

BAB V ANALISIS DATA DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Pengukuran Intensitas Fluoresensi

Pengukuran intensitas fluoresensi dilakukan dengan cara membandingkan antara intensitas cahaya fluoresensi dari kultur dengan intensitas eksitasi laser yang datang. Dimana dalam konfigurasi perangkat, intensitas eksitasi yang datang tersebut diwakili oleh berkas referensi, I_{Ref} . Hasil perbandingan tersebut disebut intensitas fluoresensi ternormalisasi dalam satuan $a.u.$ Dimana pada konfigurasi perangkat, intensitas eksitasi laser diukur oleh *pre-amplifier II* dan intensitas cahaya fluoresensi diukur oleh *pre-amplifier I*. Hasil pengukuran *pre-amplifier I* adalah berupa tegangan dalam orde $mV - V$. Sebelumnya tegangan keluaran dari kedua *pre-amplifier* tersebut telah diuji kelinieritasannya.

Untuk menghindari pengaruh cahaya luar (sumber cahaya yang tidak digunakan dalam set up optis), pengukuran intensitas fluoresensi dilakukan dalam kondisi ruangan yang gelap. Pada kondisi gelap tersebut yang pertama diukur adalah I_{dark} , *dark current* yakni besarnya arus yang muncul dari detektor sebagai akibat dari pengaruh suhu ruangan dan respon elektronik rangkaian *pre-amplifier*. Besaran *dark current* tersebut diukur dalam dimensi tegangan yang selanjutnya disebut sebagai V_{dark} .

Untuk mengetahui besarnya intensitas fluoresensi ternormalisasi (I_F/I_{Ref}), dianggap bahwa besaran intensitas cahaya adalah proporsional dengan besarnya tegangan yang diukur dari perangkat *pre-amplifier*. I_{Ref} dalam eksperimen diperoleh dari V_{out} *pre-amplifier II* dan I_F diperoleh dari keluaran *pre-amplifier I*. I_F merupakan selisih antara V_{out} dari *pre-amplifier* dengan V_{dark} .

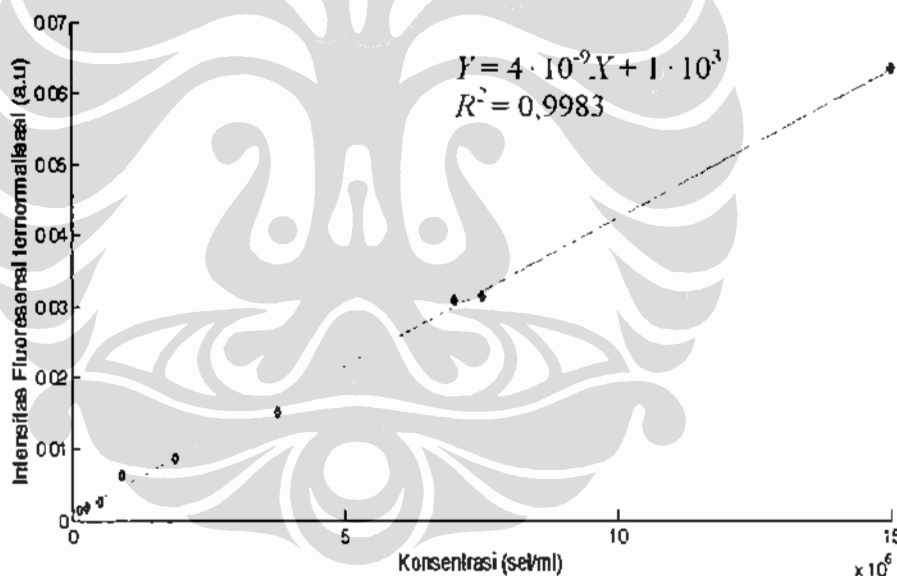
Kondisi-kondisi fisis pengukuran dirinci sebagai berikut:

- Frekuensi TTL = 500Hz
- Energi sinar laser = 3 – 3,75 mJ
- V_0 = 4,0V
- V_{dark} = 1.7mV

- lintasan optik, l = 3,5mm
- Suhu ruangan = 25 °C
- Volume kultur = 1,0ml
- L = 3,5mm

L adalah jarak antara fotodiode dengan *cuvette*, dalam eksperimen ini diusahakan sekecil mungkin, jarak tersebut dipilih sebesar 3,5mm dengan mempertimbangkan resolusi angular luasan pindai terhadap area berkas sinar laser yang melewati kultur.

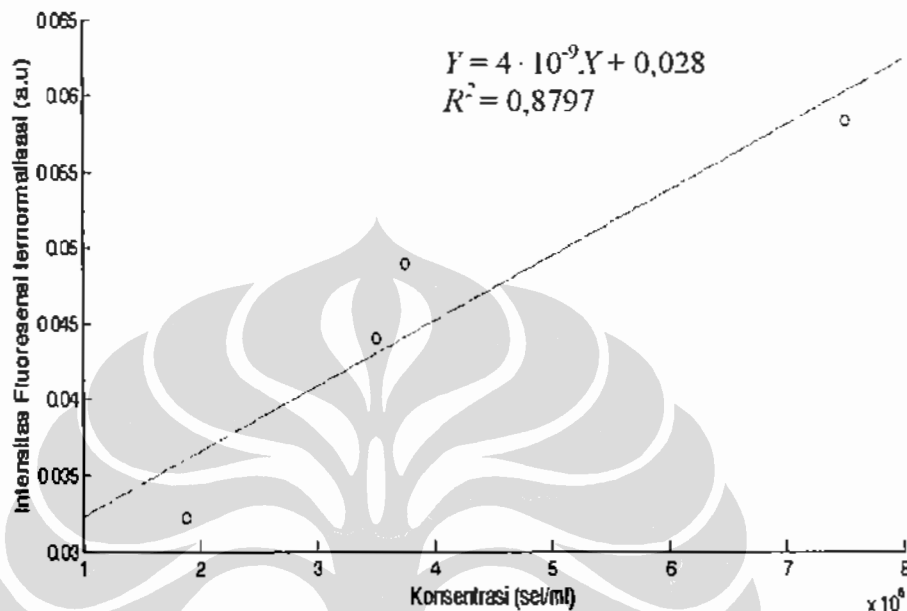
Sampel yang diukur adalah blanko (media kultur) dan kultur *Chlorella* sp. dalam rentang konsentrasi $125 \times 10^3 - 15 \times 10^6$ sel/ml. Pengukuran pertama dilakukan pada *Chlorella* sp. yang telah dikulturkan dalam ruangan bercahaya pada suhu kamar. Hasil pengukuran tersebut ditunjukkan pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Intensitas fluoresensi *Chlorella* sp. untuk rentang $125 \cdot 10^3 - 15 \cdot 10^6$ sel/ml.

Dari hasil pengukuran pertama (Gambar 5.1), diketahui bahwa gradien yang dihasilkan garis penghubung (melalui pencocokan secara linier/*linier fitting*) untuk semua titik hasil pengukuran pada rentang $125 \times 10^3 - 15 \times 10^6$ sel/ml adalah 4×10^{-9} . Sedangkan nilai penyimpangan standard (R^2 /standard deviation) adalah 0,9983.

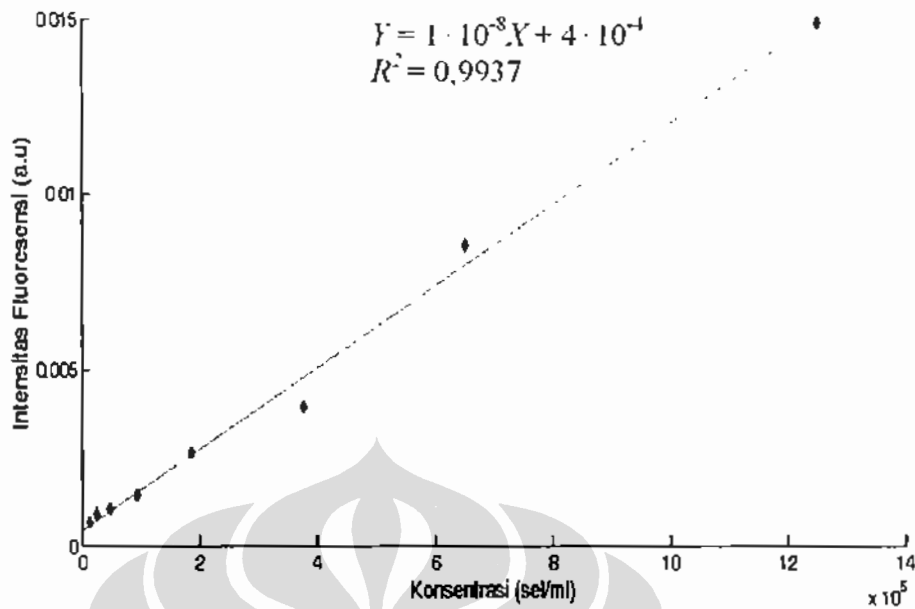
Pengukuran intensitas fluoresensi yang kedua dilakukan terhadap *Chlorella* sp. dalam air alam. Air alam yang digunakan adalah air danau yang berasal dari Situ Vila Gading, Bekasi. Perbandingan air yang dicampur adalah 1:1. Hasil pengukuran tersebut ditunjukkan pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Pengukuran intensitas fluoresensi pada *Chlorella* sp. pada kultur *Chlorella* sp. yang dicampur dengan air alami.

Dari hasil pengukuran kedua (Gambar 5.2), diketahui bahwa gradien yang dihasilkan garis penghubung (melalui pencocokan secara linier/*linier fitting*) untuk semua titik hasil pengukuran pada rentang $62,5 \times 10^3 - 7,5 \times 10^6$ sel/ml adalah 4×10^{-9} . Sedangkan nilai penyimpangan standard (R^2) adalah 0,8797.

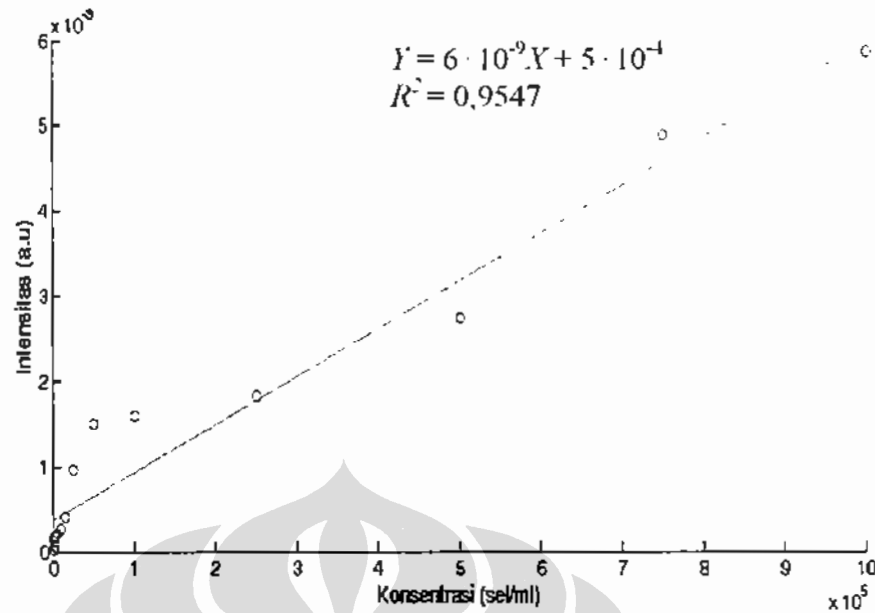
Untuk menguji keandalan konfigurasi perangkat optik, selanjutnya dilakukan pengukuran ketiga, yaitu terhadap kultur *Chlorella* sp. yang belum diketahui konsentrasinya. Pengukuran dilakukan dengan terlebih dahulu mengencerkan kultur untuk memperoleh berbagai variasi konsentrasi. Pengenceran dilakukan dengan perbandingan volume 1:1. Setelah itu dilakukan penghitungan konsentrasi sel dengan alat standard di Laboratorium Taksonomi Non Vaskular, Departemen Biologi UI Depok). Hasil penghitungan menghasilkan rentang konsentrasi $1,75 \times 10^3 - 1,25 \times 10^6$ sel/ml. Hasil pengukurannya adalah ditunjukkan pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Pengukuran intensitas fluoresensi pada *Chlorella* sp. untuk rentang konsentrasi $11,75 \times 10^3 - 1,25 \times 10^6$ sel/ml.

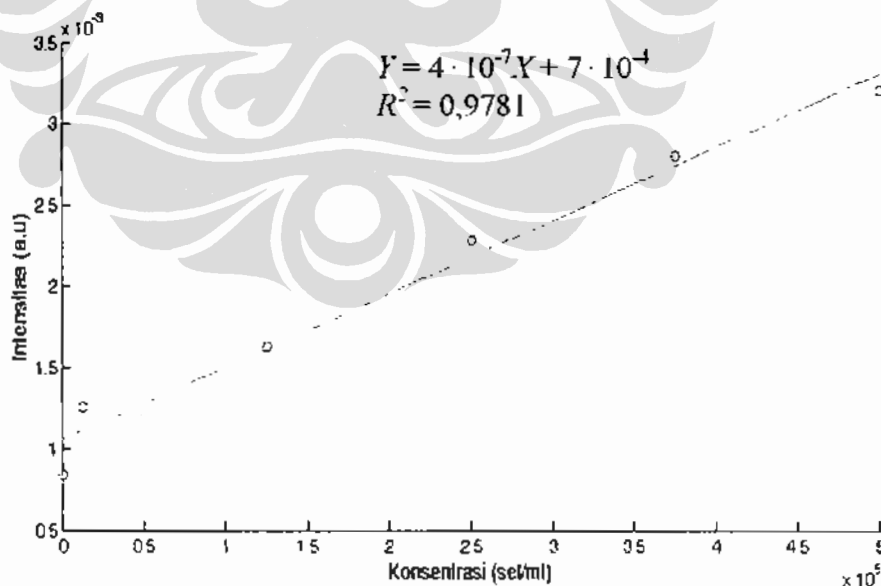
Tahap berikutnya dicari hubungan antara konsentrasi sel dengan intensitas fluoresensi ternormalisasi (Gambar 5.3). Ditunjukkan bahwa hasil pengukuran tetap konsisten linier untuk rentang konsentrasi $11,75 \times 10^3 - 1,25 \times 10^6$ sel/ml, dimana gradien yang dihasilkan adalah 1×10^{-8} . Sedangkan nilai penyimpangan standard (R^2) adalah 0,9937.

Pengukuran keempat dilakukan pada kultur dalam rentang konsentrasi 0 - $1,0 \times 10^6$ sel/ml serta dengan perlakuan V_{bias} pada *pre amplifier I* dan *II* ditala sebesar 5V. Dimana hal ini dilakukan untuk menguji tingkat kesensitifan dari penguatan *pre-amplifier* pada tegangan ambang *Op-Amp* yang dikonfigurasi dalam moda *current to voltage*. Dengan diturunkannya V_{bias} dari 9,0V menjadi 5,0V diperoleh V_{dark} pada harga 1,5mV. Terjadi penurunan V_{dark} sebesar 0,5mV dari harga semula yakni V_{bias} dari 9,0V, $V_{dark} = 2,0$ mV. Selain itu tujuan perlakuan tersebut adalah untuk menghindari pengaruh peningkatan suhu ruangan terhadap hasil pengukuran, mengingat fotodiode FDS 100 rentan terhadap pengaruh peningkatan suhu ruangan. Hasil pengukuran dari eksperimen keempat ditunjukkan pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4 Pengukuran intensitas fluoresensi pada *Chlorella* sp. untuk rentang konsentrasi 0 – $1,0 \times 10^6$ sel/ml, dengan pendeteksian oleh *pre-amplifier* pada V_{bias} ambang 5V dalam kultur murni.

Pengukuran kelima dilakukan sebagaimana pada pengukuran keempat namun menggunakan campuran air situ dengan perbandingan campuran 1:1. Hasil pengukuran dari eksperimen kelima ditunjukkan pada Gambar 5.5.

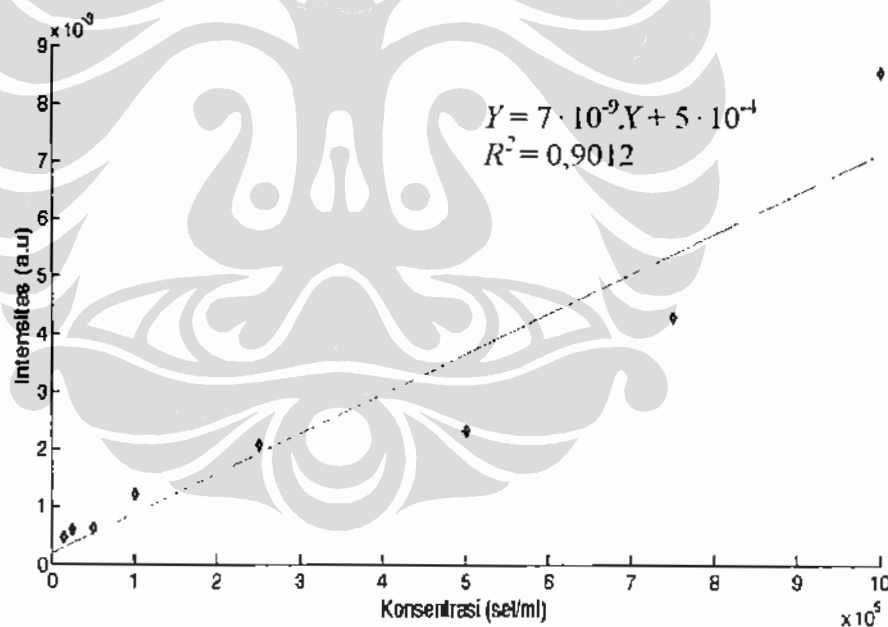


Gambar 5.5 Pengukuran intensitas fluoresensi pada *Chlorella* sp. untuk rentang konsentrasi 0 – 5×10^5 sel/ml, dengan pendeteksian oleh *pre-amplifier* pada V_{bias} ambang 5,0V dalam air situ Villa Gading Bekasi.

Dari hasil pengukuran keempat (Gambar 5.4), diketahui bahwa gradien yang dihasilkan garis penghubung (melalui pencocokan secara linier/*linier fitting*) untuk semua titik hasil pengukuran pada rentang 0 – $1,0 \times 10^6$ sel/ml adalah 6×10^{-9} . Sedangkan nilai penyimpangan standard (R^2) adalah 0,9547.

Sedangkan hasil pengukuran kelima (Gambar 5.5), diketahui bahwa gradien yang dihasilkan garis penghubung (melalui pencocokan secara linier/*linier fitting*) untuk semua titik hasil pengukuran pada rentang 0 – 5×10^5 sel/ml adalah 4×10^{-7} . Sedangkan nilai penyimpangan standard (R^2) adalah 0,9781.

Pengukuran keenam dilakukan pada rentang konsentrasi kultur 15×10^3 – 1×10^6 sel/ml dengan perlakuan sebagaimana pengukuran pertama namun sinar eksitasi laser ditala dalam repetisi pulsa sebesar 900Hz. Dimana hal ini dilakukan untuk melihat pengaruh frekuensi eksitasi laser terhadap terhadap fluktuasi harga pendeteksian intensitas fluoresensi. Hasil pengukuran dari eksperimen kelima ditunjukkan pada Gambar 5.6.



Gambar 5.6 Pengukuran intensitas fluoresensi pada *Chlorella* sp. untuk rentang konsentrasi $15 \cdot 10^3$ – $1,0 \cdot 10^6$ sel/ml, dengan repetisi eksitasi sinar laser sebesar 900Hz.

Dari hasil pengukuran keenam (Gambar 5.6), diketahui bahwa gradien untuk semua titik hasil pengukuran pada rentang 0 – 1×10^6 sel/ml adalah 7×10^{-9} . Sedangkan nilai penyimpangan standard (R^2) adalah 0,9012.

Semua kultur yang digunakan dalam pengukuran intensitas fluoresensi tersebut memiliki pH yang normal sesuai dengan kondisi pengkulturannya. Dan pada saat pengukuran intensitas fluoresensi, kultur yang ditaruh pada *cuvette* didiamkan selang beberapa detik ($\pm 5s$) guna menghindari pengaruh turbiditas air.

5.2 Analisa Hasil Pengukuran

Dapat diketahui dari hasil pengukuran (Gambar 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5 dan 5.6) bahwa intensitas fluoresensi semakin meningkat secara teratur dengan kenaikan jumlah konsentrasi kultur. Hubungan linier yang dihasilkan untuk semua pengukuran juga sesuai dengan pendekatan teori yang digunakan [Persamaan 4.19]. Dimana harga intensitas fluoresensi ternormalisasi berbanding lurus dengan konsentrasi, N . Dan besarnya tergantung dari konstanta kesebandingan, K . Kelinieritasan hasil pengukuran dapat diperoleh dengan mengamati harga deviasi standard (R^2) yang dihasilkan. Dimana harga R^2 yang diperoleh untuk semua hasil pengukuran bervariasi pada rentang 0,8787 – 0,9983, yakni mendekati harga 1,0.

Didapatkan pula bahwa untuk rentang konsentrasi yang tinggi (1×10^6 - 15×10^6 sel/ml) gradien kurva yang dihasilkan adalah kurang dari 5×10^{-9} ml/sel. Sedangkan untuk rentang konsentrasi rendah (2×10^2 - 1×10^6 sel/ml) gradien yang dihasilkan adalah lebih dari 6×10^{-9} ml/sel. Pola hubungan linier antara intensitas fluoresensi dengan konsentrasi sel dipengaruhi oleh faktor kepadatan sel fitoplankton. Pada konsentrasi yang tinggi intensitas fluoresensi yang dihasilkan sangat tinggi, dibandingkan dengan konsentrasi rendah. Namun demikian gradien yang dihasilkan pada rentang konsentrasi tinggi (1×10^6 - 15×10^6 sel/ml) adalah relatif kecil dibandingkan dengan gradien pada rentang konsentrasi rendah (2×10^2 - 1×10^6 sel/ml). Hal tersebut diakibatkan oleh terhalangnya fitoplankton oleh sebagian fitoplankton-fitoplankton yang lain dan juga terjadinya reabsorpsi. Hal ini mengisyaratkan bahwa pada rentang konsentrasi rendah kemiringan yang dihasilkan adalah lebih tinggi sehingga lebih sensitif terhadap perubahan konsentrasi sel. Sedangkan pada konsentrasi tinggi tingkat kesensitifannya berkurang karena kemiringannya mendekati landai. Secara fisis hal ini diakibatkan oleh proses absorpsi sinar eksitasi yang tidak berlangsung secara

optimal pada konsentrasi tinggi. Lain halnya pada konsentrasi rendah, dimana absorpsi terhadap sinar eksitasi berlangsung maksimal sehingga semua sel menghasilkan cahaya fluoresensi secara keseluruhan dan juga minimalnya reabsorpsi.

Harga perbandingan intensitas fluoresensi yang didapatkan untuk semua kurva adalah sedemikian kecilnya yakni dalam orde 10^{-4} - 10^{-2} . Hasil demikian menunjukkan adanya kesesuaian dengan teori [Persamaan 4.19]. Jika dibandingkan dengan pendekatan teoritis [Persamaan 4.19], mengacu referensi [35] dan harga-harga transmitansi, reflektansi, absorbansi dan atenuasi diperoleh harga K disekitar 10^{-10} . Sehingga harga intensitas fluoresensi ternormalisasi jauh lebih kecil dari 1,0.

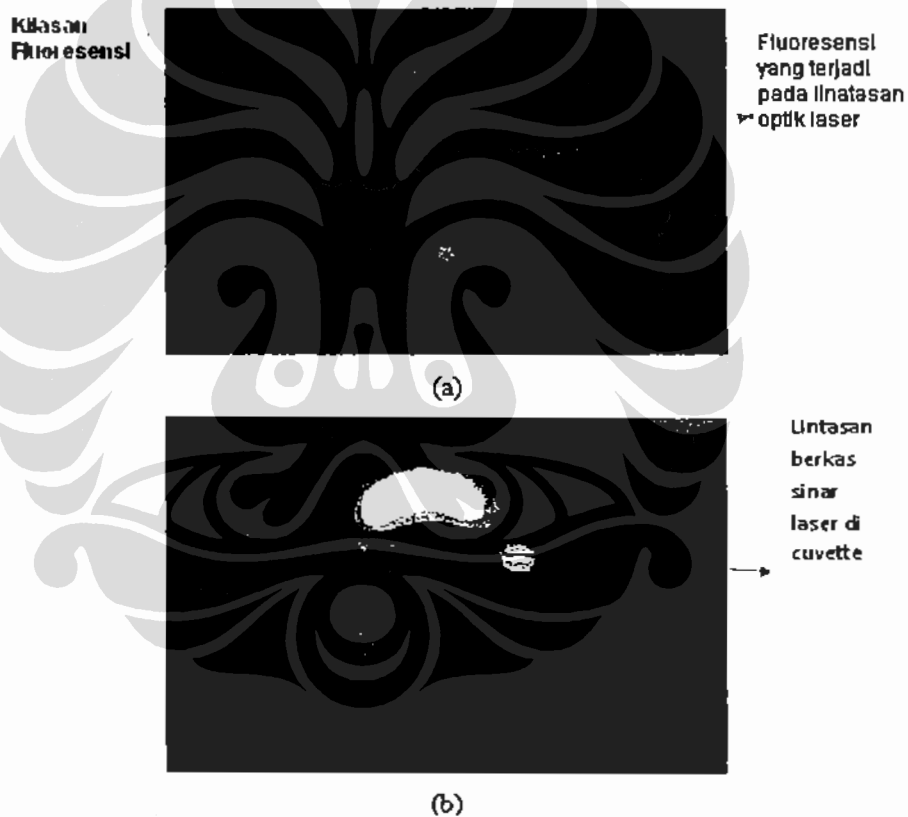
Intensitas fluoresensi pada *Chlorella* sp. yang dicampur dengan air alami menghasilkan nilai yang lebih tinggi dari kultur dalam blanko. Intensitas fluoresensi pada konsentrasi $7,5 \times 10^6$ sel/ml dalam air alam adalah dua kali lebih besar dari intensitas pada 15×10^6 sel/ml dalam blanko. Hal ini mengindikasikan keberadaan fitoplankton yang lain. dalam air alam tersebut yang pada gilirannya turut meningkatkan jumlah kepadatan sel. Sehingga fluoresensi yang terdeteksi tidak hanya terjadi akibat *Chlorella* sp. yang terlarut tetapi juga oleh fitoplankton-fitoplankton yang lain. Kondisi demikian sesuai dengan dugaan yang telah disebutkan dalam Bab III. Ditunjukkan bahwa *Chlorella* sp. yang terlarut dalam air akan tetap menghasilkan intensitas fluoresensi ternormalisasi yang linier.

Dari grafik pada Gambar 5.4, diketahui bahwa konsentrasi sel minimal yang bisa dideteksi intensitas fluoresensi ternormalisasi adalah pada konsentrasi 2×10^2 sel/ml. Sedangkan untuk konsentrasi 10^6 sel/ml intensitas fluoresensi yang terukur adalah 0,0059125 dan pada konsentrasi 15×10^6 sel/ml intensitas fluoresensi yang terukur adalah 0,0632 (Gambar 5.1).

Pengaruh penurunan V_{bias} pada pre-amplifier dari 9,0V menjadi 5,0V adalah penurunan V_{dark} . Dimana harganya menurun sebesar 0,2mV dari 1,7mV menjadi 1,5mV. Kondisi demikian memberikan keuntungan dalam mendeteksi intensitas fluoresensi untuk konsentrasi kultur yang berskala rendah (10^2 - 10^3 sel/ml). Dimana *noise* arus *pre-amplifier* tidak berpengaruh terhadap pendeteksian intensitas fluoresensi yang terukur. Perlakuan peningkatan frekuensi modulasi

konsentrasi kultur yang tetap. Kondisi demikian sering kali terjadi pada konsentrasi yang rendah yakni pada rentang $19 \times 10^3 - 5 \times 10^4$ sel/ml. Di mana dengan konsentrasi yang rendah mobilitas dari fitoplankton akan semakin tinggi.

Fluktuasi tersebut dalam bentuk kilasan-kilasan cahaya merah yang cepat dan tidak kontinyu seperti ditunjukkan pada Gambar 5.8. a dan b. Di mana warna biru adalah jalur perambatan sinar eksitasi dalam *cuvette* dan warna merah adalah kilasan-kilasan cahaya fluoresensi yang tidak terjadi dalam sumbu optik. Fluktuasi tersebut pada gilirannya berpengaruh pada fluktuasi intensitas fluoresensi yang terukur oleh *pre-amplifier* yakni terjadinya fluktuasi tegangan. Fluktuasi ini diakibatkan oleh mobilitas fitoplankton dalam *cuvette*.



Gambar 5.8 Kilasan-kilasan fluoresensi pada *Chlorella* sp. sebagai akibat dari efek turbiditas air dan gaya hidrostatis.