

Dengan melibatkan bagian-bagian yang telah dijelaskan sebelumnya, susunan set up optik (*probe*) seperti ditunjukkan pada Gambar 4.7. Sebelum menuju wadah ukur berkas cahaya *LED* difokuskan oleh lensa $d = 3 \text{ mm}$, $f = 10$

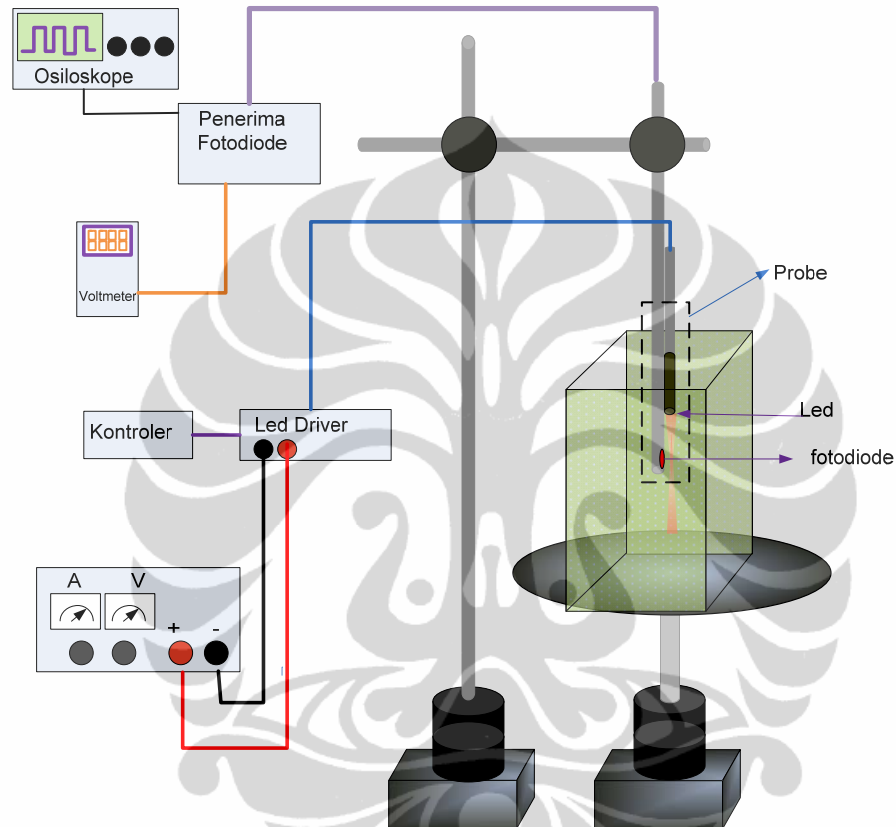
mm yang berada dalam selongsong. Selongsong terbuat dari bahan plastik dan mempunyai ukuran disesuaikan dengan diameter *LED* untuk mengeksitasi fitoplankton, sedangkan fotodiode digunakan untuk mendeteksi intensitas fluoresensi. Fotodiode dipasangkan tegak lurus terhadap arah perjalanan cahaya di dalam wadah ukur, menghadap daerah fokus cahaya eksitasi. Fotodiode dilindungi dengan filter merah berbahan dasar plastik kemudian dilapisi dengan kaca untuk menghindari kontak langsung dengan air. Posisi ini dimaksudkan agar intensitas fluoresensi maksimum dapat terdeteksi dan untuk menghindari pelemahan cahaya fluoresensi yang diakibatkan oleh absorpsi cahaya ketika menuju fotodiode. *Power supply* ditala pada rentang 9 – 10 V untuk menyalakan *LED*. Pada rentang tegangan ini, energi cahaya yang bisa dipergunakan untuk mengeksitasi adalah 0 – 20 mJ, sedangkan frekuensi modulasi yang dihasilkan oleh *LED Driver* sebesar 625 Hz. Hasil pendeteksian intensitas fluoresensi selanjutnya diumpangkan ke *pre-amplifier* dan diukur tegangannya oleh Voltmeter.



Gambar 4.7. Probe optik

Untuk mengamati sinyal keluaran yang dihasilkan oleh *pre-amplifier/receiver* digunakan osiloskop. Pada osiloskop dapat diamati sinyal

cahaya fluoresensi yang telah dikuatkan selain itu pula dapat dilihat respon cahaya fluoresensi dalam orde frekuensi modulasi pengeksitasi. Informasi respon frekuensi cahaya fluoresensi ini difungsikan sebagai indikator kestabilan emisi cahaya eksitasi.



Gambar 4.8. Set up eksperimen

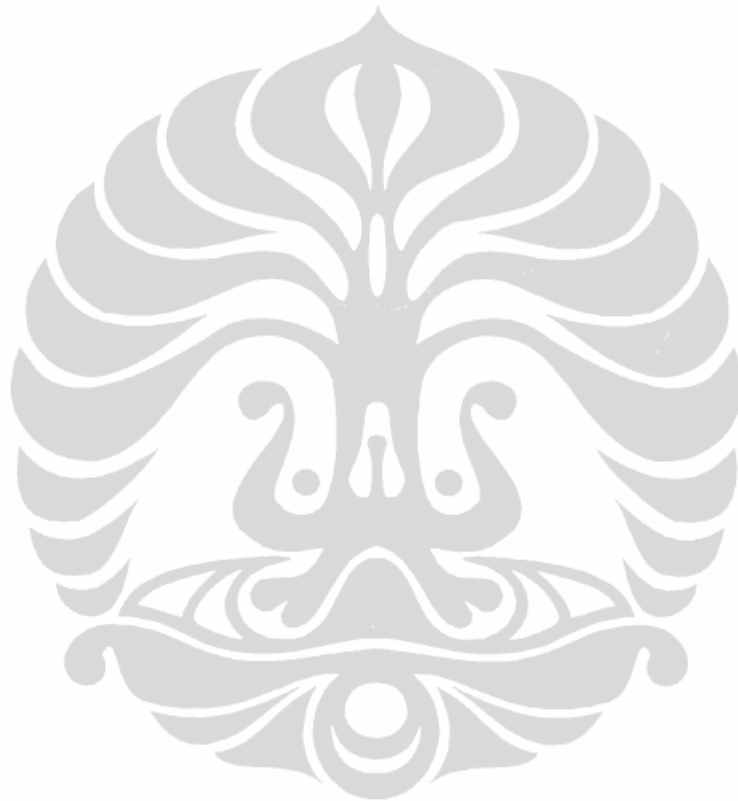
Hal utama yang perlu diperhatikan pada perangkat detektor (fotodiode, dan *pre-amplifier*, Gambar 4.8) adalah mengkarakterisasi kondisi *dark current*, yaitu arus yang dikeluarkan oleh detektor saat tidak menerima berkas cahaya (kondisi gelap). Pada kondisi ini sedapat mungkin diperoleh keluaran 0 mA. Sehingga variasi tegangan dari detektor ketika mengukur intensitas fluoresensi merupakan tegangan murni hasil pendeteksian intensitas fluoresensi.

Penguatan *pre amplifier* diperoleh dari perbandingan besar tahanan R_3 yang berfungsi sebagai tahanan umpan balik dengan tahanan input R_2 yang

disebut sebagai faktor penguatan. Dengan memilih tahanan R_3 sebesar 10^5 ohm, dan R_2 sebesar 10^4 ohm akan di dapat penguatan sebesar 10 kali dan diperoleh sinyal keluaran dalam orde milivolt hingga volt. Besarnya faktor penguatan yang merupakan fungsi dari R_2 dan R_3 dapat ditulis dalam persamaan 4.2 dan 4.3.

$$V_{out} = (R_3/R_2) V_{in} \dots\dots\dots(4.2)$$

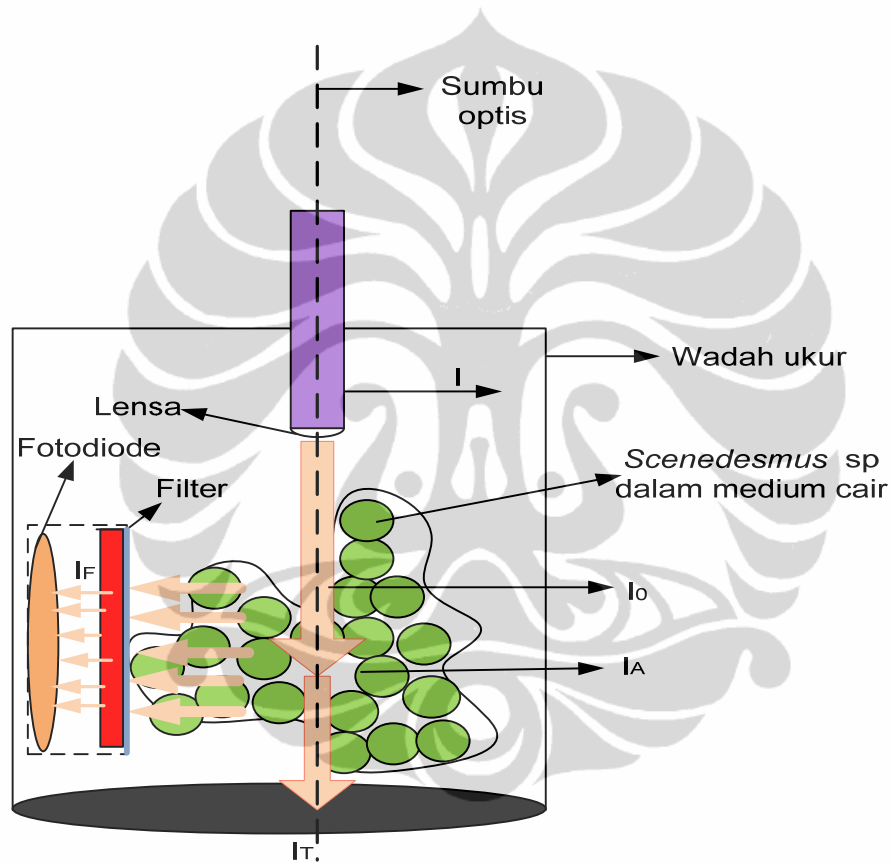
$$V_{out} = 10^5 \cdot i_{fd} \dots\dots\dots(4.3)$$



BAB 5 PENGUKURAN KONSENTRASI *Scenedesmus* sp

5.1 Perumusan Besaran Cahaya Konfigurasi Perangkat

Berdasarkan penurunan rumus pada Bab 2.2 dilakukan analisa lintasan optik sinar fluoresensi dari konfigurasi *set up* perangkat yang dirancang (Gambar 5.1).



Gambar 5.1. Diagram lintasan optik sinar LED

Sebelum menuju kultur, keluaran cahaya LED (405 nm) difokuskan oleh lensa. Cahaya yang telah difokuskan oleh lensa (I₀) akan mengenai kultur, dimana sebagian cahaya akan diserap (I_A) dan sebagian lagi diteruskan (I_T). Cahaya eksitasi mengenai pigmen-pigmen yang terdapat dalam fitoplankton dan menimbulkan cahaya fluoresensi. Intensitas cahaya fluoresensi yang dihasilkan akan menuju filter kemudian dideteksi oleh fotodiode (I_F). Jejak lintasan optik sesuai perumusan *Beer-Lambert* dapat dituliskan sebagai berikut:

$$I_T = I_0 \exp[-N.a.\alpha_{af}.l] \dots \dots \dots (5.1)$$

Intensitas cahaya yang diserap dapat dituliskan:

$$I_A = I_0 - I_T \dots \dots \dots (5.2)$$

Dengan mensubstitusikan persamaan 5.1 ke dalam persamaan 5.2 maka persamaan 5.2 menjadi:

$$I_A = I_0 (1 - \exp[-N.a.\alpha_{af}.l]) \dots \dots \dots (5.3)$$

Selanjutnya persamaan 5.4 disederhanakan dengan menggunakan pendekatan deret Mc Laurin:

$$f(x) = f(0) + x f'(0) + \frac{x^2}{2!} f''(0) + \frac{x^3}{3!} f'''(0) \dots \dots \dots (5.4)$$

Dengan mengasumsikan variabel-variabel a , α_{af} dan l , tetap sedangkan N sebagai variabel yang berubah-ubah nilainya maka fungsi $f(x)$ merupakan fungsi terhadap N dengan N sebagai x ditulis $f(N)$:

$$f(x) = f(N) = \exp(-Nal\alpha_{af}) \dots \dots \dots (5.5)$$

Nilai fungsi $f(N)$ dengan $N = 0$ diperoleh:

$$f(0) = \exp(-0) = 1 \dots \dots \dots (5.6)$$

Turunan pertama dari fungsi $f(x)$ untuk $N = 0$ diperoleh:

$$f'(N) = -a\alpha_{af} \cdot \exp(-Nal\alpha_{af}) \dots \dots \dots (5.7)$$

$$f'(0) = -a\alpha_{af} \dots \dots \dots (5.8)$$

Turunan kedua dari fungsi $f(x)$ diperoleh:

$$f''(N) = a^2 l^2 \alpha_{af}^2 \exp(-N.a.l.\alpha_{af}) \dots \dots \dots (5.9)$$

Pendekatan yang dilakukan hanya mengambil dua suku pertama dan dengan memasukan nilai-nilai yang diperoleh dari persamaan 5.6 dan persamaan 5.8 ke dalam persamaan 5.4 dengan $x = N$ di dapatkan:

$$f(N) = \exp(-Nal\alpha_{af}) = 1 - Nal\alpha_{af} \dots \dots \dots (5.10)$$

sehingga persamaan 5.4 menjadi:

$$I_A = I_0 \cdot Nal\alpha_{af} \dots \dots \dots (5.11)$$

Telah diturunkan pada Bab 2.2. bahwa intensitas fluoresensi, I_F sebanding dengan intensitas sinar *LED* yang terabsorpsi oleh kultur dan mengalami konversi emisi

fluoresensi oleh faktor Φ_F serta analisis jejak lintasan cahaya fluoresensi, I_F dapat dinyatakan dalam bentuk sebagai berikut:

$$I_F = k \cdot \Phi_F \cdot T_K \cdot T_{FO} \cdot I_A \dots \dots \dots (5.12)$$

Dimana T_K adalah faktor transmitansi dari kaca yang menempel pada filter dan T_{FO} adalah faktor transmitansi dari filter optik. Dengan mensubstitusikan persamaan 5.11 ke persamaan 5.12, diperoleh:

$$I_F = k \cdot \Phi_F \cdot T_K \cdot T_{FO} \cdot I_0 \cdot N \cdot a \cdot \alpha_{af} \dots \dots \dots (5.13)$$

Dengan membandingkan intensitas fluoresensi terhadap intensitas cahaya keluaran *LED*, diperoleh intensitas ternormalisasi:

$$\frac{I_F}{I_0} = k \cdot \Phi_F \cdot T_K \cdot T_{FO} \cdot I_0 \cdot N \cdot a \cdot \alpha_{af} \cdot l \dots \dots \dots (5.14)$$

Semua konstanta yang dilibatkan dalam eksperimen merupakan nilai konstan kecuali faktor konsentrasi kultur N , sehingga persamaan 5.14 menjadi:

$$\frac{I_F}{I_0} = K \cdot N \dots \dots \dots (5.15)$$

Dengan $K = k \cdot \Phi_F \cdot T_K \cdot T_{FO} \cdot I_0 \cdot N \cdot a \cdot \alpha_{af} \cdot l$

dimana :

- I_0 = intensitas cahaya *LED* tepat di permukaan lensa
- I_A = intensitas cahaya *LED* yang diserap oleh kultur fitoplankton
- I_T = intensitas cahaya *LED* yang diteruskan oleh kultur (tidak terserap oleh kultur fitoplankton)
- I_F = intensitas cahaya fluoresensi yang ditransmisikan menuju kaca dan filter optik untuk diteruskan menuju detektor.
- l = panjang lintasan optik yang dilewati oleh sumber cahaya (m)
- N = konsentrasi partikel (partikel/L)
- k = konstanta fluoresensi, yang besarnya tergantung pada setup optis antara detektor dengan berkas fluoresensi.
- a = luasan berkas cahaya eksitasi yang melewati partikel-partikel dalam medium (m²)
- T_L = faktor transmitansi dari lensa
- T_{FO} = faktor transmitansi dari filter optik
- α_{af} = adalah faktor atenuasi dari air dan fitoplankton

Dari persamaan 5.15 menyatakan bahwa intensitas ternormalisasi merupakan fungsi dari N yang besarnya tergantung pada faktor pengali K . Harga K berdasarkan konstanta-konstanta komponen dan jenis fitoplankton yang digunakan. Hubungan intensitas fluoresensi ternormalisasi dengan konsentrasi N berbanding linier, yaitu intensitas akan naik dengan meningkatnya konsentrasi sel, demikian sebaliknya.

5.2 Pengukuran Konsentrasi *Scenedesmus* sp.

Pengukuran konsentrasi *Scenedesmus* sp. dengan menggunakan perangkat seperti pada Gambar 4.8 dilakukan sebanyak lima kali dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi, dan sebaliknya pengukuran diulang dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil pengukuran kemudian dirata-ratakan dan ditampilkan dalam bentuk grafik. Pengukuran dilakukan untuk skala laboratorium dengan rentang konsentrasi yang umum terdapat di alam dan budidaya kultur. Variasi konsentrasi *Scenedesmus* sp. dilakukan dengan teknik pengenceran bertingkat dan dihitung dengan *hemacytometer improve neubaver*. Rentang konsentrasi kultur dalam wadah dari 10^2 sel/ml sampai dengan 10^6 sel/ml. Pengukuran intensitas fluoresensi dilakukan dalam ruangan gelap untuk menghindari pengaruh cahaya luar. Pengukuran dilakukan dengan cara mencelupkan *probe* optik ke dalam wadah kultur *Scenedesmus* sp. dengan konsentrasi yang telah diketahui, kemudian intensitas fluoresensi yang ekuivalen dengan tegangan output/keluaran diukur melalui pembacaan tegangan keluaran rangkaian penerima (*receiver*). Untuk menghindari pengaruh fluktuasi tegangan listrik, tegangan terukur dinormalisasi terhadap tegangan rangkaian

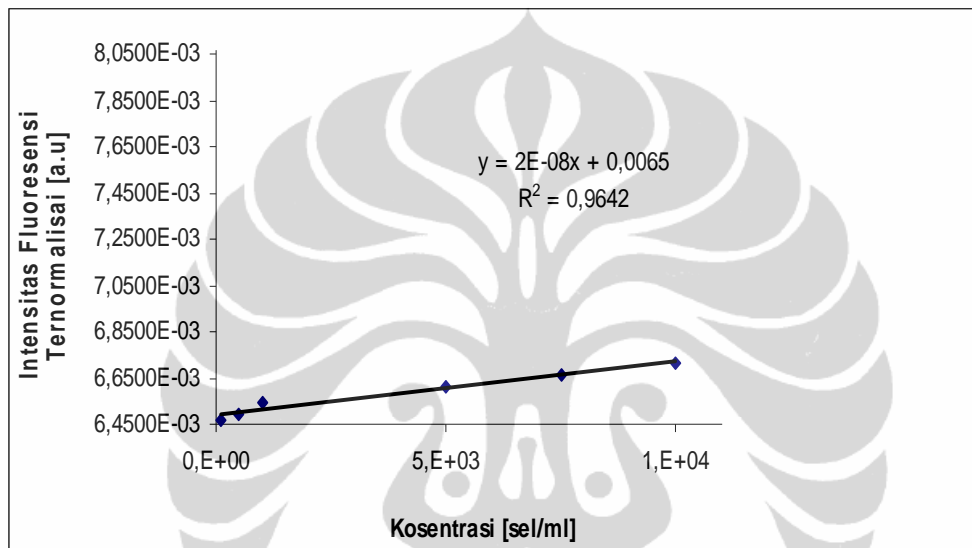
5.3 Hasil Pengukuran Konsentrasi *Scenedesmus* sp.

Selanjutnya, hasil pengukuran yang mewakili intensitas fluoresensi dan intensitas cahaya sebelum menembus kultur untuk setiap konsentrasi (10^2 sampai dengan 10^6 sel/ml) pada suhu kamar 26°C diolah dan disajikan dalam bentuk grafik Gambar 5.2 a dan b. Pada grafik a hasil pengukuran *Scenedesmus* sp dari 10^2 sampai dengan 1×10^4 sel/ml dan pada grafik b hasil pengukuran *Scenedesmus* sp dari 5×10^4 sampai dengan 1×10^6 sel/ml.

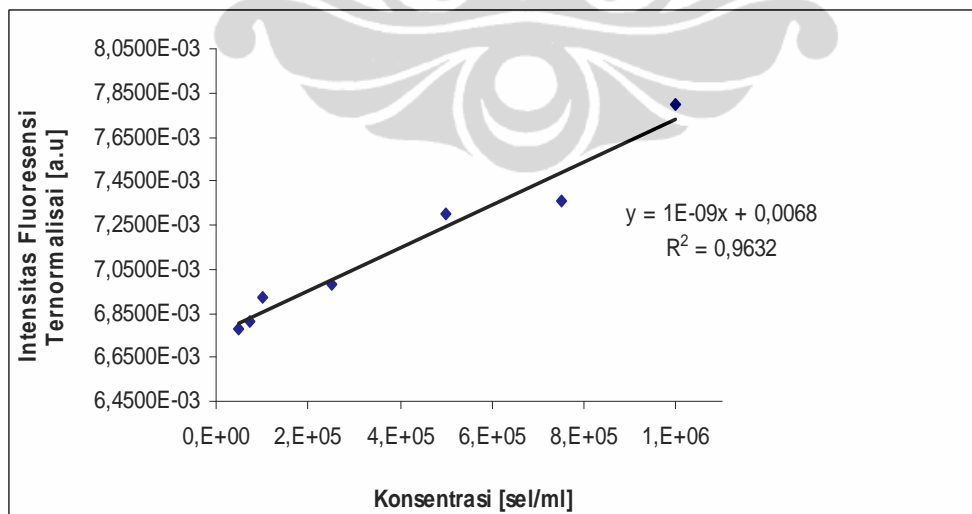
Dari hasil pengukuran Gambar 5.2 (a) konsentrasi 10^2 - 10^4 sel/ml, diketahui bahwa intensitas ternormalisasi meningkat secara linier seiring dengan peningkatan konsentrasi sel *Scenedesmus* sp. Gradien pada rentang 10^2 sampai

dengan 10^4 sel/ml adalah 2×10^{-8} dan nilai penyimpangan standardnya (R^2) adalah 0,9642. Sedangkan untuk Gambar 5.2 (b) gradien pada rentang $5 \times 10^4 - 10^6$ sel/ml adalah 1×10^{-9} dan nilai penyimpangan standardnya (R^2) adalah 0,9632.

Hasil ini menunjukkan bahwa untuk rentang konsentrasi yang tinggi ($5 \times 10^4 - 10^6$ sel/ml) gradien kurva yang dihasilkan relatif lebih kecil dibandingkan dengan rentang konsentrasi rendah ($10^2 - 10^4$ sel/ml) disebabkan pengaruh reabsorpsi oleh fitoplankton.



(a)



(b)

Gambar 5.2. Pengaruh konsentrasi *Scenedesmus* sp terhadap Intensitas fluoresensi.

(a.) konsentrasi 0 - 10^4 sel/ml

(b.) konsentrasi $5 \times 10^4 - 10^6$ sel/ml

Dapat dilihat dari Gambar 5.2. bahwa intensitas fluoresensi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi sel *Scenedesmus* sp. Hasil ini menunjukkan adanya kesesuaian dengan teori [Persamaan 5.15].

