



Tesis - TF185471

**STUDI PENGARUH OZON (O_3) TERHADAP
REDUKSI *S. aureus* BIOFILM MENGGUNAKAN
*PHOTOSENSITIZER CURCUMA L. EXTRACT***

PUTRI SURYANING PUSPITA

NRP. 02 3117 5001 0004

DOSEN PEMBIMBING

Dr.rer.nat. Ir. Aulia Muhammad Taufiq Nasution, M.Sc.

Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si.

Departemen Teknik Fisika

Fakultas Teknologi Industri

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

2019

Halaman ini sengaja dikosongkan

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar

Magister Teknik (M.T.)

di

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

oleh :

PUTRI SURYANING PUSPITA

NRP. 02311750010004

Tanggal Ujian : 1 Juli 2019

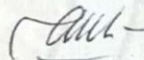
Periode Wisuda : September 2019

Disetujui oleh :

Pembimbing :

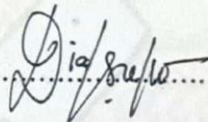
1. Dr.rer.nat. Ir. Aulia M. T. Nasution, M.Sc.

NIP. 19671117 199702 1 001


.....

2. Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si.

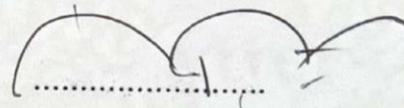
NIP. 19690804 199412 2 001


.....

Penguji :

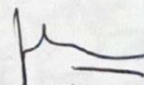
1. Agus Muhamad Hatta, M.Si., Ph.D.

NIP. 19780902 200312 1 002


.....

2. Prof. Dr. Ir. Aulia Siti Aisjah, M.T.

NIP. 19660116 198903 2 001


.....

Kepala Departemen Teknik Fisika
Fakultas Teknologi Industri,



Agus Muhamad Hatta, M.Si, Ph.D.

NIP. 19780902 200312 1 002

Halaman ini sengaja dikosongkan

STUDI PENGARUH OZON (O₃) TERHADAP REDUKSI *S. AUREUS* BIOFILM MENGGUNAKAN *PHOTOSENSITIZER CURCUMA L.* *EXTRACT*

Nama Mahasiswa : Putri Suryaning Puspita

NRP : 02311750010004

Pembimbing I : Dr.rer.nat.Ir Aulia M. T. Nasution, M.Sc

Pembimbing II : Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si

ABSTRAK

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) adalah flora normal yang disebabkan infeksi kulit ringan dan memiliki kemampuan membentuk biofilm. Biofilm adalah komunitas mikroba yang melekat pada permukaan dan terbungkus dalam matriks mikroba ekstraseluler. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk meningkatkan efek antibakteri dari terapi fotodinamik menggunakan paparan ozon untuk mengurangi biofilm *S. aureus*. Terapi fotodinamik (PDT) adalah proses terapi, yang melibatkan kombinasi agen cahaya dan fotosensitizer. Ekstrak kurkumin dari *Curcuma longa* (*C. longa*) sebagai agen fotosensitizer dan sumber cahaya yang sesuai. Ekstrak curcumin dibuat dari Merck (Jerman) dan dilarutkan dalam etanol 10 mg / mL. Larutan diencerkan hingga mencapai konsentrasi $6,75 \times 10^{-5}$ M. Untuk menentukan efek antibakteri dari perawatan pada biofilm *S. aureus*, sampel didistribusikan ke dalam 7 kelompok: C, PL, CL, PO, CO, PLO dan CLO. Pertumbuhan bakteri dilihat dengan mengukur *optical density* (OD) pada 595nm dengan pembaca ELISA. Perbedaan reduksi tertinggi antara perlakuan PL dan CL terjadi pada detik ke-30 dengan reduksi masing-masing 65,55% dan 85,63%. Ozon yang ditambahkan pada *photosensitizer* endogen (PO) dan eksogen (CO) memberikan efek reduksi tertinggi masing-masing sebesar 30,74% dan 79,38% dengan *exposure* selama 30 detik. Pemberian ozon selama 50 detik mampu mereduksi sel tertinggi sebanyak 97,63% (PLO) dan 94,55% (CLO). Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan curcumin dengan *exposure* ozon terlalu lama memberikan efek reduksi sel tertinggi dibanding perlakuan sebelumnya. Kombinasi PDT dan ozon gas memberikan peningkatan reduksi biofilm dibandingkan dengan PDT.

Kata Kunci : Biofilm, Kurkumin, Ozon, PDT, Reduksi

THE EFFECT OF OZONE (O₃) ON REDUCTION OF S. AUREUS BIOFILM USING PHOTOSENSITIZER CURCUMA L. EXTRACT : AN IN VITRO STUDY

Name : Putri Suryaning Puspita
NRP : 02311750010004
Supervisor : Dr.rer.nat.Ir Aulia M. T. Nasution, M.Sc
Co-Supervisor : Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si

ABSTRACT

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is a normal flora caused mild skin infections and has the ability to form biofilms. Biofilms are microbial communities attached to surfaces and encased in an extracellular matrix of microbial. The aim of this study was to improve the antibacterial effect of photodynamic therapy using ozone exposure for reducing the *S. aureus* biofilms. Photodynamic therapy (PDT) is a therapeutic process, involving the combination of light and photosensitizers agents. Curcumin extract from *Curcuma longa* (*C. longa*) as a photosensitizer agent and the appropriate light source. The curcumin extract were prepared from Merck (Germany) and dissolved in ethanol 10 mg/mL. The solution is diluted until it reaches concentration 6.75×10^{-5} M. To determine the antibacterial effect of treatments on *S. aureus* biofilms, samples were distributed into 7 groups: C, PL, CL, PO, CO, PLO and CLO. The growth of bacteria had been monitored by measuring the optical density (OD) at 595nm with ELISA reader. The highest reduction effect between PL and CL treatment occur at 30 seconds with reduction of 65,55% and 85,63%, respectively. Ozone added to the endogenous photosensitizer (PO) and exogenous (CO) has the highest reduction effect of 30.74% and 79.38% respectively with an exposure of 30 seconds. Ozone added for 50 seconds was able to reduce the highest cells of 97.63% (PLO) and 94.55% (CLO). These results indicate that the addition of curcumin with the longest ozone exposure gives the highest cell reduction effect compared to the previous treatment. The combination of PDT and gaseous ozone provides to increase of biofilms reduction compared to the PDT.

Keywords : Biofilms, Curcumin, Ozone, PDT, Reduction

Halaman ini sengaja dikosongkan

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Studi Pengaruh Ozon (O₃) terhadap Reduksi *S. aureus* Biofilm Menggunakan *Photosensitizer Curcuma L. Extract*”**. Tesis ini terdiri dari beberapa bab yaitu pendahuluan, dasar teori, metode penelitian, hasil dan pembahasan, kesimpulan dan saran, serta daftar pustaka. Setiap isi dari bab tersebut terangkai secara komperhensif untuk membahas fotoinaktivasi biofilm *Staphylococcus aureus* menggunakan laser biru dengan penambahan *curcumin* dan ozon secara invitro.

Naskah tesis ini tidak akan selesai tanpa bimbingan, bantuan, dukungan dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Bambang Lelono Widjiantoro, S.T., M.T. selaku Dekan Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember dan dosen wali.
2. Agus Mohammad Hatta, M.Si, Ph.D. selaku Kepala Departemen Teknik Fisika dan penguji I yang telah banyak membantu dalam penyusunan skripsi, memberi arahan, koreksi dan saran.
3. Dr.rer.nat. Ir Aulia M. T. Nasution, M.Sc. selaku Kepala Program Studi Magister Teknik Fisika dan pembimbing I yang telah banyak membantu dalam penyusunan skripsi, memberi arahan, koreksi dan saran.
4. Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si. selaku Kepala Program Studi Magister Teknik Biomedik Universitas Airlangga dan pembimbing II yang telah banyak membantu dalam penyusunan skripsi, memberi arahan, koreksi dan saran.
5. Prof. Dr. Ir. Aulia Siti Aisjah, M.T. selaku penguji II yang telah banyak membantu dalam penyusunan skripsi, memberi arahan, koreksi dan saran.
6. Seluruh staf pengajar Program Studi S2 Teknik Fisika yang telah memberikan ilmu dan keterampilan yang sangat berharga selama perkuliahan.
7. Seluruh karyawan dan laboran dari laboratorium biofisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga serta laboratorium fotonika Teknik Fisika Institut Teknologi Sepuluh Nopember yang telah memberikan bantuan selama pelaksanaan tesis dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dan memberikan saran selama pelaksanaan tesis berlangsung.

Dalam penyusunan tesis ini penulis menyadari masih terdapat berbagai kekurangan. Untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan naskah tesis ini. Akhir kata, semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang membaca.

Surabaya, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN TESIS	iii
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
1.4 Hipotesa	3
BAB 2 KAJIAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI	
1.1 Konsep <i>Photodynamic Therapy</i> (PDT)	5
1.2 Fotosensitizer	10
1.3 Sumber Cahaya	15
1.4 Ozon dan Pengaruhnya pada Inaktivasi Sel	18
1.5 Sistem Pengukuran	19
BAB 3 METODA PENELITIAN	
3.1 Diagram Alir Penelitian	26
3.2 Identifikasi	26
3.3 Tahap Persiapan	27
3.4 Tahap Perlakuan	31
3.5 Analisis	33
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	35
4.2 Pembahasan	45

BAB 5 KESIMPULAN	
5.1. Kesimpulan	50
5.2. Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	57
BIOGRAFI PENULIS	121

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Diagram Jablonski	6
Gambar 2.2	Reaksi fotokimia tipe II	6
Gambar 2.3	Skema representasi dari perkembangan biofilm	9
Gambar 2.4	Struktur kimia senyawa curcumin, demethoxycurcumin, dan bisdemethoxycurcumin	11
Gambar 2.5	Reaksi kimia pembentukan <i>phenoxyl radical</i> dari curcumin	11
Gambar 2.6	Reaksi kimia curcumin dengan protein thiols dan selenols seperti [-OH], [-SH] dan [-SeH]	11
Gambar 2.7	Spektrum absorpsi porfirin dan transisi yang menyebabkan terbentuknya spektrum tersebut	13
Gambar 2.8	Transisi $\pi - \pi^*$ pada porfirin	13
Gambar 2.9	Pirol dan Porphirin	14
Gambar 2.10	Beberapa produk yang dapat dihasilkan dari sistesis porfirin	14
Gambar 2.11	Bahan pembentukan laser	15
Gambar 2.12	Sifat cahaya laser	16
Gambar 2.13	Cahaya keluaran laser diode	17
Gambar 2.14	Diagram tingkat energi	19
Gambar 2.15	Klasifikasi <i>luminescence</i> berdasarkan durasi emisinya	20
Gambar 2.16	(a) Skema alat spektrofotometer UV-Vis single-beam, (b) Skema alat spektrofotometer UV-Vis double-beam	24
Gambar 3.1	Diagram alir penelitian	26
Gambar 3.2	Grafik hubungan antara OD595 dengan log CFU/ml	30
Gambar 3.3	Skema tahap perlakuan menggunakan ELISA reader dan mikroskop fluorescence	32
Gambar 4.1	Karakterisasi panjang gelombang laser dioda	35
Gambar 4.2	Karakterisasi daya keluaran laser diode terhadap waktu	36
Gambar 4.3	Karakterisasi temperatur medium terhadap waktu	37
Gambar 4.4	Absorbansi endogen <i>porphyrin</i> bakteri <i>S. aureus</i>	38
Gambar 4.5	Absorbansi <i>photosensitizer</i> eksogen (Curcumin)	38

Gambar 4.6	Perbandingan PDT menggunakan <i>photosensitizer</i> endogen dan eksogen dengan variasi kerapatan energi	40
Gambar 4.7	Perbandingan perlakuan ozon menggunakan <i>photosensitizer</i> endogen dan eksogen dengan variasi waktu <i>exposure</i> ozon	41
Gambar 4.8	Perbandingan analisis imageJ dari uji fluorescence biofilm <i>S. aureus</i>	43
Gambar 4.9	Ilustrasi mekanisme pertumbuhan biofilm <i>S. aureus</i>	46
Gambar 4.10	Ilustrasi mekanisme inaktivasi biofilm <i>S. aureus</i> menggunakan photodynamic dan kombinasi photodynamic dengan ozon	47

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Hasil McFarland biofilm <i>S. aureus</i>	29
Tabel 4.1	Kerapatan energi yang diemisikan oleh laser dioda	36
Tabel 4.2	Persentase efikasi perlakuan <i>photodynamic</i> dengan penambahan ozon pada masing-masing waktu paparan ozon	42

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi menjadi masalah di bidang kesehatan masyarakat yang sering terjadi. Penyebab infeksi dikarenakan adanya bakteri yang menempel pada permukaan jaringan biologis. Resistensi dari mikoba tersebut terhadap senyawa antibiotik menjadi alasan banyaknya penelitian dilakukan. Mikroba dalam fase planktonik diketahui tidak mampu melindungi dirinya, sehingga membentuk suatu pertahanan dalam fase biofilm agar lebih resisten. Biofilm merupakan kumpulan bakteri yang membentuk komunitas dengan menghasilkan lapisan matriks pelindung disebut *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) (Donlan, 2001). EPS yang dihasilkan oleh enzim memiliki sifat lebih resisten atau tahan terhadap antibiotik (Gordon dan Lowy, 2008).

Penanganan biofilm sangat berbeda dari penanganan planktonik. Hampir semua antibiotik gagal mengontrol biofilm (Gundogan, 2013). Hal ini disebabkan oleh penetrasi yang lambat dan perubahan sintesis protein-DNA dari antibiotik. Selain itu, ada kemungkinan biofilm memiliki kemampuan untuk mengurangi produksi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang merupakan prekursor molekul toksik ketika sintesis DNA-protein berubah (Xu *et al.*, 2014).

Photodynamic Therapy (PDT) merupakan solusi yang dapat dilakukan untuk mengontrol biofilm tersebut. PDT telah berkontribusi sebagai metode alternatif dalam mengurangi bakteri, terutama pada fase biofilm (Huang *et al.*, 2013). Dibandingkan dengan metode pemberian antibiotik, PDT menyediakan kemampuan reduksi yang lebih efisien. PDT merupakan metode terapi menggunakan sumber cahaya, fotosensitizer dan oksigen. Mekanisme PDT dimulai dari penyerapan cahaya oleh fotosensitizer yang memiliki panjang gelombang dan absorbansi yang sesuai (Castano *et al.*, 2005). Penyerapan ini dapat menghasilkan molekul beracun seperti radikal bebas (H_2O_2 , anion superoksida, $OH^\cdot$) melalui proses fotokimia tipe I, sedangkan melalui proses fotokimia tipe II dapat

menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) berupa oksigen singlet ($^1\text{O}_2$) (Castano *et al.*, 2004).

Fotosensitizer adalah molekul peka cahaya yang mampu menghasilkan senyawa toksik. Salah satu fotosensitizer yang dapat digunakan adalah curcumin dari ekstrak *Curcuma L.* (kunyit). Struktur kimia ekstrak tersebut mirip dengan porfirin (fotosensitizer endogen bakteri) sehingga dapat dijadikan sebagai fotosensitizer eksogen. Sensitizers curcumin saat ini digunakan dalam penargetan sel-sel kanker dan mikrobiologi. Fotosensitizer yang terbuat dari bahan organik memiliki partikel berukuran mikro menyebabkan penetrasi yang sulit ke biofilm akibat adanya matriks EPS. Ukuran pori EPS berada dalam kisaran 50 nm untuk biofilm yang longgar, tetapi menurun di bawah 10 nm untuk biofilm padat (Peulen *et al.*, 2011). Akibatnya, potensi fotosensitizer untuk mengurangi biofilm efektif apabila partikel berada dalam ukuran nano.

Penambahan ozon menjadi solusi lain untuk mereduksi biofilm karena reaksi ozon saat berinteraksi dengan matriks EPS dapat menghasilkan molekul H_2O_2 . Namun jumlah penggunaan ozon saat ini tetap tidak jelas karena masing-masing struktur jaringan memiliki sifat karakteristik tertentu seperti periodontitis dan dermatologi (Bocci, 2006). Kombinasi ozon dalam fotodinamik memberikan reduksi yang tinggi yang tergantung pada jumlah konsentrasi ozon (Hegge *et al.*, 2012).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan efek antibakteri dari PDT dengan penambahan ozon untuk mereduksi biofilm *S. aureus* secara in-vitro. Produksi H_2O_2 dari ozon tersebut perlu untuk di kontrol agar tidak membahayakan jaringan sehat yang ada di sekitarnya, sehingga penelitian ini menggunakan variasi waktu *exposure* ozon dan variasi rapat energi penyinaran laser.

1.2 Perumusan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh penambahan ozon dan curcumin sebagai fotosensitizer terhadap persentase reduksi.

2. Bagaimana perbandingan persentase reduksi antara penambahan ozon dan curcumin sebagai fotosensitizer dengan penambahan ozon dan coproporphirin sebagai fotosensitizer.
3. Berapa nilai kerapatan energi terbaik untuk inaktivasi biofilm dengan menggunakan curcumin sebagai fotosensitizer dengan penambahan ozon.

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan pada penelitian ini adalah

1. Mengetahui pengaruh penambahan ozon dan curcumin sebagai fotosensitizer terhadap persentase reduksi.
2. Mengetahui hasil perbandingan persentase reduksi antara penambahan ozon dan curcumin sebagai fotosensitizer dengan penambahan ozon dan coproporphirin sebagai fotosensitizer.
3. Menentukan nilai kerapatan energi terbaik untuk inaktivasi biofilm dengan menggunakan curcumin sebagai fotosensitizer dengan penambahan ozon.

Manfaat dari penelitian ini adalah

1. Menjadi terobosan baru dalam bidang kesehatan khususnya mengenai kombinasi *nano* curcumin dan ozon pada PDT.
2. Mempertegas bahwa curcumin dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif fotosensitizer.
3. Penentuan nilai kerapatan energi terbaik untuk inaktivasi biofilm dengan menggunakan curcumin sebagai fotosensitizer dengan penambahan ozon.

1.4 Hipotesa

Hipotesa pada penelitian ini adalah semakin tinggi konsentrasi ozon yang diberikan maka tingkat reduksi biofilm akan semakin meningkat. Kombinasi perlakuan PDT dengan ozon akan memberikan reduksi biofilm tertinggi. Hal itu ditunjukkan dengan intensitas *fluorescence* dan nilai *optical density* (OD) yang semakin menurun.

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 2

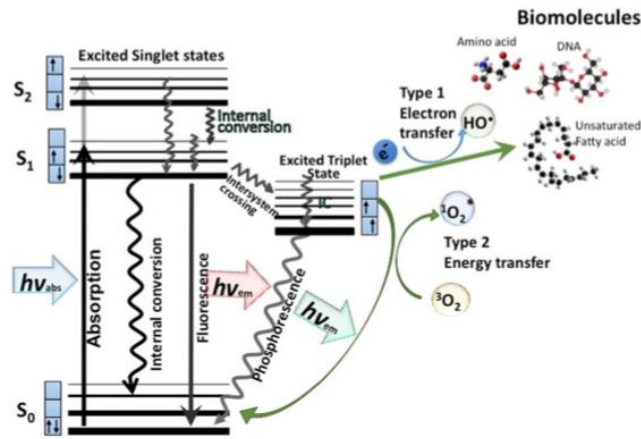
KAJIAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI

2.1 Konsep *Photodynamic Therapy* (PDT)

2.1.1 *Photodynamic Therapy* dan Mekanismenya

Photodynamic Therapy (PDT) merupakan salah satu metode terapi untuk berbagai macam penyakit seperti kanker (Calixto et al., 2016), infeksi bakteri (Wang et al., 2016), infeksi jamur (Baltazar et al., 2015) dan lain-lain. Jenis terapi ini memiliki serangkaian proses *dynamic* yang melibatkan 3 komponen, yaitu : (1) *photosensitizer* ; molekul peka cahaya yang berfungsi menyerap energi dari sumber cahaya, (2) sumber cahaya ; dapat berupa laser/LED dengan beragam panjang gelombang, dan (3) molekul oksigen ; terdapat pada setiap sel.

Mekanisme PDT terjadi ketika cahaya dipandang sebagai foton dan bersifat diskrit yang berperan sebagai pemicu reaksi fotokimia (Plaetzer et al., 2009). Mekanisme tersebut diawali dengan penyerapan energi foton oleh molekul *photosensitizer* yang menyebabkan elektronnya tereksitasi dari *ground state* (S_0) ke *excited stated* (S_1). Molekul tersebut akan kembali ke *ground state* (S_0) dengan 2 cara. Pertama, melalui *internal conversion* atau langsung kembali ke *ground state* (S_0) sehingga terjadi transfer elektron. Mekanisme ini akan menghasilkan beberapa senyawa radikal bebas yaitu anion superoksida ($\cdot O_2^-$), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil ($OH\cdot$). Kedua, melalui *intersystem crossing* atau melewati *excited triplet-state* (T_1) terlebih dahulu sehingga terjadi transfer energi. Mekanisme tersebut menyebabkan perubahan molekul oksigen (3O_2) menjadi lebih reaktif membentuk oksigen singlet (1O_2). Skema dari mekanisme PDT tersebut di ilustrasikan menggunakan diagram jablonski (Gambar 2.1).

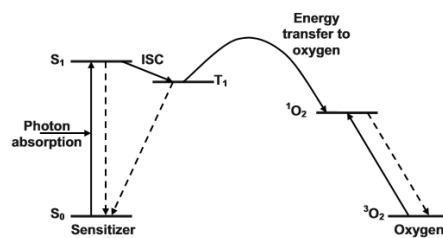


Gambar 2.1 Diagram Jablonski (Abrahamse & Hamblin, 2016)

Kedua reaksi tersebut merupakan reaksi fotokimia tipe I dan tipe II. *Quantum yield* (Φ) untuk reaksi fotokimia tipe II (Plaetzer et al., 2009) dapat dihitung dengan persamaan:

$$\Phi = \frac{k_{React(T)}[T_1][S]}{k_{Phosp}[T_1] + k_{ISC}(T)[T_1] + k_{React(T)}[T_1][S]} \quad (2.1)$$

Persamaan tersebut menunjukkan bahwa hasil produksi oksigen singlet bergantung pada laju reaksi kimia yang terjadi saat *photosensitizer* berada di *triplet-state*. Skema reaksi fotokimia tipe II secara jelas ditunjukkan pada Gambar 2.2 dibawah ini.



Gambar 2.2 Reaksi Fotokimia Tipe II (Zhu & Finlay, 2008)

Senyawa berupa radikal bebas dan oksigen singlet dapat menyebabkan kerusakan sel yang mematikan tergantung pada lokalisasi intraselularnya, misalnya dengan merusak berbagai membran sel, DNA, mitokondria, dan lain-lain.

Faktor utama yang menentukan keefektifan PDT termasuk jenis *photosensitizer*, konsentrasi *photosensitizer* dan lokalisasi seluler, panjang gelombang dan radiasi cahaya, konsentrasi molekul oksigen yang tersedia, serta fotosensitifitas intrinsik dari sel target atau jaringan.

2.1.2 Perkembangan Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mengenai PDT, biofilm, variasi fotosensitizer, pengaruh ozon dan pendeteksian ROS mengalami perkembangan dari tahun ke tahun. Penelitian terkait PDT ini dapat dikategorikan menjadi 5 bidang, yaitu (1) sumber cahaya / transfer cahaya dalam jaringan, (2) dosimetri PDT, (3) citra optis dan anatomi, (4) *photosensitizer* baru, (5) efek biologi terkait PDT.

Treatment PDT pertama kali diperkenalkan sebagai treatment Niels Finsen's (1903) untuk mengobati tuberculosis kulit (*lupus vulgaris*) menggunakan cahaya matahari. Terapi ini melibatkan molekul fotosensitizer dan sumber cahaya (Gøtzsche P.C., 2011). Terdapat beberapa mekanisme pengobatan yang terjadi diantaranya fotofisika dan fotokimia. Mekanisme fotofisika yang melibatkan fotosensitizer dengan cahaya dapat menghasilkan oksigen singlet yang bersifat toksik, sehingga dapat mengoksidasi substrat di sekitarnya (Foote C.S. *et al.*, 1972). Mekanisme fotokimia juga terjadi dalam PDT, diantaranya reaksi tipe 1 dan tipe 2. Reaksi tersebut dapat menghasilkan molekul yang bersifat toksik seperti OH^- ; $^1\text{O}_2$; H_2O_2 ; dan lain-lain (Plaetzer *et al.*, 2009). PDT dapat digunakan sebagai terapi anti-kanker di semua jenis kanker. Jenis fotosensitizer yang digunakan berbeda bergantung pada jenis kankernya (Agostinis P. *et al.*, 2011). Fotosensitizer yang digunakan untuk terapi dapat berasal dari berbagai macam molekul seperti dye, metal, non-metal, natural, dll (Abrahamse H. *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan sebelumnya mengindikasikan bahwa curcumin memiliki potensi sebagai senyawa antimikroba.

Kemampuan pembentukan biofilm berkaitan dengan kemampuan untuk menyebabkan infeksi (Ramage G. *et al.*, 2012). Mikroba pada fase biofilm resisten terhadap obat pada semua tingkat pertumbuhan, sedangkan mikroba pada fase planktonik (sel) hanya resisten pada tingkat pertumbuhan rendah (Baillie G.S. *et al.*, 1998). Mekanisme penghambatan antimikroba disebabkan oleh ukuran pori biofilm. Biofilm fase awal memiliki ukuran pori sekitar 50 nm, sedangkan biofilm padat/dewasa memiliki ukuran pori sekitar 10 nm (Peulen T.O. *et al.*, 2011). Pembentukan biofilm melalui tiga fase perkembangan yang berbeda, yaitu tahap

awal (≈ 0 sampai 11 jam), tahap menengah (≈ 12 sampai 30 jam), dan tahap pematangan (≈ 38 sampai 72 jam) (Chandra J. *et al.*, 2015).

Ozon apabila bereaksi dengan biomolekul dapat menghasilkan senyawa yang bersifat radikal bebas seperti hydrogen peroxide (H_2O_2). Senyawa ini dapat mengoksidasi substrat di sekitarnya, sehingga menyebabkan kerusakan selular (Bocci V.A., 2006). Interaksi antara anion superoksida ($\cdot^-O_2$) dapat membentuk H_2O_2 yang bersifat toksik dan ozon (O_3) (Onyango A.N., 2016).

2.1.3 Struktur Bakteri *Staphylococcus aureus*

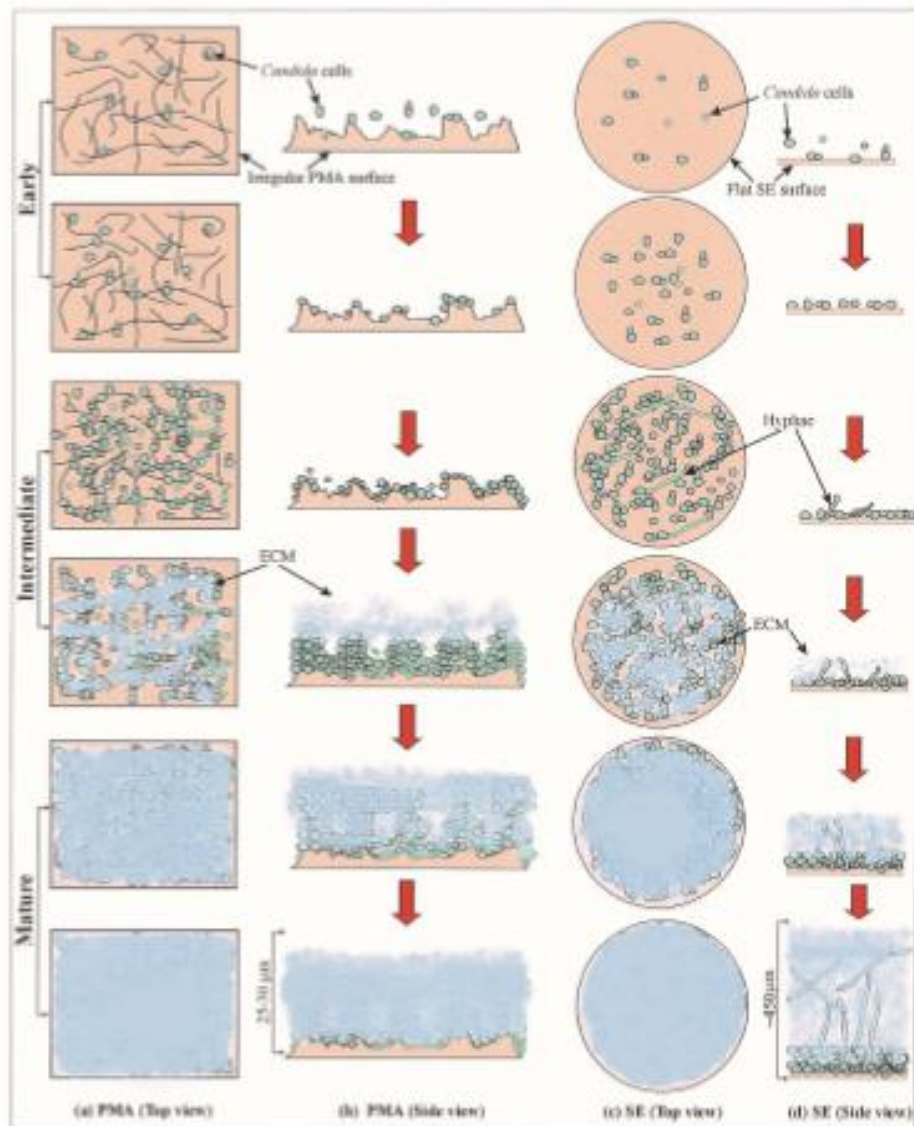
Staphylococcus aureus merupakan salah satu jenis bakteri gram positif yang memiliki sel berbentuk bola dengan diameter 0,8-1 μm dan tumbuh optimum pada suhu 37°C. Bakteri ini melakukan pembelahan setiap 0,47 jam. Ciri-ciri lain yang dimiliki *S. aureus* adalah berspora, hidup berkoloni secara tidak beraturan dengan warna koloni putih susu hingga krem. Lebih dari 90% isolate klinik menghasilkan *S. aureus* berkapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.*, 1995; Kusuma, 2006). Klasifikasi bakteri *S. aureus* sebagai berikut :

<i>Domain</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Kingdom</i>	: <i>Eubacteria</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Firmicutes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacilli</i>
<i>Order</i>	: <i>Bacillales</i>
<i>Family</i>	: <i>Staphylococcaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Staphylococcus</i>
<i>Species</i>	: <i>S. Aureus</i>

Infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* diantaranya adalah bisul, jerawat, dan impetigo. Untuk infeksi yang lebih berat dapat menyebabkan penyakit pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis (Kusuma, 2006).

2.1.4 Biofilm Mikroba

Biofilm merupakan komunitas mikroba yang tertata di mana organisme tersebut terikat pada permukaan dan menjadi tertanam dalam matriks polimer ekstraseluler (EPS) yang dihasilkan oleh selnya. Biofilm merupakan alat perlindungan bagi mikroba terhadap respon imun sel inang dan zat anti mikroba. Pembentukan biofilm melalui tiga fase perkembangan yang berbeda, yaitu tahap awal (≈ 0 sampai 11 jam), tahap menengah (≈ 12 sampai 30 jam), dan tahap pematangan (≈ 38 sampai 72 jam) (Chandra & Mukherjee, 2015). Skema pembentukan secara jelas ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Skema representasi dari perkembangan biofilm (Chandra & Mukherjee, 2015)

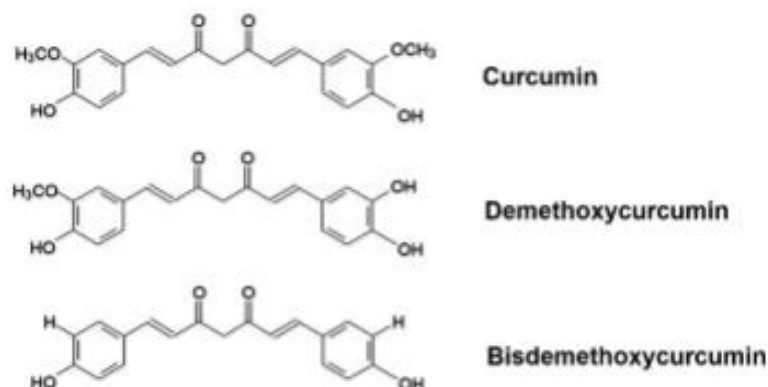
Mekanisme transpor yang dominan dalam biofilm adalah difusi sehingga mobilitas dan bioavailabilitas nanopartikel akan sangat tergantung pada koefisien difusi mereka terkait dengan ukuran dan karakteristik mereka, serta sifat biofilm. Terkait dengan ukuran partikel, hasil penelitian menunjukkan bahwa pori-pori yang efektif dari biofilm berada di kisaran 50 nm tetapi menurun di bawah 10 nm untuk biofilm padat. Nanopartikel (>100 nm) di lingkungan kemungkinan akan secara signifikan terhalang oleh adanya biofilm (Peulen & Wilkinson, 2011).

2.2 Fotosensitizer

Photosensitizer (PS) adalah molekul peka cahaya yang menyebabkan terjadinya proses fotokimia. Senyawa yang memiliki kemampuan *photosensitizer* cenderung tidak stabil terhadap cahaya atau mudah mengalami fotodegradasi. Fotodegradasi atau kerusakan yang diakibatkan oleh cahaya yang dipaparkan pada senyawa *photosensitizer* dikhawatirkan dapat memberikan pengaruh terhadap efektifitasnya, karena *photosensitizer* reaktif dengan cahaya. Dalam PDT, *photosensitizer* ini digunakan untuk menghasilkan *excited triplet-state*. Hal ini menyebabkan oksigen di sekitar menjadi tereksitasi ke *singlet state* membentuk oksigen singlet. Peningkatan efek toksisitasnya dapat dilakukan dengan membuat *photosensitizer* menjadi berukuran nano meter (nm) sehingga memudahkan penetrasinya ke dalam biofilm.

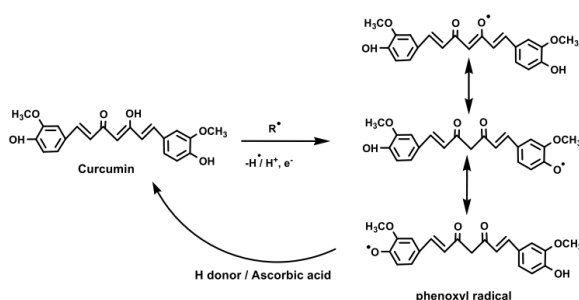
2.2.1 Struktur Kimia Senyawa Curcumin

Curcumin [1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-diene-3,5-dione] adalah ekstrak polifenol alami dari rimpang kering kunyit yang merupakan rempah-rempah makanan, yaitu *Curcuma longa*. Curcumin kelas komersial biasanya mengandung 70-90% curcumin, 10-15% demethoxycurcumin dan kurang dari 5% bisdemethoxycurcumin. Struktur ikatan kimia dari senyawa-senyawa tersebut ditunjukkan pada Gambar 2.4.

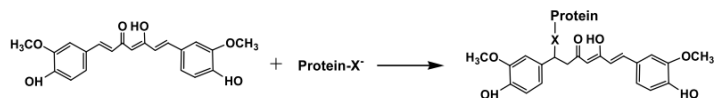


Gambar 2.4 Struktur kimia senyawa curcumin, demethoxycurcumin, dan bisdemethoxycurcumin (Okonogi et al., 2016)

Curcumin ditemukan memberikan aktivitas antioksidan dalam sel normal dengan menghasilkan senyawa radikal. Molekul hidrogen adalah yang paling mudah diabstraksikan dari kurkumin yaitu gugus fenol [-OH] menghasilkan pembentukan radikal fenoksil.



Gambar 2.5 Reaksi kimia pembentukan *phenoxyl radical* dari curcumin (Priyadarsini, 2014)



Gambar 2.6 Reaksi kimia curcumin dengan protein thiols dan selenols seperti [-OH], [-SH] dan [-SeH] (Priyadarsini, 2014)

Reaksi curcumin dengan tiol seperti glutathione yang memiliki gugus [-SH] akan menyebabkan penipisan tingkat glutathione intraseluler dalam sel, sehingga mengarah pada pengurangan pertahanan antioksidan secara keseluruhan (Priyadarsini, 2014). Reaksi kimia curcumin dengan gugus fenol [-OH] dan protein

thiols [-SH] yang terdapat pada EPS biofilm ditunjukkan pada Gambar 2.5 dan Gambar 2.6.

2.2.2 Penerapan Senyawa Curcumin dalam PDT

Penggunaan curcumin merupakan hal baru di bidang PDT, meskipun telah dikenal sebagai bumbu dan senyawa obat selama berabad-abad. Curcumin merupakan molekul yang sangat hidrofobik dan membutuhkan beberapa jenis formulasi untuk memungkinkannya digunakan sebagai *photosensitizer*. Curcumin dapat diaktifkan menggunakan cahaya biru (Müller et al., 2013). Curcumin dapat digunakan sebagai antimikroba (Bhawana et al., 2011), anti-kanker (Bose et al., 2015), dan *photosensitizer* dalam bidang PDT (Dev et al., 2016; Trigo Gutierrez et al., 2017).

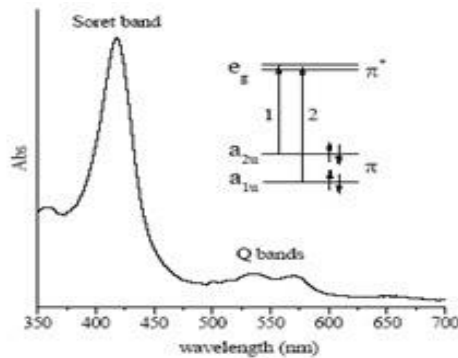
Probabilitas spektrum absorbansi *photosensitizer* saat dilewati oleh sumber cahaya pada proses perlakuan ditunjukkan dalam *Lambert-Beer Law* yaitu persamaan 4.2 :

$$Abs = 1 - \log \left(\frac{1}{T} \right) \quad (2.2)$$

dengan Abs adalah nilai absorbansi *photosensitizer* dan T adalah transmisi.

2.2.3 Porfirin sebagai Agen Fotosensitizer

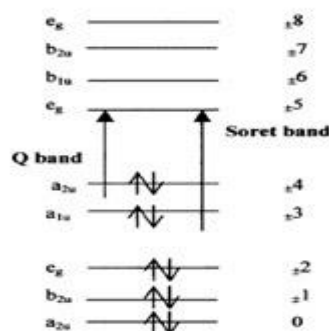
Porfirin merupakan senyawa berbentuk planar, larut sempurna dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air (karena sifat hidrofobiknya). Spektrum sinar tampak porfirin sangat khas. Pada sekitar 400 nm terdapat pita kuat ($\epsilon \sim 200000$) disebut pita solet, sedangkan di daerah 500-600 nm biasanya terdapat 4 pita berbeda, yang disebut pita Q seperti pada Gambar 2.7 (Guetierrez, 1998; Bonaficio, 2006).



Gambar 2.7 Spektrum absorpsi porfirin dan transisi yang menyebabkan terbentuknya spektrum tersebut (Bonaficio, 2006)

Spektrum porfirin terdiri atas 2 pita terpisah, muncul pada daerah ultraviolet dekat dan daerah cahaya tampak, yang menyebabkan porfirin kaya warna. Spektrum porfirin terbentuk dari transisi $\pi - \pi^*$ (teori Gouterman) (Makarska & Radzki, 2002), yang menunjukkan bahwa cincin porfirin merupakan sistem terkopel yang mengikuti hukum aromatik Hückel $4n + 2$, sehingga cincin porfirin dikatakan sebagai senyawa 16 polyene siklik pembawa 18π elektron. Pada kasus ini, keadaan dasar makrosiklik berhubungan dengan orbital lengkap dengan $\mu = 0, \pm 1, \dots, \pm 4$, sedangkan orbital eksitasi terendah dihubungkan dengan transisi dari $\mu = \pm 4$ menuju $\mu = \pm 5$.

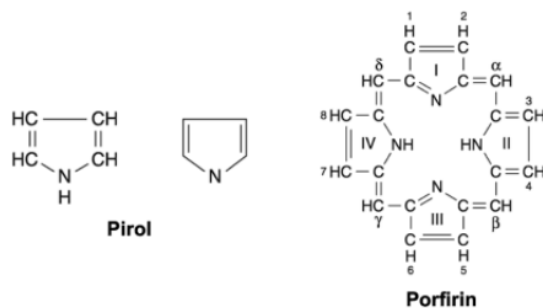
Pada model polyene yang diganggu oleh atom nitrogen dari cincin porfirin menghasilkan dua orbital lengkap a_{1u} dan a_{2u} , yang dikenal sebagai *Highest Occupied Molecule Orbital* (HOMO), dan dua orbital tak lengkap e_g , yang dikenal sebagai *Lowest Unoccupied Molecule Orbital* (LUMO). Spektrum absorpsi porfirin merupakan hasil transisi elektron $a_{1u} \rightarrow e_g$ (terbentuk pita Soret) dan $a_{2u} \rightarrow e_g$ (terbentuk pita Q) (Gambar 2.8).



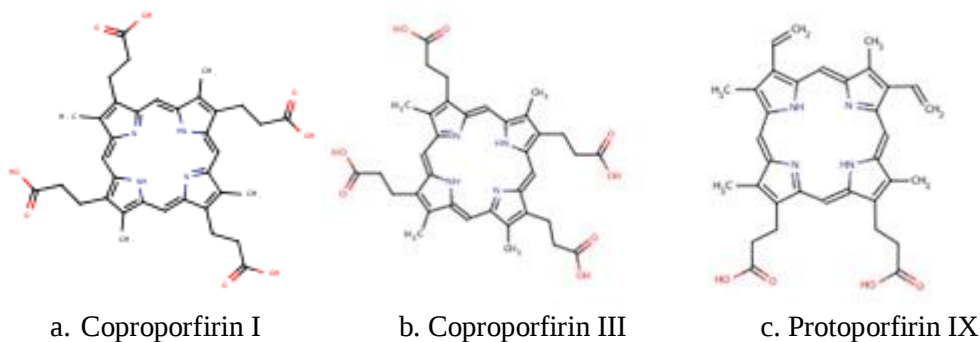
Gambar 2.8 Transisi $\pi - \pi^*$ pada porfirin (Makarska & Radzki, 2002)

2.2.4 Struktur Kimia Senyawa Porfirin

Porfirin merupakan senyawa aromatik makrosiklik spesifik (senyawa dengan gabungan cincin aromatik), yang terdiri atas empat cincin *pyrrole* yang terikat pada jembatan metan (=CH-) dan membentuk *coupled system* dari ikatan rangkap (termasuk di dalamnya 18π elektron yang terlokalisasi ($4n + 2$, dengan $n = 4$)) (Makarska & Radzki, 2002). Sifat khas dari porfirin adalah pembentukan kompleks dengan ion-ion (metaloporfirin) yang terikat pada atom nitrogen cincin-cincin pirol (Gambar 2.9)



Gambar 2.9 Pirol dan porfirin (Heme, 2004)



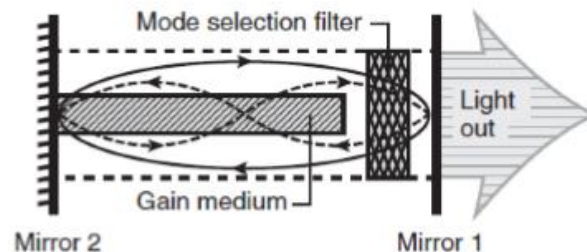
Gambar 2.10 Beberapa produk yang dapat dihasilkan dari sistesis porfirin bakteri (Heme, 2004)

5-aminolevulinic acid (5-ALA) adalah prekursor biosintetik dari semua porfirin alam (Grossweiner, 2005). Sintesis porfirin pada sel bakteri dimulai dengan pembentukan asam 5-ALA secara endogen dengan mereaksikan asam amino *glycine* dan *succinyl-CoA* dari lingkaran asam sitrat. Dua molekul ALA bergabung menjadi porfobilinogen (PBG) yang mengandung cincin *pyrrole*. Empat PBG melalui deamifikasi bergabung menjadi *hydroxymethyl bilane* (HMB), yang selanjutnya dihidrolisis menjadi *circular tetrapyrrole* uroporfirinogen III.

Coproporfirin III dengan rumus kimia $C_{36}H_{38}N_4O_8$ adalah produk akhir *tetrapyrrole* dari oksidasi spontan jembatan metilena coproporfirinogen. Molekul ini mengalami modifikasi lebih lanjut sehingga dihasilkan protoporfirin IX dengan rumus kimia $C_{34}H_{34}N_4O_4$. Hasil akhir protoporfirin IX dikombinasi dengan besi membentuk heme, sedangkan Coproporphyrin I adalah produk buntu *tetrapyrrole* dari oksidasi spontan dari jembatan metilen dari coproporphynogen, yang timbul dari sintesis heme dan disekresikan dalam tinja dan urin.

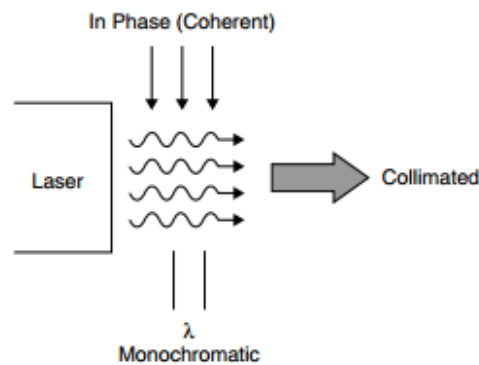
2.3 Sumber Cahaya

Laser (*light amplification by stimulated emission of radiation*) adalah suatu peralatan yang menghasilkan berkas cahaya monokromatik, terarah dan memiliki intensitas yang tinggi (Prasad, 2004). Laser memiliki tiga komponen utama yaitu bahan aktif, sistem pemompa dan resonator optik. Bahan aktif (*gain medium*) terdiri dari bahan yang mampu menyerap radiasi dengan rentang panjang gelombang tertentu (Coldren, 2012). Sistem pemompa dapat berupa energi listrik yang cukup untuk memicu terjadinya lasing medium. Resonator optik terdiri dari dua cermin yang berfungsi untuk memantulkan cahaya sehingga cahaya akan lebih diperkuat oleh bahan aktif (*gain medium*) (Prasad, 2004).



Gambar 2.11 Bahan pembentukan laser (Coldren, 2012)

Laser dioda memancarkan foton secara koheren dengan panjang gelombang tertentu dan berbahan aktif semikonduktor. Kelebihan laser dioda dibandingkan dengan cahaya konvensional lain adalah sifat laser dioda yang koheren, monokromatis, dan cahayanya yang sejajar (*collimation*).



Gambar 2.12 Sifat Cahaya Laser (Csele, 2011)

Kekoherenan laser membuat semua foton yang dipancarkan oleh laser berada dalam keadaan yang sama, seperti gelombang yang memiliki puncak dan lembah yang sama pada waktu yang sama. Kekoherenan disebabkan adanya mekanisme di dalam laser itu sendiri yakni foton mengalami pengkopian. Agar berada pada keadaan yang sama, semua pancaran foton harus memiliki panjang gelombang yang sama. Monokromatis merupakan kemampuan laser untuk menghasilkan cahaya pada satu panjang gelombang. Sedangkan *collimation* merupakan sifat dari laser yang membutuhkan kerapatan cahaya, cahaya akan sejajar pada jarak yang besar (Csele, 2011).

Laser terbentuk dari pemompaan atom – atom dari keadaan dasar kedalam eksitasi dengan energi luar berupa energi listrik atau energi cahaya sehingga terbentuk inversi populasi. Populasi atom – atom pada tingkat energi yang lebih tinggi lebih banyak sehingga saat atom –atom meluruh ketingkat energi yang lebih rendah menimbulkan pancaran foton. Foton yang dihasilkan terpantul 100% pada cermin dan terjadi emisi terstimulasi atom-atom pada zat aktif laser. Ketika foton yang dihasilkan semakin banyak ditambah dengan adanya 80 % output coupler menghasilkan cahaya yang bersifat koheren.

Warna laser pada laser dipengaruhi oleh panjang gelombang yang dimiliki oleh laser, panjang gelombang juga menentukan karakteristik dan aplikasi laser. Panjang gelombang laser dioda berkisar diantara violet hingga infrared. Kisaran panjang gelombang yang lebar merupakan keuntungan dari penggunaan laser dioda dibandingkan laser dengan tipe lain (Sun,2012). Panjang gelombang laser biru berkisar pada 410-460 nm, panjang gelombang yang pendek memberikan

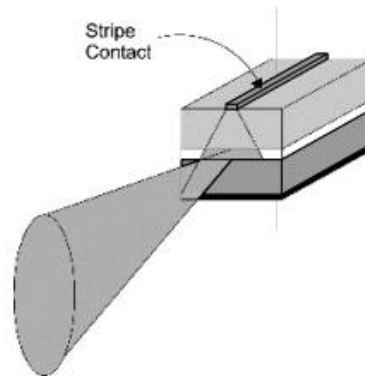
kemampuan laser untuk menangani struktur yang lebih halus, hal tersebut berkaitan dengan difraksi cahaya. Panjang gelombang laser dioda menunjukkan besar energi foton yang dikeluarkan, dapat dihubungkan dengan menggunakan persamaan:

$$\Delta E = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.3)$$

dengan λ = panjang gelombang laser dioda (nm)

h = konstanta Planck ($6,62 \times 10^{-34}$ Js)

c = kecepatan cahaya (3×10^8 m/s)



Gambar 2.13 Cahaya Keluaran Laser Dioda (Csele, 2011)

Cahaya keluaran laser dioda berbentuk eplis dengan difraksi yang terbatas. Dimensi yang lebih kecil memiliki perbedaan yang paling tinggi yang dalam peningkatan yang menuju lintasan photon primer yang mana dibatasi oleh bagian atas dan bawah lapisan dari struktur dan telah dipantulkan berkali-kali. Bagian yang lebih lebar dari device berarti memiliki pantulan yang lebih sedikit dan karenanya memiliki lebih sedikit perbedaan pada arah (Csele, 2011). Sedangkan energi yang dipancarkan oleh laser dioda dapat diketahui dengan menggunakan persamaan :

$$E = P \times t \quad (2.4)$$

Dimana : P = Daya yang dikeluarkan oleh laser dioda (W)

t = waktu pemaparan (s)

Kerapatan energi pemaparan dapat dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$D = Ixt \quad (2.5)$$

Dimana : D = Kerapatan energi (J/cm^2)

I = Intensitas cahaya (W/cm^2)

t = Waktu pemaparan (s)

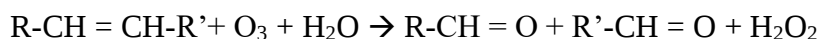
Intensitas cahaya laser diperoleh dari daya dibagi oleh luas paparan. Jika daya yang terpancar diketahui setelah dilakukan uji karakterisasi laser dengan menggunakan variasi jarak untuk mengetahui daya keluaran laser dan luas berkas keluaran diketahui maka nilai kerapatan energi ditentukan oleh lama waktu pemaparan. Jumlah photon yang dikeluarkan oleh sumber cahaya akan sama dengan jumlah energi yang dikeluarkan:

$$nh \frac{c}{\lambda} = Pt \quad (2.6)$$

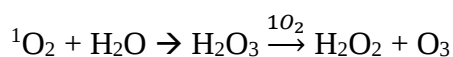
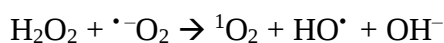
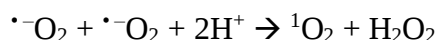
Dengan h adalah konstanta Plank sebesar 6.63×10^{-34} Js, c adalah kecepatan cahaya sebesar 3×10^8 m/s, λ adalah panjang gelombang sumber cahaya, P adalah daya keluaran, t adalah waktu emisi dan n adalah jumlah foton yang dikeluarkan.

2.4 Ozon dan Pengaruhnya pada Inaktivasi Sel

Menurut Bocci (2006), ozon dapat bereaksi dengan *polyunsaturated fatty acids* (PUFA), beberapa antioksidan seperti asam askorbat dan urin, beberapa senyawa tiol dengan gugus [-SH] seperti sistein, glutathione (GSH) dan albumin (Bocci, 2006). Biofilm memiliki senyawa tiol [-SH] yang berasal dari protein matriks EPS (Johnston et al., 2010). Enzim, karbohidrat, DNA dan RNA dapat terpengaruh oleh reaksi tersebut tergantung pada dosis ozon. Semua senyawa tersebut berperan sebagai donor elektron dan reaksinya dapat membentuk molekul *hydrogen peroxide* (H_2O_2) yang bersifat toksik. Reaksi kimia yang terjadi sebagai berikut :



Interaksi antara *photosensitizer* dan cahaya membentuk anion superoksida ($\cdot^-O_2$) dan oksigen singlet (1O_2) dan reaksi komponen ini dapat membentuk H_2O_2 dan ozon (O_3) (Onyango, 2016).

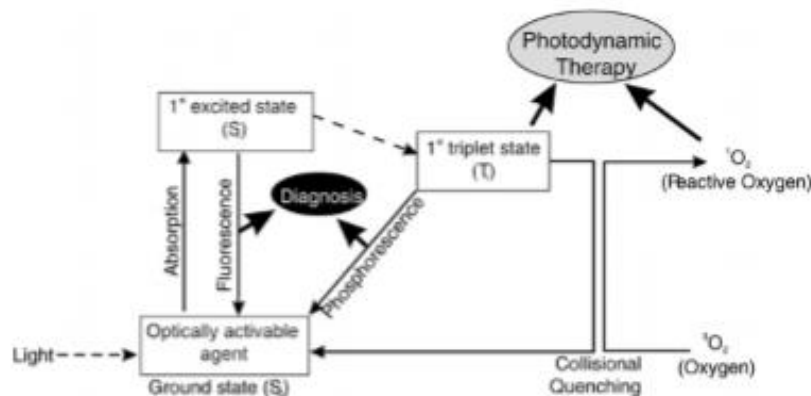


Reaksi sitotoksik yang terjadi menurut reaksi diatas dapat berlangsung secara terus menerus sehingga perlu dilakukan kontrol terhadap dosis ozon yang digunakan. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengontrol dosis ozon adalah dengan menentukan durasi paparannya.

2.5 Sistem Pengukuran

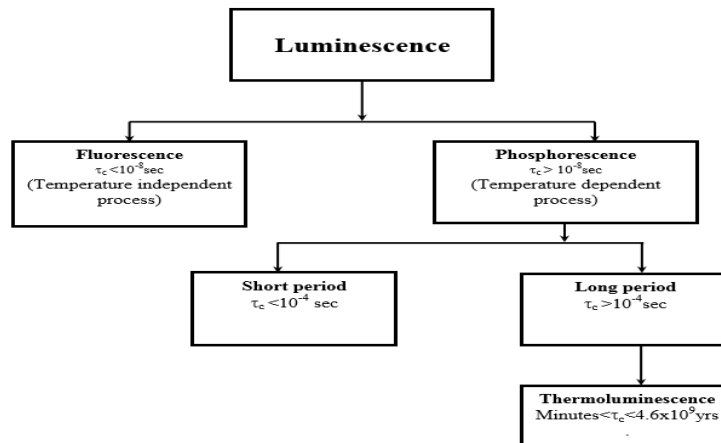
2.5.1 Faktor Deteksi

Produksi molekul beracun dapat di deteksi dengan beberapa macam cara, yaitu: (i) pengukuran tidak langsung seperti metode spektroskopi, (ii) deteksi *time- and wavelength-resolved luminescence* (TRL) dan (WRL), (iii) pencitraan langsung (Li et al., 2016; Boso et al., 2016). Diagram tingkat energi sederhana pada Gambar 2.7 menunjukkan diagnosis dapat dilakukan dengan mengukur fluoresensi dan fosforesensi yang terjadi.



Gambar 2.14 Diagram tingkat energi sederhana (Solban et al., 2005)

Pengaruh sifat optik jaringan yang bersifat penting dan mempengaruhi pengukuran fluoresensi dalam jaringan diantaranya: (i) redaman cahaya; (ii) adanya fluorophores endogen; (iii) penyerapan; (iv) hamburan; dan (v) pantulan cahaya.



Gambar 2.15 Klasifikasi *luminescence* berdasarkan durasi emisinya (Murthy & Virk, 2013)

Fluoresensi dan fosforesensi dibedakan berdasarkan durasi emisinya. *Phosphorescence* didefinisikan sebagai proses *photoluminescent* yang berasal dari keadaan elektron triplet. Emisi keadaan triplet mulai dari 10 hingga 10.000 kali lebih lama dari fluoresensi. *Fluorescence* didefinisikan sebagai emisi *photoluminescent* yang muncul dari keadaan elektron singlet. Fluorometri merupakan metode analisis kimia berdasarkan sifat *photoluminescent* (memancarkan cahaya yg diserap) suatu senyawa kimia. Prinsip pengukuran dilakukan pada cahaya yang diemisikan, bukan yang ditransmisikan. Terdapat metode yang melibatkan pembentukan fluorofofor yang mengandung ion-ion anorganik. Prosedurnya ada 2 kategori, kategori pertama melibatkan pembentukan khelat berfluoresensi antara ion dengan senyawa organik dilanjutkan dengan pengukuran emisinya. Metode ini bermanfaat untuk ion-ion logam non transisi yang mana kurang begitu kompetitif dengan proses fluoresensi dalam keadaan tereksitasi. Kategori kedua pada umumnya digunakan untuk analisis anion. Penurunan intensitas fluoresensi diamati sebagai peningkatan kuantitas anion yang ditambahkan. Efek ini disebabkan oleh pengaruh pemadaman (*quenching*) ion-ion organik pada emisi fluoresensi senyawa organik.

Pencitraan fluoresensi menyediakan banyak parameter untuk memantau informasi kimia dan dinamis yang terperinci. Parameter ini diantaranya spektrum, efisiensi kuantum, polarisasi dan *lifetime*. Sedangkan spektroskopi fluoresens meliputi studi tentang fitur-fitur untuk menyelidiki interaksi dan dinamika :

spektrum, spektrum eksitasi, *lifetime*, efisiensi kuantum dan depolarisasi. *Life-time* fluoresensi (τ) dapat didefinisikan sebagai waktu rata-rata *fluorophore* tetap berada di daerah tereksitasi setelah eksitasi. Intensitas peluruhan sebagai fungsi waktu (Yeh et al., 2014) dapat dinyatakan sebagai berikut:

$$I_t = Ae^{-t/\tau} \quad (2.7)$$

Adapun faktor – faktor yang mempengaruhi fluoresensi dan fosforesensi yaitu :

1. Hasil kuantum (efisiensi kuantum, *quantum yield*)

Merupakan bilangan yang menyatakan perbandingan antara jumlah molekul yang berfluoresensi terhadap jumlah total molekul yang tereksitasi. Besarnya quantum (Φ) adalah : $0 \leq \Phi \leq 1$. Nilai Φ diharapkan adalah mendekati 1, yang berarti efisiensi fluoresensi sangat tinggi.

2. Pengaruh kekakuan struktur

Fluoresensi dapat terjadi dengan baik jika molekul-molekul memiliki struktur yang kaku (rigid). Contoh fluoren yang memiliki efisiensi kuantum (Φ) yang besar (mendekati 1) karena adanya gugus metilen, dibandingkan dengan binefil yang memiliki efisiensi kuantum yang lebih kecil (sekitar 0,2).

3. Pengaruh suhu

Bila suhu makin tinggi maka efisiensi kuantum fluoresensi makin berkurang. Hal ini disebabkan pada suhu yang lebih tinggi, tabrakan-tabrakan antar molekul atau tabrakan molekul dengan pelarut menjadi lebih sering, yang mana pada peristiwa tabrakan, kelebihan energi molekul yang tereksitasi dilepaskan ke molekul pelarut. jadi semakin tinggi suhu maka terjadinya konversi ke luar besar, akibatnya efisiensi kuantum berkurang.

4. Pengaruh pelarut

Ada 2 hal yang perlu diperhatikan terkait dengan pengaruh pelarut pada fluoresensi, yaitu jika pelarut makin polar maka intensitas fluoresensi makin besar. Namun jika pelarut mengandung logam berat (Br, I atau senyawa lain), maka interaksi antara gerakan spin dengan gerakan orbital elektron-elektron ikatan lebih

banyak terjadi dan hal tersebut dapat memperbesar laju lintasan antara sistem atau mempermudah pembentukan triplet sehingga kebolehan fluoresensi lebih kecil, sedangkan kebolehan fosforesensi menjadi lebih besar.

5. Pengaruh pH

pH berpengaruh pada letak keseimbangan antar bentuk terionisasi dan bentuk tak terionisasi. Sifat fluoresensi dari kedua bentuk itu berbeda. Sebagai contoh, fenol dalam suasana asam akan berada dalam bentuk molekul utuh dengan panjang gelombang antara 285-365 nm dan nilai $\epsilon = 18 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, sementara jika dalam suasana basa maka fenol akan terionisasi membentuk ion fenolat yang mempunyai panjang gelombang antara 310-400 nm dan $\epsilon = 10 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

6. Pengaruh oksigen terlarut

Adanya oksigen akan memperkecil intensitas fluoresensi. Hal ini disebabkan oleh terjadinya oksidasi senyawa karena pengaruh cahaya (*photochemically induced oxidation*). Pengurangan intensitas fluoresensi disebut pemadaman sendiri atau quenching. Molekul oksigen bersifat paramagnetik, dan molekul yang bersifat seperti ini dapat mempengaruhi dan mempermudah lintasan antara sistem sehingga memperkecil kemungkinan fluoresensi, sebaliknya memperbesar kebolehan fosforesensi.

7. Pemadaman (*quenching*) sendiri dan penyerapan sendiri

Pemadaman sendiri disebabkan oleh tabrakan-tabrakan antar molekul zat itu sendiri. Tabrakan-tabrakan itu menyebabkan energi yang tadinya akan dilepaskan sebagai sinar fluoresensi ditransfer ke molekul lain, akibatnya intensitas berkurang.

2.5.2 ELISA reader

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) merupakan metode pengujian yang menggunakan antibodi dan perubahan warna untuk mendeteksi suatu unsur. Prinsip dasar ELISA yaitu analisis interaksi cahaya antara antigen dan antibodi yang terabsorpsi secara pasif pada permukaan fase padat dengan menggunakan konjugat antibodi atau antigen. Konjugat tersebut akan berinteraksi dengan substrat dan menghasilkan warna. Warna tersebut dapat ditentukan

kualitatif dengan pandangan mata atau kuantitatif dengan pembacaan nilai absorbansi atau *optical density* (OD) menggunakan *ELISA reader*. Nilai absorbansi ini menggambarkan jumlah sel yang hidup. Semakin tinggi nilai absorbansinya mengindikasikan mortalitas (kematian) sel yang rendah. Selain itu semakin kuat intensitas warna yang terbentuk maka nilai absorbansinya akan semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak MTT yang diabsorbansi oleh sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria sehingga formazan yang terbentuk juga semakin banyak. Intensitas warna yang terbentuk berbanding langsung dengan jumlah sel hidup yang melakukan metabolisme.

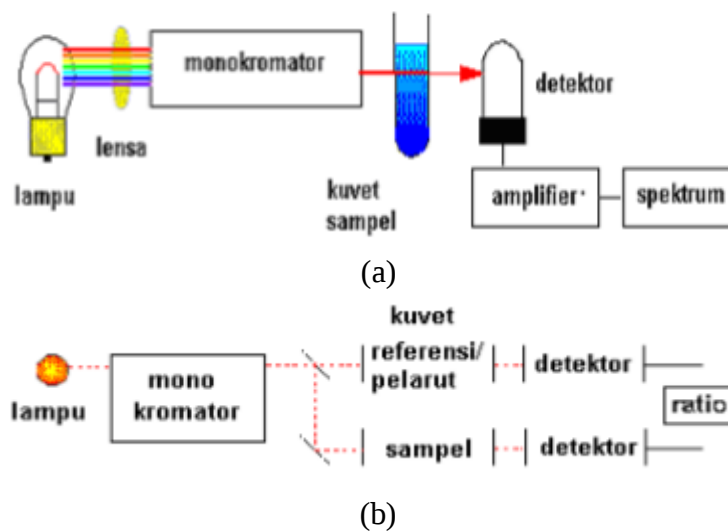
2.5.3 Spektrofotometri

Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mengeksitasi elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm.

Absorpsi cahaya UV-Vis mengakibatkan transisi elektronik, yaitu eksitasi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi yang berenergi lebih tinggi. Energi yang terserap kemudian terbuang sebagai cahaya atau tersalurkan dalam reaksi kimia. Absorpsi cahaya tampak dan radiasi ultraviolet meningkatkan energi elektronik sebuah molekul, artinya energi yang disumbangkan oleh foton-foton memungkinkan elektron-elektron itu mengatasi kekangan inti dan pindah ke luar ke orbital baru yang lebih tinggi energinya. Semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-Vis karena mereka mengandung elektron yang dapat tereksitasi.

Instrumen sumber cahaya yang biasanya digunakan lampu hidrogen atau deuterium untuk pengukuran uv dan lampu tungsten untuk pengukuran pada cahaya tampak (*visible*). Panjang gelombang dari sumber cahaya akan dibagi oleh pemisah panjang gelombang (*wavelength separator*) seperti prisma atau monokromator.

Spektrum didapatkan dengan cara *scanning* oleh *wavelength separator* sedangkan pengukuran kuantitatif bisa dibuat dari spektrum atau pada panjang gelombang tertentu. Gambar 2.16 menunjukkan skema (a) dan skema (b). Skema (a) adalah alat spektrofotometer UV-Vis yang memiliki sumber cahaya tunggal, dimana sinyal pelarut dihilangkan terlebih dahulu dengan mengukur pelarut tanpa sampel, setelah itu larutan sample dapat diukur. Skema (b) adalah skema alat spektrofotometer UV-Vis yang memiliki sumber cahaya ganda (*double beam*). Pada alat ini larutan sampel dimasukkan bersama-sama dengan pelarut yang tidak mengandung sampel. Alat ini lebih praktis dan mudah digunakan serta memberikan hasil yang optimal.



Gambar 2.16 (a) Skema alat spektrofotometer UV-Vis single-beam, (b) Skema alat spektrofotometer UV-Vis double-beam (Murthy & Virk, 2013)

Spektrum yang dikeluarkan oleh UV-Vis berupa pita yang lebar, karena energi yang dimiliki selain menyebabkan transisi elektronik terjadi pula rotasi dan vibrasi electron dalam molekul.

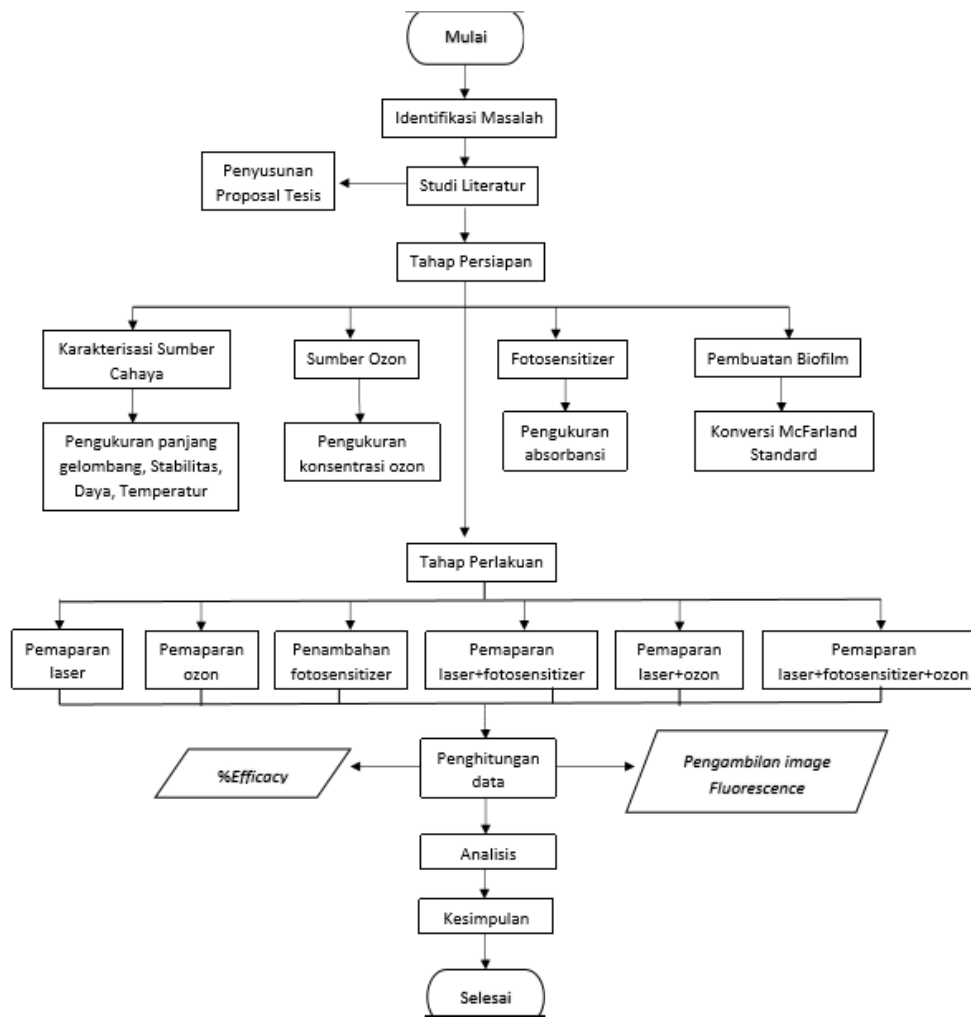
Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 3

METODA PENELITIAN

3.1 Diagram Alir Penelitian

Diagram alir penelitian ini menjelaskan tentang alur dari penelitian tesis yang dilakukan untuk mencapai tujuan. Diagram alir penelitian ditampilkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

3.2 Identifikasi

Penelitian ini secara laboratoris bertujuan mengetahui pengaruh penambahan gas ozon pada PDT terhadap reduksi biofilm *S. aureus*. Perlakuan PDT pada penelitian ini menggunakan curcumin dari ekstrak *C. longa* dan porfirin bakteri *S. aureus* sebagai photosensitizer serta sumber cahaya yang sesuai dengan

absorbansinya. Jenis kelompok yang digunakan adalah kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan menggunakan variasi waktu *exposure* ozon (10 detik, 20 detik, 30 detik, 40 detik dan 50 detik) dan variasi rapat energi penyinaran sumber cahaya. Pada kelompok kontrol tidak diberikan perlakuan apapun sedangkan kelompok perlakuan melalui proses pemaparan laser, penambahan *photosensitizer*, penambahan ozon dan kombinasi. Kedua kelompok akan dihitung nilai optical density (OD) setelah melalui tahapan perlakuan dan pewarnaan biofilm dengan menggunakan kristal violet. Variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya :

Variabel bebas	: waktu <i>exposure</i> ozon, rapat energi penyinaran laser
Variabel terikat	: OD (optical density), jumlah koloni bakteri
Variabel terkendali	: kultur bakteri (72 jam inkubasi), temperatur, medium agar

3.3 Tahap Persiapan

3.3.1 Karakterisasi Curcumin

Fotosensitizer yang digunakan pada penelitian ini berupa curcumin dari ekstrak kunyit (*Curcuma L.*) (Merck, Germany). Serbuk curcumin tersebut memiliki spesifikasi sebagai berikut :

Linear formula : $[\text{HOC}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CHO}]_2\text{CH}_2$

Molecular formula : $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$

Molecular weight : 368.38

Vapour density : 13 (vs air)

Solubility : etanol : 10 mg/mL

DMSO : >11 mg/mL

0.5 M NAOH : *soluble (then immediately dilute in PBS)*

Storage temp. : -20°C

Pengujian yang dilakukan meliputi uji absorbansi dan uji antibakteri. Uji absorbansi dilakukan menggunakan *Genesys 30S UV-Vis Spectrophotometer*. Sampel curcumin dan blanko dimasukkan ke dalam alat kemudian rentang panjang gelombang di atur 350 – 500 nm dengan interval 1 nm. Hasil yang terbaca pada display berupa panjang gelombang dan nilai absorbansinya.

Uji antibakteri dilakukan menggunakan *blanc disk*. Pembuatan kultur dilakukan menggunakan teknik *spread plate* dengan membuat 10 ml media TSA dalam cawan petri diameter 9 cm kemudian diatasnya dimasukkan 50 µL suspensi bakteri *S. aureus*. *Blanc disk* ditetesi dengan 10 µL curcumin dan dibiarkan selama kurang lebih 3 menit agar meresap. Masukkan *blanc disk* dalam cawan yang telah diberi kultur tadi dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya hasil perhitungan uji ini dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk.

3.3.2 Karakterisasi Porfirin dan Pewarna Fluorescence

Fotosensitizer endogen yang digunakan pada penelitian ini adalah porfirin bakteri *S. aureus*. Pewarna fluorescence yang digunakan dalam penelitian ini adalah AO (*Acridine Orange*). Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan *Genesys 30S UV-Vis Spectrophotometer*. Sampel dan blanko dimasukkan ke dalam alat kemudian rentang panjang gelombang di atur 350 – 500 nm dengan interval 1 nm. Hasil yang terbaca pada display berupa panjang gelombang dan nilai absorbansinya.

3.3.3 Pembuatan Biofilm *S. aureus*

Isolat bakteri *S. aureus* (ATCC 28923) diperoleh di Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga ditumbuhkan di TSA (*Tryptic soy agar*) (Oxoid, UK). Isolat bakteri diambil dan ditaruh pada larutan TSB (*Tryptic soy broth*) (Merck, Germany) dan diinkubasi selama 24 jam sampai diperoleh nilai OD_{600nm} 0.5 atau setara dengan $\sim 10^6$ CFU/mL. Kultur bakteri diambil 100 µL dan ditambahkan 2% sukrosa ditempatkan di setiap well. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Sampel biofilm *S. aureus* yang telah terbentuk dapat diberi perlakuan. Sampel dibersihkan dengan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) pH 7.4

sebanyak 3 kali. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan 200 μ L 2% kristal violet. Sampel dicuci kembali menggunakan aquades untuk menghilangkan kristal violet. Setelah pencucian, sampel diletakkan di suhu ruang agar kering. Sampel ditambahkan 100 μ L 33% Asam Asetat Glacial (GAA) lalu dihitung nilai OD₅₉₅ dengan menggunakan ELISA reader.

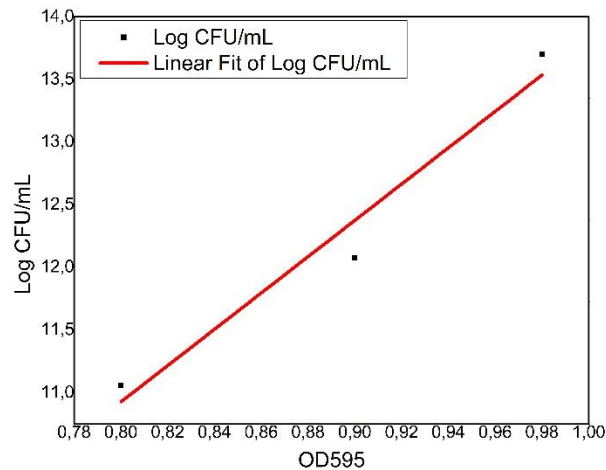
3.3.4 Kurva Standar McFarland

Uji ini bertujuan untuk membuat kurva standar McFarland yang akan digunakan sebagai konversi dari nilai OD ke CFU/mL. Proses yang pertama dilakukan adalah menentukan variasi OD yang akan digunakan, kemudian mencampurkan 1 ose *S. aureus* ke dalam SDB 8% glukosa. Kultur tersebut sebanyak 200 μ L dimasukkan ke dalam 96-wells microplate. Kultur diuji tingkat absorbansinya menggunakan ELISA reader. Pada masing-masing nilai OD tersebut dilakukan pengenceran sampai jumlah koloni yang dihasilkan berkisar antara 30 - 300 koloni. Hasil 3 pengenceran terakhir di *plating* pada cawan petri yang berisi 10 mL TSA dan 50 μ L suspensi pengenceran. Cawan petri kemudian di simpan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang telah tumbuh kemudian dihitung menggunakan *colony counter*.

Hasil uji McFarland ditunjukkan pada Tabel 3.1. Pada kolom pertama menunjukkan nilai OD (*optical density*) yang diperoleh dari pengukuran menggunakan ELISA Reader sedangkan kolom kedua menunjukkan banyaknya pengenceran yang dilakukan. Pada kolom keempat adalah besarnya nilai CFU/mL yaitu banyaknya bakteri yang hidup pada sampel per mililiter. Pada kolom keenam menunjukkan nilai logaritma dari CFU/mL. Hubungan antara besarnya nilai OD dan log CFU/mL ditampilkan pada Gambar 3.2.

Tabel 3.1 Hasil McFarland biofilm *S. aureus*

OD	Pengenceran ke-n	SD	CFU/mL	SD	Log CFU/mL	SD
0.80	8	0.01	1.20×10^{11}	8.17×10^{11}	11.06	0.26
0.90	9	0.02	1.23×10^{12}	3.10×10^{11}	12.08	0.11
0.98	10	0.02	5.06×10^{13}	1.80×10^{12}	13.70	0.02



Gambar 3.2 Grafik hubungan antara OD595 dengan log CFU/ml

Pada Gambar 3.2, garis merah menunjukkan hasil fitting dari fungsi linear dan titik hitam adalah hasil pengukuran. Grafik Gambar 4.6 memiliki nilai regresi $R^2 = 0.92$ yang menunjukkan bahwa hasil pengukuran mendekati fungsi linear. Nilai regresi linear pada grafik hasil uji McFarland akan digunakan untuk mengkonversikan nilai OD₅₉₅ pada sampel perlakuan menjadi nilai logaritma dari CFU/mL.

3.3.5 Karakterisasi Laser

Laser dioda memiliki spesifikasi tertentu pada sifat dan bahan aktif (*gain medium*) yang digunakan. Sifat yang dimiliki laser dioda diantaranya koheren, monokromatis dan kolimasi (rapat). Sedangkan bahan aktif yang digunakan akan mempengaruhi warna keluaran berkas laser. Pada percobaan ini dilakukan pengkarakterisasian laser dioda biru untuk mengetahui spesifikasi laser serta memperoleh daya optimum untuk inaktivasi *S. aureus*. Karakterisasi yang dilakukan meliputi panjang gelombang, intensitas, suhu saat perlakuan dan luas berkas.

Karakterisasi panjang gelombang dilakukan menggunakan detektor, monokromator Jasco CT-10, PC dan OPM (*Optical Power Meter*) Thorlabs PM100D. Berkas laser ditembakkan pada celah kisi monokromator yang telah diatur panjang gelombangnya antara 350 nm – 500 nm dengan interval 1 nm. Kemudian keluaran berkas laser ditangkap oleh detektor yang dihubungkan dengan OPM Thorlabs PM100D untuk membaca keluaran daya laser. Display berupa PC

dihubungkan dengan OPM Thorlabs PM100D dan menjalankan program PM100D *Utility* menampilkan panjang gelombang dan keluaran daya laser yang terbaca.

Karakterisasi daya dilakukan menggunakan detektor, PC dan OPM (*Optical Power Meter*) Thorlabs PM100D. Berkas laser ditembakkan pada detektor yang jaraknya diubah-ubah antara 0 – 5 cm dengan interval 0.5 cm. Detektor dihubungkan dengan OPM Thorlabs PM100D untuk membaca keluaran daya laser. Display berupa PC dihubungkan dengan OPM Thorlabs PM100D dan menjalankan program PM100D *Utility* menampilkan jarak dan keluaran daya laser yang terbaca. Selanjutnya, berkas laser ditembakkan ke detektor dengan diberi jarak pada keluaran daya laser tertinggi selama 1000 detik dengan interval 1 detik. Hasil yang terbaca pada display berupa waktu dan keluaran daya laser.

Karakterisasi suhu dilakukan menggunakan multimeter suhu. Berkas laser ditembakkan ke cawan berisi media dengan jarak tertentu selama 250 detik dengan interval 1 detik. Didalam cawan tersebut terdapat sensor suhu yang terhubung dengan multimeter suhu. Hasil pembacaan detektor ditampilkan pada display.

Karakterisasi luas berkas dilakukan menggunakan kertas millimeter block. Berkas laser ditembakkan pada kertas millimeter block yang jaraknya diubah-ubah antara 0 – 5 cm dengan interval 0.5 cm. Kemudian berkas yang terlihat digambar dan dihitung luasnya. Uji ini digunakan untuk mengetahui luas keluaran berkas laser yang sesuai dengan sampel yang ada didalam *96-well microplates*.

3.4 Tahap Perlakuan

3.4.1 Pembagian Kelompok

Tahap perlakuan dimulai dengan membagi kelompok *treatment* sebagai berikut :

Kelompok Control + : Kelompok tanpa perlakuan apapun.

Kelompok Control - : Kelompok yang berisi media saja (tanpa bakteri / sampel).

Kelompok C : Kelompok dengan penambahan sensitizer curcumin

Kelompok PO : Kelompok dengan sensitizer porfirin dan penambahan gas ozon (5 variasi).

Kelompok CO : Kelompok dengan penambahan sensitizer curcumin dan penambahan gas ozon (5 variasi).

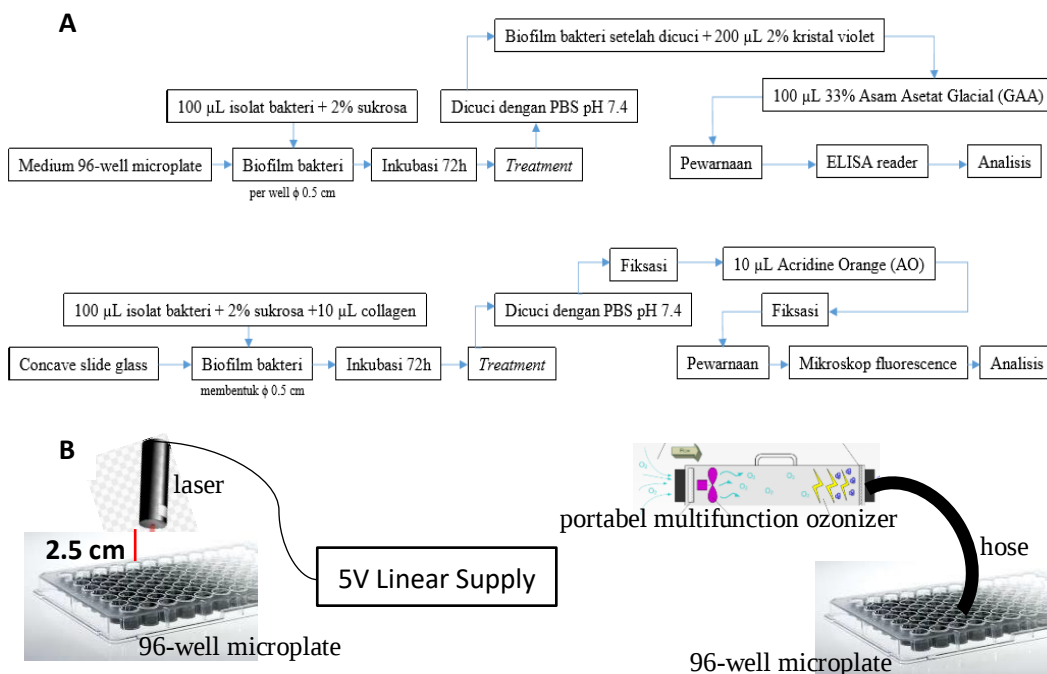
Kelompok PL : Kelompok dengan fotosensitizer porfirin dan pemberian paparan sumber cahaya (5 variasi).

Kelompok CL : Kelompok dengan penambahan fotosensitizer curcumin dan pemberian paparan sumber cahaya (5 variasi).

Kelompok PLO : Kelompok dengan perlakuan kombinasi yaitu fotosensitizer porfirin, paparan sumber cahaya (5 variasi) dan penambahan ozon (5 variasi).

Kelompok CLO : Kelompok dengan perlakuan kombinasi yaitu fotosensitizer curcumin, paparan sumber cahaya (5 variasi) dan penambahan ozon (5 variasi).

Skematik perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.3 dibawah.



Gambar 3.3 (a) Skema tahap perlakuan menggunakan ELISA reader dan mikroskop fluorescence (b) Skema *treatment* laser dan ozon

3.4.2 Uji Microscope Fluorescence

Proses pembuatan sampel untuk uji fluoresen diawali dengan pembuatan larutan pewarna bakteri. Larutan pewarna sampel dibuat dengan menambahkan 33% Glacial Acetic Acid 5 ml dan 1 ml Acridine Orange (AO) pada 45 ml air steril lalu di vortex hingga homogen. Kultur bakteri dibuat dengan mengambil isolat bakteri *S. aureus* pada agar miring dengan menggunakan ose sebanyak 1-2 ose. Selanjutnya dimasukkan kedalam tabug reaksi yang berisi 9 ml tryptic soy broth (TSB) steril dan dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Kultur dihitung nilai OD595 dengan menggunakan spektrofotometer. Sebanyak 20 ul 2% sukrosa, 10 ul kolagen dan 80 ul kultur diletakkan pada concave slide glass. Sampel diletakkan pada cawan dan diinkubasi selama 72 jam pada temperatur 37°C. Sampel yang telah diinkubasi kemudian diberi perlakuan. Sampel kelompok kontrol ataupun perlakuan dicuci dengan Posphat buffer saline (PBS) sebanyak 3 kali. Sampel difiksasi pada suhu ruang dan selanjutnya dilakukan staining dengan larutan pewarna AO lalu difiksasi kembali. Setelah sampel kering, sampel siap diuji dengan mikroskop fluoresen.

Hasil uji fluoresen berupa gambar yang menunjukkan adanya sel bakteri. Hasil uji ini dianalisis dengan menggunakan software imageJ untuk mengetahui banyaknya sel bakteri. Langkah pertama dalam menganalisis adalah mengubah gambar dalam 8 bit terlebih dahulu kemudian sel yang ingin dihitung ditandai dengan menggunakan perintah Thershold. Setelah ditandai, sel dianalisis sehingga diketahui jumlah sel bakteri dengan Analysis Particle maka akan muncul angka yang menandakan banyaknya sel yang terhitung.

3.5 Analisis

Data yang diperoleh berupa data rata-rata dan standar deviasi dengan perulangan n = 10.

$$\% Efficacy = \left(\frac{\Sigma_{kontrol} (CFU/mL) - \Sigma_{perlakuan} (CFU/mL)}{\Sigma_{kontrol} (CFU/mL)} \right) \times 100 \% \quad (3.1)$$

Halaman ini sengaja dikosongkan

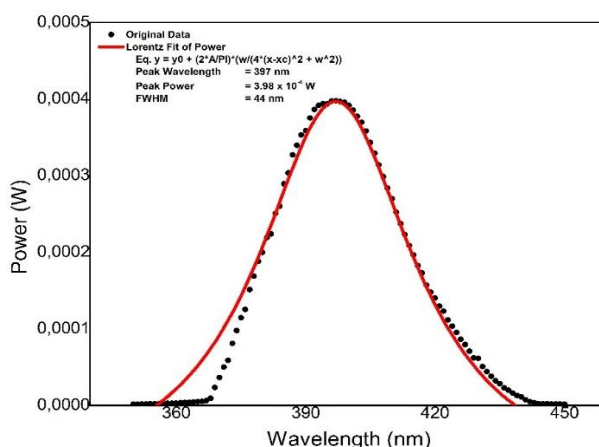
BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Karakterisasi Sumber Cahaya

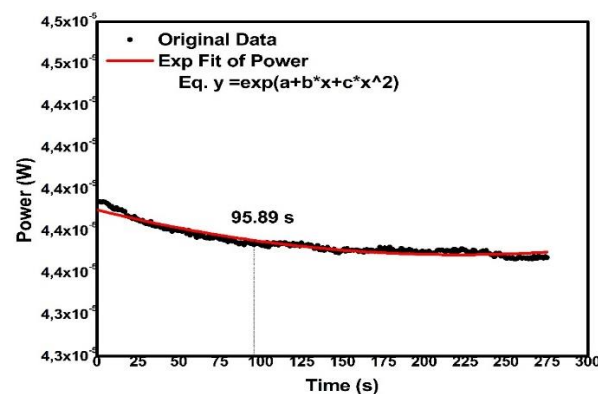
Sumber cahaya yang digunakan adalah laser diode. Spektrum panjang gelombang laser diukur dengan menggunakan *monochromator* menunjukkan puncak panjang gelombang di 397 nm yang ditunjukkan pada Gambar 4.1. Lingkaran hitam menyatakan hasil kuantitatif dari pengukuran sedangkan garis merah merupakan hasil fitting. Nilai *power* pada puncak panjang gelombang sebesar $0.398 \pm 0,01$ mW.



Gambar 4.1 Karakterisasi panjang gelombang laser dioda

Panjang gelombang ini akan sangat mempengaruhi dalam proses fotofisika untuk perlakuan PDT. Proses fotofisika melibatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu yang dapat mengaktifkan suatu molekul (*photosensitizer*). Pengaktifan *photosensitizer* akan melibatkan penyerapan energi foton oleh *photosensitizer* yang mengakibatkan *electron* tereksitasi dan molekul menjadi tidak stabil. Molekul *photosensitizer* akan menstabilkan dengan 2 cara yaitu *internal conversion* (IC) dan *intersystem crossing* (ISC). Proses IC ini akan menghasilkan fluorescence sedangkan proses ISC akan menghasilkan phosphorescence atau merubah molekul oksigen. Proses perubahan molekul oksigen ini dapat terjadi dengan 2 cara yaitu transfer *electron* yang menghasilkan HO^- dan transfer energi yang merubah $^3\text{O}_2$ menjadi $^1\text{O}_2$. Proses tersebut tentunya dipengaruhi oleh jumlah

energi foton dan stabilitas dayanya. Stabilitas daya keluaran yang diberikan oleh laser ditunjukkan oleh Gambar 4.2. Lingkaran hitam menyatakan hasil dari uji karakterisasi sedangkan garis merah adalah hasil fitting. Dari grafik dapat dilihat bahwa kestabilan daya terletak setelah 95.89 detik. Berdasarkan hasil uji ini, peneliti harus menghidupkan laser selama 96 detik terlebih dahulu sebelum digunakan untuk perlakuan sehingga mencapai kestabilan daya. Daya pada perlakuan dan karakterisasi diasumsikan sama sehingga besarnya daya dapat dijadikan dasar dalam penghitungan rapat energi penyinaran laser.



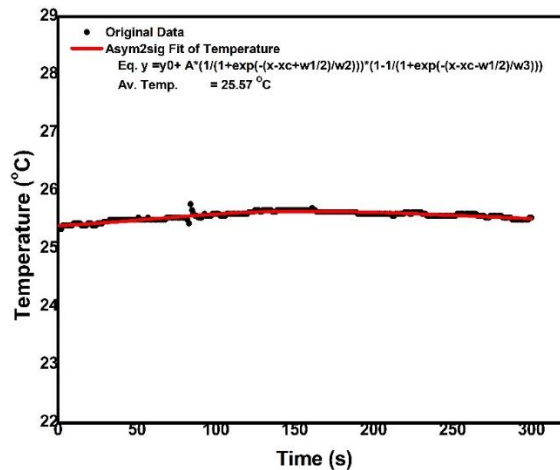
Gambar 4.2 Karakterisasi daya keluaran laser diode terhadap waktu

Hasil karakterisasi panjang gelombang dan stabilitas daya ini akan menentukan jumlah foton yang diemisikan setiap waktu menggunakan persamaan 2.6. Jumlah foton dan densitas energi sumber cahaya yang digunakan ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Kerapatan energi yang diemisikan oleh laser dioda

Energi Foton (Js)	Jumlah Foton	Luas Area (cm ²)	Daya Laser (W)	Waktu (s)	Rapat Energi (J/cm ²)
5.00 x 10 ⁻¹⁹	8.77 x 10 ¹⁴	0.24	4.38 x 10 ⁻⁵	10	1.83 x 10 ⁻³
	1.75 x 10 ¹⁵			20	3.65 x 10 ⁻³
	2.63 x 10 ¹⁵			30	5.48 x 10 ⁻³
	3.51 x 10 ¹⁵			40	7.30 x 10 ⁻³
	4.48 x 10 ¹⁵			50	9.13 10 ⁻³

Temperatur medium yang terkena paparan cahaya dapat mempengaruhi perlakuan. Adanya perubahan temperatur yang ekstrim dapat menyebabkan kematian pada bakteri sehingga faktor kematiannya disebabkan oleh efek fototermal. Hasil uji temperatur ditunjukkan pada Gambar 4.3. Lingkaran hitam merupakan hasil uji karakterisasi sedangkan garis merah adalah hasil fitting.



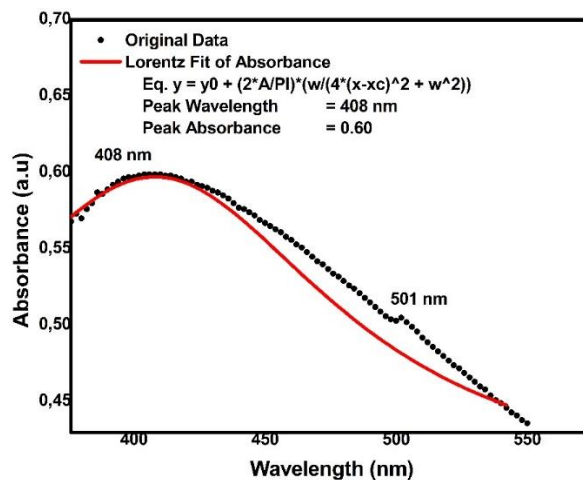
Gambar 4.3 Karakterisasi temperatur medium terhadap waktu

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa selama 300 detik, temperatur medium terletak pada temperatur lingkungan dengan perubahan tiap detiknya tidak jauh berbeda atau stabil dengan rata-rata 25.57 °C. Pada kondisi ini menandakan bahwa temperatur tidak mempengaruhi kematian bakteri sehingga kematian bakteri hanya dipengaruhi oleh adanya penyerapan cahaya yang mengakibatkan terjadinya proses fotofisika.

4.1.2 Karakterisasi *Photosensitizer*

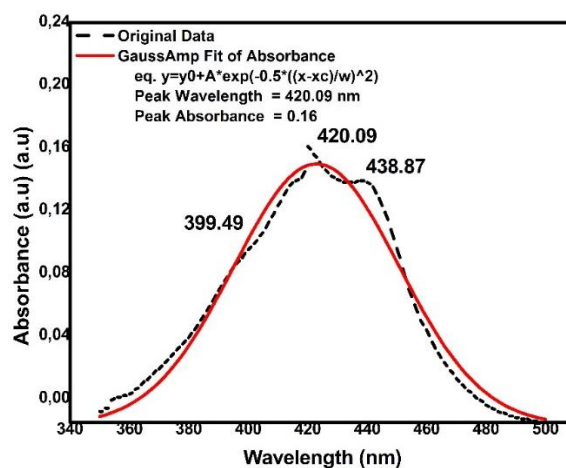
Photosensitizer merupakan molekul yang dapat diaktifkan dengan cahaya agar menghasilkan suatu unsur kimia yang bersifat toksik. Molekul ini dapat diperoleh secara alamiah maupun secara konvensional yaitu melalui proses kimia. *Photosensitizer* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *porphyrin* yang dihasilkan oleh bakteri *S. aureus* dan curcumin dari ekstrak *Curcuma longa* (Merck, Germany). Karakterisasi *photosensitizer* yang dilakukan adalah mengukur nilai absorbansi bakteri *S. aureus* bertujuan untuk mengetahui kesesuaian panjang gelombang laser dengan absorbansi endogen porfirin bakteri. Hasil uji absorbansi bakteri *S. aureus* yang ditampilkan pada Gambar 4.4 menunjukkan bahwa puncak

absorbansi maksimum terletak pada panjang gelombang 408 nm. Puncak absorbansi ini masih dalam *range* panjang gelombang laser.



Gambar 4.4 Absorbansi endogen *porphyrin* bakteri *S. aureus*

Pengukuran nilai absorbansi curcumin bertujuan untuk mengetahui kesesuaian panjang gelombang laser dengan absorbansi *photosensitizer* eksogen (Curcumin). Hasil uji absorbansi curcumin (sampel 3) yang ditampilkan pada Gambar 4.5 menunjukkan bahwa puncak absorbansi maksimum terletak pada panjang gelombang 420.09 nm. Puncak absorbansi ini bergeser cukup jauh dibanding puncak absorbansi bakteri *S. aureus*, namun keduanya masih dalam *range* panjang gelombang laser.



Gambar 4.5 Absorbansi *photosensitizer* eksogen (Curcumin)

Setiap *photosensitizer* memiliki spektrum absorbansi tertentu. Dalam penelitian ini ditunjukkan spektrum absorbansi *photosensitizer* endogen (*porphyrin* bakteri *S. aureus*) dan eksogen (Curcumin) pada Gambar 4.4 dan Gambar 4.5.

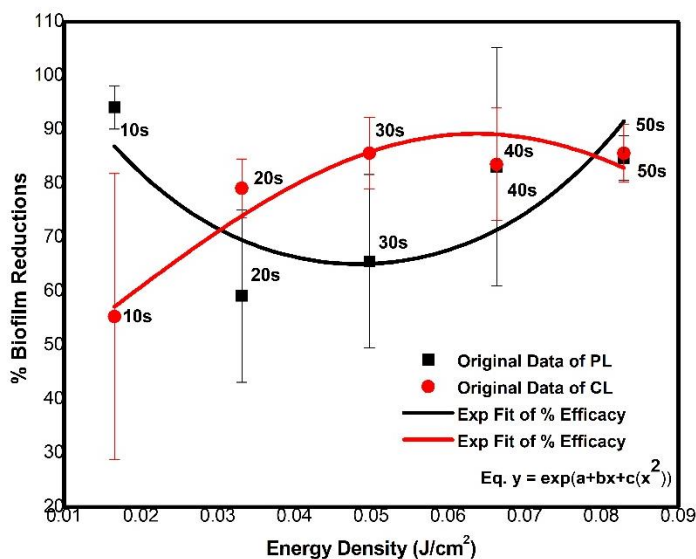
Curcumin memiliki 3 puncak absorbansi dengan pita Soret tertinggi berada di 420.09 nm sedangkan yang lain berada di 399.49 nm dan 438.87 nm. Pada Gambar 4.5 sampel curcumin memiliki bentuk grafik yang terlihat seperti terputus. Hal ini disebabkan sampel curcumin saat dalam bentuk cair (*liquid*) bersifat tidak stabil dibanding saat dalam bentuk *powder*. Curcumin dalam bentuk cair lebih cepat berubah menjadi *demethoxy* dan *bisdemethoxy*. Beberapa faktor yang mempengaruhi kestabilan curcumin adalah pH dan cahaya. Prinsipnya curcumin relative stabil pada pH asam, tetapi akan terdekomposisi secara cepat pada pH diatas netral. Bila curcumin terkena cahaya, akan terjadi dekomposisi struktur berupa degradasi fotokimia. Produk fotodegradasi curcumin misalnya asam vanilat, vanillin dan asam ferulat (Sasaki et al., 1998). *Photosensitizer* endogen pada penelitian ini memiliki puncak pita Soret tertinggi 408 nm sedangkan pita Soret lain muncul di 501.37 nm. Pita Soret yang ditunjukkan pada *photosensitizer* endogen memiliki lebar pita yang lebih besar dibanding Curcumin.

Pengukuran absorbansi ini akan mempengaruhi nilai dari *Quantum yield* (ϕ). Nilai ϕ menunjukkan kemampuan *photosensitizer* dalam menyerap energi foton dari sumber cahaya. Semakin tinggi persentase serapan maka semakin banyak jumlah energi foton yang di absorpsi. *Porphyrin* memiliki absorbansi sebesar 0.60 pada 408 nm dan transmisinya 0.40 sedangkan memiliki absorbansi sebesar 0.16 pada 420.09 nm dan transmisinya 0.14. Nilai ϕ dari (*porphyrin*) sebesar 60% sedangkan curcumin memiliki nilai ϕ sebesar 86%. Berdasarkan nilai ϕ ini penggunaan curcumin dapat memaksimalkan tingkat kematian sel dibanding menggunakan molekul *porphyrin* dari dalam tubuh bakteri tersebut. Hal ini disebabkan oleh tingginya energi foton yang mampu diserap oleh molekul curcumin sehingga banyak molekul tereksitasi dan memungkinkan terjadinya efek fotokimia tipe I atau tipe II.

4.1.3 Hasil Analisis Perbandingan Perlakuan *Photodynamic* Endogen dengan Eksogen (Curcumin)

Perbandingan perlakuan PDT menggunakan *photosensitizer* endogen dan eksogen dilakukan untuk mengetahui keefektifannya dari perbandingan

reduksinya. Perbandingan perlakuan PDT menggunakan *photosensitizer* endogen (PL) dengan eksogen (CL) ditunjukkan pada Gambar 4.6.

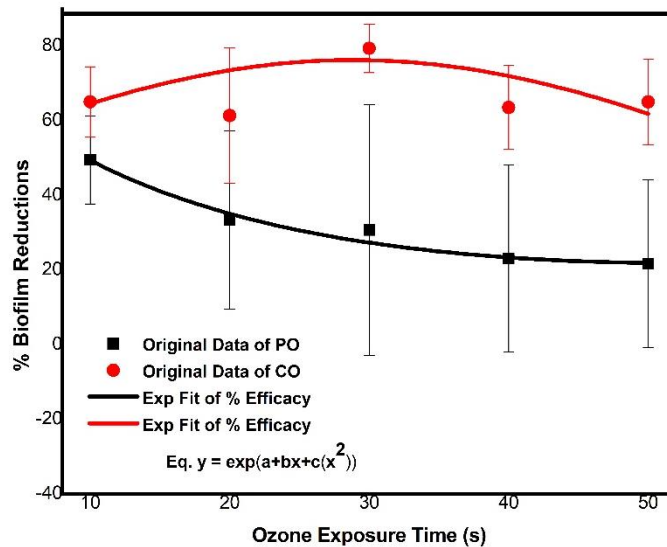


Gambar 4.6 Perbandingan PDT menggunakan *photosensitizer* endogen dan eksogen dengan variasi kerapatan energi

Gambar 4.6, data PL ditunjukkan dengan simbol kotak hitam dan data CL ditunjukkan dengan lingkaran merah. Data PL merupakan perlakuan PDT dengan pemberian paparan laser dan *photosensitizer porphyrin* sedangkan CL merupakan perlakuan PDT dengan pemberian paparan laser dan *photosensitizer curcumin*. Hasilnya terlihat bahwa penggunaan *photosensitizer* curcumin lebih efektif mereduksi biofilm *S. aureus* pada 20 dan 30 detik. Tingkat kejenuhan terjadi pada detik ke-40 dan 50, sehingga penggunaan curcumin pada pemaparan tersebut dianggap tidak memberikan pengaruh. Perbedaan reduksi tertinggi terjadi pada 30 detik dengan *treatment* PDT menggunakan fotosensitizer *porphyrin* dan curcumin yang memberikan reduksi masing-masing 65,55% dan 85,63%. Perbedaan hasil reduksi ini tentunya dipengaruhi oleh nilai ϕ dari masing-masing *photosensitizer*. Nilai ϕ menunjukkan hasil yang mirip dengan tingkat reduksi biofilm *S. aureus* dimana molekul curcumin mampu menyerap energi foton lebih banyak dibandingkan molekul *porphyrin*.

4.1.4 Hasil Analisis Perlakuan Ozon

Perlakuan menggunakan ozon yang ditambahkan dengan *photosensitizer porphyrin* (PO) dan curcumin (CO) merupakan perlakuan sample (biofilm) yang diberikan penambahan ozon dan dibandingkan hasilnya. Hasil analisis perlakuan ozon ini ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Perbandingan perlakuan ozon menggunakan *photosensitizer* endogen dan eksogen dengan variasi waktu *exposure* ozon

Gambar 4.7, data PO ditunjukkan dengan symbol kotak hitam dan data CO ditunjukkan dengan lingkaran merah. Data PO merupakan perlakuan menggunakan ozon dan *porphyrin* sedangkan CO merupakan perlakuan menggunakan ozon dan curcumin. Ozon yang ditambahkan pada *porphyrin* dan curcumin memberikan efek reduksi tertinggi masing-masing sebesar 30,74% dan 79,38% dengan *exposure* ozon selama 30 detik. Perlakuan ini kemudian dibandingkan dengan pemberian curcumin (C) saja pada sampel biofilm yang memberi reduksi sebesar 60,1%. Berdasarkan hasil tersebut pemberian ozon memberikan sedikit kontribusi dalam mereduksi biofilm dibandingkan curcumin. Penambahan ozon dan curcumin yang menghasilkan tingkat reduksi 79,38% tersebut dapat dipastikan akibat pengaruh antibakteri dari curcumin, bukan ozon. Hal ini menyebabkan penambahan ozon

pada *porphyrin* memberikan efek reduksi sel yang lebih rendah dibanding penambahan ozon pada curcumin.

4.1.5 Hasil Analisis Perlakuan *Photodynamic Therapy* Ozon

Perlakuan PDT yang menambahkan ozon merupakan perlakuan sampel (biofilm) yang diberikan *treatment* PDT menggunakan *photosensitizer porphyrin* (PLO) dan curcumin (CLO) kemudian ditambahkan ozon. Hasil analisis perlakuan ozon ini ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Persentase reduksi perlakuan *photodynamic therapy* dengan penambahan ozon pada masing-masing waktu paparan ozon

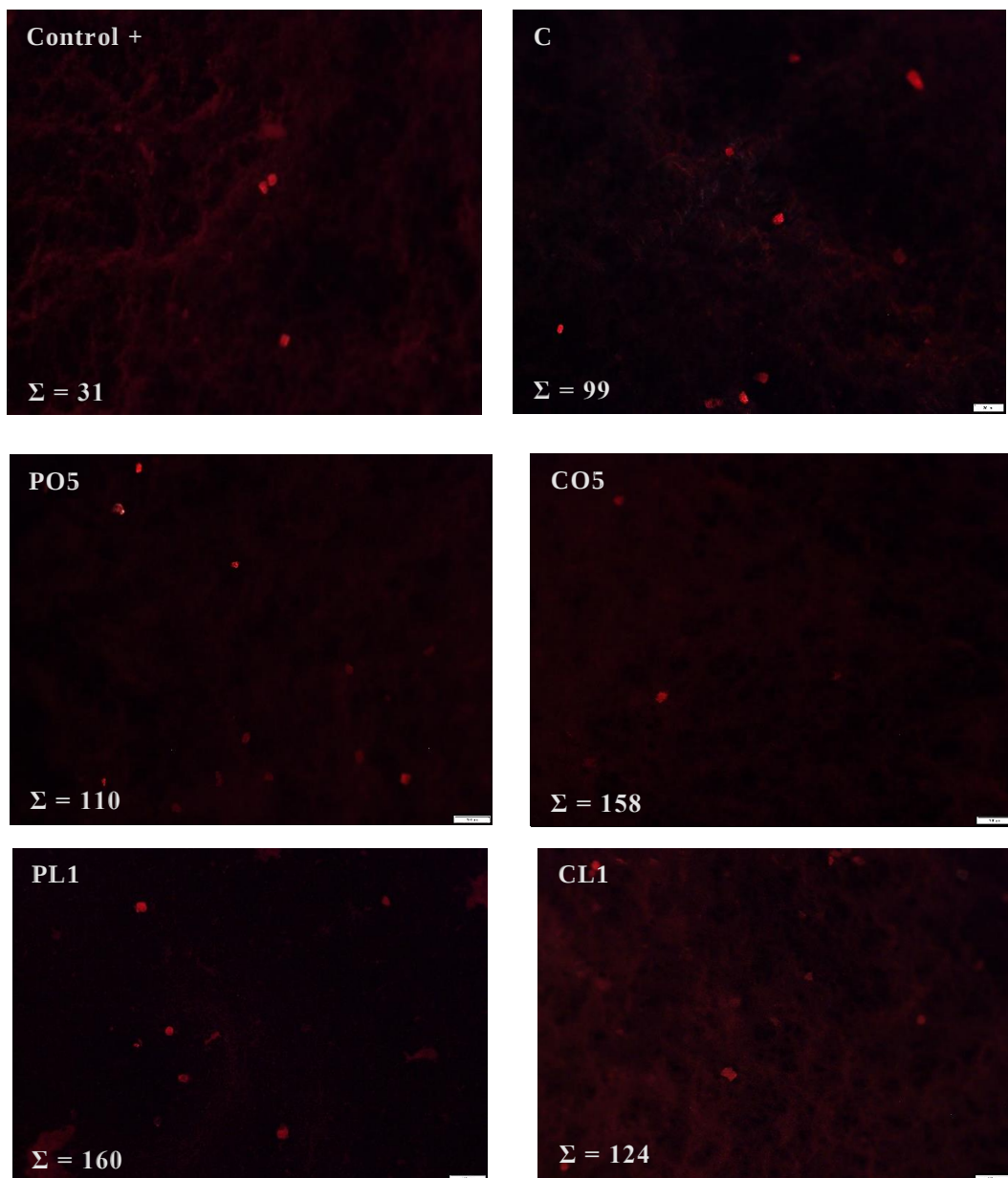
Rapat Energi (J/cm ²)	% <i>Biofilm Reduction</i>									
	PL O1	PL O2	PL O3	PL O4	PL O5	CL O1	CL O2	CL O3	CL O4	CL O5
1,83x10 ⁻³	80,2	88,3	59,3	68,2	65,1	76,7	92,3	90,5	90,5	42,3
3,65x10 ⁻³	76,8	66,2	88,8	82,6	75,9	65,3	88,8	81,2	91,0	68,4
5,48x10 ⁻³	96,3	91,4	86,9	85,6	65,1	86,0	81,6	57,0	90,9	94,5
7,30x10 ⁻³	80,8	84,4	83,5	76,7	97,6	95,3	64,4	92,1	77,1	64,0
9,13x10 ⁻³	87,8	69,5	73,0	86,5	95,8	93,2	88,2	78,0	92,7	94,0

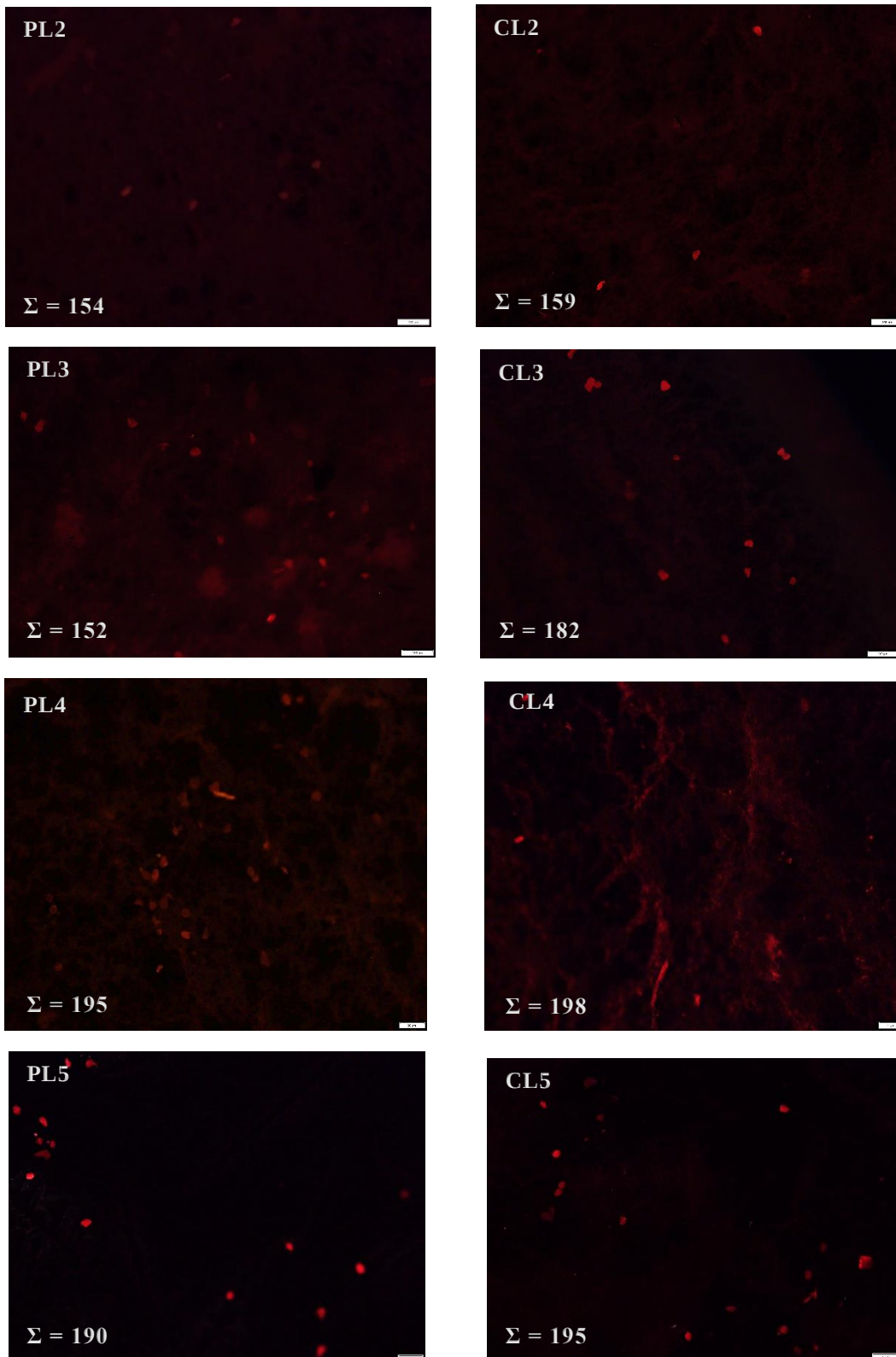
Tabel 4.2 secara keseluruhan menunjukkan bahwa perlakuan PLO dan CLO memberikan tingkat reduksi biofilm yang tinggi. Variasi *exposure* gas ozon ini mampu meningkatkan efek antimikroba dari PDT. Pemberian *exposure* ozon selama 10 detik mampu mereduksi sel tertinggi sebanyak 96,34% (PLO1) dan 95,36% (CLO1). Pemberian *exposure* ozon selama 20 detik mampu mereduksi sel tertinggi sebanyak 91,43% (PLO2) dan 92,32% (CLO2). Pemberian *exposure* ozon selama 50 detik mampu mereduksi sel tertinggi sebanyak 97,63% (PLO5) dan 94,55% (CLO5). Pemberian jumlah *exposure* ozon ini menunjukkan bahwa penggunaan *porphyrin* maupun curcumin sebagai *photosensitizer* tidak memberikan efek reduksi yang signifikan pada tingkat *exposure* ozon sama. Pemberian *exposure* ozon selama 30 detik mampu mereduksi sel tertinggi sebanyak 88,83% (PLO3) dan 92,18% (CLO3), sedangkan *exposure* ozon selama 40 detik mampu mereduksi sel tertinggi sebanyak 86,50% (PLO4) dan 92,75% (CLO4). Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan *porphyrin* dan curcumin sebagai *photosensitizer* memberikan perbedaan reduksi yang cukup signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi

PDT menggunakan *photosensitizer* curcumin dengan penambahan gas ozon lebih efektif dalam mengurangi sel *S. aureus* dalam fase biofilm 72 jam secara in vitro dan mekanisme inaktivasi dari *treatment* ini ditunjukkan pada Gambar 4.10.

4.1.6 Hasil Uji Fluorescence

Uji ini dilakukan untuk membandingkan hasil pengukuran OD dari ELISA reader dengan hasil analisis imageJ dari *image* fluorescence pada setiap perlakuan. Perlakuan yang diberikan untuk dibandingkan yaitu control+, C, PO, CO, PL dan CL. Hasil analisis imageJ perlakuan ini ditunjukkan pada Gambar 4.8.





Gambar 4.8 Hasil analisis imageJ dari uji fluorescence biofilm *S. aureus*

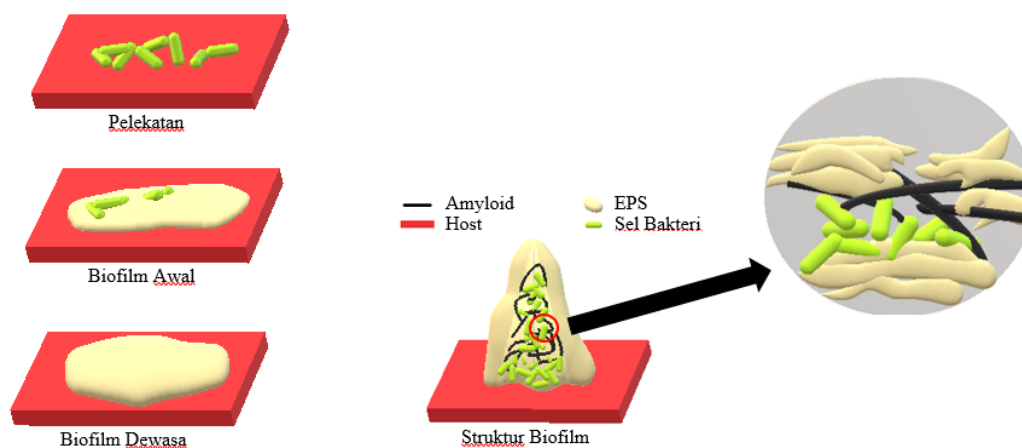
Uji ini dilakukan dengan menggunakan dye acridine orange (AO) yang dapat menembus masuk ke dalam sel hidup atau mati. Acridine orange jika berikatan dengan DNA untai ganda menghasilkan fluoresensi hijau (pada 520 nm), dan menghasilkan warna merah saat berikatan dengan DNA untai tunggal atau RNA (pada 650 nm). Sel yang masih hidup berwarna hijau merata, sedangkan sel yang mengalami apoptosis memiliki warna oranye terfragmentasi yang menandakan bahwa sel mengalami fase late apoptosis atau berwarna hijau seperti sel hidup namun terdapat warna kekuningan di bagian tengah sel yang berarti terdapat kondensasi kromatin yang menandakan sel mengalami fase *early* apoptosis. Sel yang berwarna merah merata adalah sel yang mengalami nekrosis (Liu et al, 2017).

Acridine orange merupakan dye yang akan memberikan fluorescence hijau apabila diberikan cahaya pada panjang gelombang hijau dan akan memberikan fluorescence merah apabila diberi cahaya pada panjang gelombang biru. Mikroskop fluorescence yang digunakan pada penelitian ini menggunakan filter yang memberikan cahaya pada panjang gelombang 470 nm, sehingga fluorescence yang diperoleh berwarna merah. Hasil analisis imageJ dari uji fluorescence diperoleh jumlah bakteri yang mengalami nekrosis pada perlakuan PL dan CL lebih tinggi dibanding perlakuan C, PO dan CO. Hasil ini juga sama dengan analisis menggunakan ELISA reader dimana *treatment* PL dan CL mereduksi biofilm *S. aureus* lebih tinggi dibanding *treatment* C, PO dan CO. Hal ini disebabkan perlakuan PL dan CL memanfaatkan mekanisme PDT yang lebih efektif dalam mereduksi sel.

4.2 Pembahasan

Purbowati (2016) mendefinisikan biofilm sebagai suatu kondisi mikroorganisme yang membentuk suatu asosiasi dan menempel satu sama lain pada suatu permukaan yang membentuk matrik polimer ekstraseluler (EPS). Adanya EPS menjadikan bakteri lebih resisten sehingga sulit untuk di reduksi. Meningkatnya jumlah EPS sesuai dengan peningkatan usia biofilm (Homenta, 2016). Ilustrasi mekanisme pertumbuhan biofilm *S. aureus* ditunjukkan pada Gambar 4.9. Bakteri merupakan makhluk sel tunggal mikroskopis kecil yang

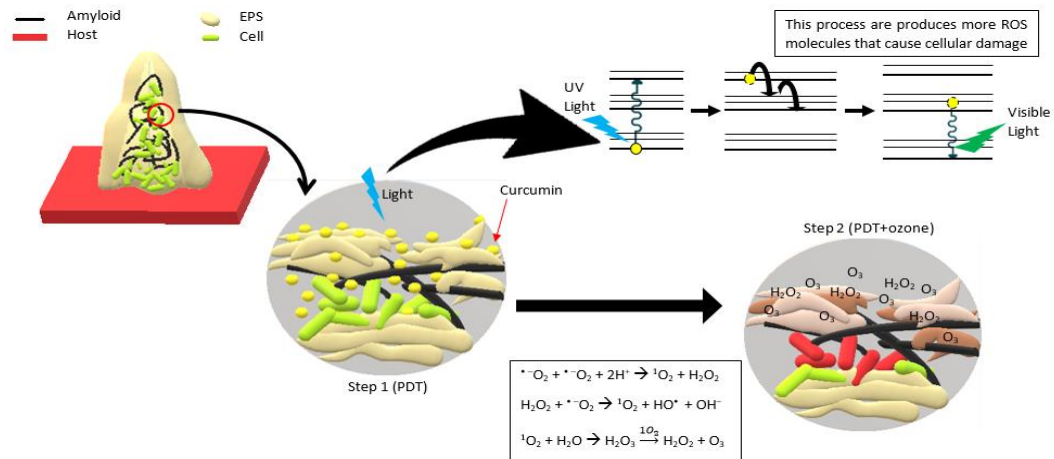
memiliki struktur primitif. Mereka mengambil bahan makanan dan melepaskan produk metabolisme. Tubuh bakteri disegel oleh membran sel yang relatif padat. Perkembangan biofilm diawali dengan fase pelekatan sel bakteri pada host. Fase selanjutnya adalah fase biofilm awal yang ditandai dengan terbentuknya lapisan EPS tipis yang menutupi sel bakteri. Pada fase ini bakteri sudah lebih resisten terhadap pemberian antibiotik. Semakin bertambahnya usia biofilm maka jumlah EPS juga akan semakin meningkat (fase dewasa) menyebabkan pemberian antibiotik hampir tidak mungkin menyentuh bakteri yang berada didasar. Hal ini disebabkan semakin meningkatnya jumlah EPS akan menyebabkan ukuran pori - pori biofilm semakin menyempit.



Gambar 4.9 Ilustrasi mekanisme pertumbuhan biofilm *S. aureus*

Photodynamic Therapy (PDT) merupakan solusi yang dapat dilakukan untuk mengontrol biofilm tersebut. Peristiwa PDT diakibatkan karena adanya interaksi antara cahaya dengan jaringan biologis atau molekul yang peka cahaya. Mekanisme terjadinya PDT dipengaruhi oleh adanya 3 faktor utama yaitu cahaya, molekul penyerap cahaya dan oksigen. Pada penelitian ini digunakan sumber cahaya laser dioda biru 397 nm dengan energi foton 5×10^{-19} Js, sedangkan curcumin yang digunakan sebagai *photosensitizer* memiliki energi absorbansi sebesar $4,7 \times 10^{-19}$ Js. Energi absorbansi ini menunjukkan kesesuaian dengan energi foton, sehingga proses awal fotofisika (absorpsi) dapat terjadi. Proses absorpsi ini tentunya melibatkan ϕ yang menunjukkan jumlah serapan energinya. Bakteri *S. aureus* memiliki porfirin *coproporphyrin* endogen sekitar 68,3 - 74,6% (Nitzan et

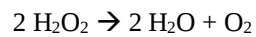
al., 2004). Pengukuran absorbansi *porphyrin* dan *curcumin* menunjukkan jumlah serapan energinya masing-masing sebesar 60% dan 86%. Berdasarkan nilai ϕ penggunaan *curcumin* ini dapat memaksimalkan tingkat kematian sel dibandingkan dengan menggunakan molekul *porfirin*. Hal ini disebabkan terjadinya efek fotofisika yang menyebabkan banyak molekul *curcumin* tereksitasi, sehingga memungkinkan efek fotokimia tipe I atau tipe II (Gambar 4.10).



Gambar 4.10 Ilustrasi mekanisme inaktivasi biofilm *S. aureus* menggunakan photodynamic dan kombinasi photodynamic dengan ozon

Peranan ozon adalah mengganggu metabolisme sel bakteri, kemungkinan besar dengan menghambat dan menghalangi operasi sistem kontrol enzimatis. Jumlah ozon yang menembus lapisan biofilm ini menyebabkan penghancuran bakteri (Gambar 4.10). Bocci (2006) mengatakan bahwa ozon dan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), antioksidan, senyawa tiol (-SH), glutathione (GSH) dan albumin dapat direaksikan. Senyawa tiol (-SH) dan glutathione (GSH) merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam substrat biofilm. Semua senyawa ini mengalami oksidasi dan membentuk satu mol hidrogen peroksida (H_2O_2). Senyawa ini merupakan bahan kimia organik yang memiliki sifat pengoksidasi kuat dan beracun dalam tubuh. Obadi (2016) menunjukkan bahwa kandungan -SH berkurang dengan meningkatnya pemrosesan gas ozon. Hal ini menyebabkan konsentrasi ozon menjadi sangat penting untuk mereduksi, konsentrasi yang terlalu rendah menyebabkan reduksi rendah dan konsentrasi yang terlalu tinggi menyebabkan cedera pada jaringan disekitarnya. Konsentrasi ozon yang diberikan

tidak boleh melebihi kapasitas enzim antioksidan (superoksida dismutase dan katalase) dan glutathione untuk mencegah akumulasi anion superoksida dan hidrogen peroksida, yang dapat menyebabkan degradasi membran sel (Xiao et al., 2006). Enzim antioksidan seperti enzim katalase memiliki fungsi memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air melalui reaksi berikut:



Reaksi ini menyebabkan perlakuan PO memberikan efek reduksi yang rendah dibanding perlakuan CO dan reduksi sel dipengaruhi oleh sifat antibakteri dari curcumin. Hal ini disebabkan produksi H_2O_2 dipecah oleh bakteri menjadi air dan oksigen sebagai bentuk usaha resistensinya terhadap *treatment*. Selain itu, telah ditunjukkan sebelumnya bahwa ozon memiliki sedikit efek antibakteri pada sel *E. faecalis* yang tertanam dalam struktur biofilm (Hems et al., 2005).

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 5

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

1. Penambahan ozon pada perlakuan PDT menggunakan curcumin sebagai *photosensitizer* (CLO) memberikan efek reduksi *S. aureus* biofilm yang lebih tinggi dibanding perlakuan curcumin (C) atau ozon-porphyrin (PO).
2. Perlakuan PLO dan CLO memberikan perbedaan reduksi *S. aureus* biofilm tinggi pada *exposure* ozon 30 detik masing-masing sebesar 88,83% (PLO3) dan 92,18% (CLO3), sedangkan pada 40 detik sebesar 86,50% (PLO4) dan 92,75% (CLO4).
3. Kombinasi PDT dengan curcumin sebagai fotosensitizer dan penambahan ozon (CLO) memberikan reduksi *S. aureus* biofilm tertinggi sebesar 95,36% pada pemaparan laser 40 s dan *exposure* ozon selama 10 s.

5.2 Saran

Saran untuk perbaikan dari penelitian ini adalah

1. Dilakukan *treatment* perlakuan ozon-cahaya dengan waktu dan daya yang berbeda.
2. Pengukuran karakterisasi curcumin dan porfirin untuk menentukan struktur senyawa spesifik berdasarkan panjang gelombang.
3. Dilakukan uji SEM untuk mengetahui efek perlakuan pada biofilm.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrahamse, H. dan Hamblin, M.R. (2016), “New photosensitizers for photodynamic therapy”, *Biochemical Journal*, Vol. 473, No. 4, hal. 347–364.
- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K., Foster, T., Girotti, A., Gollnick, S. dan Golab, J. (2011), “Photodynamic Therapy of cancer: an update”, *CA Cancer Journal for Clinicians*, Vol. 61, No. 4, hal. 250–281.
- Allison, R.R. dan Moghissi, K. (2013), “Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms”, *Clinical Endoscopy*, Vol. 46, No. 1, hal. 24–29.
- Baltazar, L.M., Ray, A., Santos, D.A., Cisalpino, P.S., Friedman, A.J. dan Nosanchuk, J.D. (2015), “Antimicrobial photodynamic therapy: An effective alternative approach to control fungal infections”, *Frontiers in Microbiology*, Vol. 6, No. 1, hal. 1–11.
- Bhawana, Basniwal, R.K., Buttar, H.S., Jain, V.K. dan Jain, N. (2011), “Curcumin nanoparticles: Preparation, characterization, and antimicrobial study”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 59, No. 5, hal. 2056–2061.
- Bocci, V. A. (2006), “Scientific and medical aspects of ozone therapy: state of the art”, *Archives of Medical Research*, Vol. 37, No. 4, hal. 425–435.
- Bonaficio, J.H. (2006), *Photooxidation and Photosensitized Oxidation of Linoleic Acid, Milk, and Lard*, Dissertation, The Ohio State University, Ohio.
- Bose, S., Panda, A.K., Mukherjee, S. dan Sa, G. (2015), “Curcumin and tumor immune-editing: Resurrecting the immune system”, *Cell Division*, Vol. 10, No. 1, hal. 6–8.
- Boso, G., Ke, D., Korzh, B., Bouilloux, J., Lange, N. dan Zbinden, H. (2016), “Time-resolved singlet-oxygen luminescence detection with an efficient and practical semiconductor single-photon detector”, *Biomedical Optics Express*, Vol. 7, No. 1, hal. 211–224.
- Calixto, G., Bernegossi, J., de Freitas, L., Fontana, C. dan Chorilli, M. (2016), “Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy of Cancer: A Review”, *Molecules*, Vol. 21, No. 3, hal. 1–18.
- Castano, A.P., Demidova, T.N. dan Hamblin, M.R. (2004), “Mechanisms in photodynamic therapy: part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization”, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Vol. 1, No. 4, hal.

279-293.

- Castano, I., Pan, S.J. dan Dujon, B. (2005), "Telomere length control and transcriptional regulation of subtelomeric adhesins in *Candida glabrata*", *Molecular Microbiology*, Vol. 55, No. 4, hal. 1246-1258.
- Chandra, J. dan Mukherjee, P. (2015), "Candida Biofilms: Development, Architecture, and Resistance", *Microbiology Spectrum*, Vol. 3, No. 4, hal. 157-176.
- Chittrakorn, S. (2008), *Use of ozone as an alternative to chlorine for treatment of softwheat flours*, Thesis Ph.D., Kansas State University, Manhattan.
- Coldren, F., Loosen, P. dan Poprawe, R. (2012), *High power diode lasers: technology and applications*, Springer, New York.
- Csele, M., (2011), *Fundamentals of light sources and lasers*, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Dev, A., Srivastava, A.K., Choudhury, S.R. dan Karmakar, S. (2016), "Nanocurcumin influences blue light photodynamic therapy for restraining glioblastoma stem cells growth", *RSC Advances*, Vol. 6, No. 97, hal. 95165-95168.
- Dolan, R. M. (2001), "Biofilm and device-associated infections", *Emerging Infectious Diseases Journal*, Vol. 7, No. 2, hal. 277-281.
- Fekrazad, R., Ghasemi Barghi, V., Poorsattar Bejeh Mir, A. dan Shams-Ghahfarokhi, M. (2015), "In vitro photodynamic inactivation of *Candida albicans* by phenothiazine dye (new methylene blue) and Indocyanine green (EunDo??)", *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Vol. 12, No. 1, hal. 52-57.
- Foot, C.S., T.T. Fujimoto dan Y.C. Chang. (1972), "Chemistry of Singlet Oxygen. XV. Irrelevance of Azide Trapping to Mechanism of the Ene Reaction", *Tetrahedron Letters*, Vol. 13, No. 1, hal. 45-48.
- Gundogan, N., Ataoğlu, O. dan Torlak, F. O. (2013), "Determination of some virulence factors in *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from meat and milk products", *Journal of Food Safety*, Vol. 33, No. 4, hal. 387-393.

- Gutierrez, M.I. dan Garcia, N.A. (1998), "Dark and Photoinduced Interactions Between Xanthene Dyes and Quinones", *Dyes and Pigments*, Vol. 38, No. 4, hal. 195-209.
- Gordon, R.J., Lowy, F.D. (2008), "Pathogenesis of methicillin-resistant *S. aureus* infection", *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 46, No. 5, hal. 350-359.
- Gotzsche, P.C. dan Nielsen, M. (2011), "Screening for breast cancer with mammography", *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Vol. 19, No. CD001877, hal. 1-74.
- Grossweiner L.I., (2005), *The Science of Phototherapy An Introduction*, Springer, USA.
- Hegge, A.B., Larsen, K.L., Nielsen, T.T. dan Bruzell, E.M. (2012), "Impact of curcumin supersaturation in antibacterial photodynamic therapy-effect of cyclodextrin type and amount: Studies on curcumin and curcuminoides XLV", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 101, No. 4, hal. 1524-1537.
- Heme, R. (2004), "Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy", *Chemical Society Reviews*, Vol. 24, No. 1, hal. 19-33.
- Hems, R.S., Gulabivala, Y.–L.NG., dan Spratt, D.A. (2005), "An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*", *International Endodontic Journal*, Vol. 38, No. 1, hal. 22–29.
- Homenta, H. (2016), "Infeksi biofilm bakterial", *Jurnal e-Biomedik*, Vol. 4, No. 1, hal. 1-11.
- Huang, L., Xuan, Y., Koide, Y. dan Zhiyentayev, T. (2013), "Type I and type II mechanisms of antimicrobial photodynamic therapy: an *in vitro* study on Gram-negative and Gram-positive bacteria", *Lasers in Surgery and Medicine*, Vol. 44, No. 6, hal. 490–499.
- Johnston, H.J., Hutchison, G., Christensen, F.M., Peters, S., Hankin, S. dan Stone, V. (2010), "A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: Particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity", *Critical Reviews in Toxicology*, Vol. 40, No. 4, hal. 328–346.
- Kusuma, S.A.F. (2009), *Staphylococcus aureus*, Tesis, Universitas Padjajaran, Bandung.

- Li, B., Lin, L., Lin, H. dan Wilson, B.C. (2016), "Photosensitized singlet oxygen generation and detection: Recent advances and future perspectives in cancer photodynamic therapy", *Journal of Biophotonics*, Vol. 9, No. 11, hal. 1314–1325.
- Liu, M., Li, R., Tang, Y. dan Han, R. (2017), "New applications of the acridine orange fluorescence staining method: screening for circulating tumor cells", *Oncology Letters*, Vol. 13, No. 4, hal. 2221-2229.
- Luksiene, Z. (2003), "Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment", *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, Vol. 39, No. 12, hal. 1137–1150.
- Nitzan, Y., Salmon-Divon, M., Shporen, E. dan Malik, Z. (2004), "ALA induced photodynamic effects on Gram positive and negative bacteria", *Photochemical & Photobiological Sciences*, Vol. 3, No. 5, hal. 430-435.
- Macdonald, I.A.N.J. dan Dougherty, T.J. (2001), "Basic principles of photodynamic therapy", *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, Vol. 5, No. 2, hal. 105–129.
- Makarska dan Radzki. (2002), "Pharmacokinetic of ALA and h-ALA induced porphyrins in the models *Mycobacterium phlei* and *Mycobacterium smegmatis*", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, Vol. 97, No. 1, hal. 1-7.
- Morimoto, K., Ozawa, T., Awazu, K., Ito, N. dan Honda, N. (2014), "Photodynamic Therapy Using Systemic Administration of 5-Aminolevulinic Acid and a 410-nm Wavelength Light-Emitting Diode for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*-Infected Ulcers in Mice", *PLoS One*, Vol. 9, No. 8, hal. 1–8.
- Muchowicz, A., Gabrysiak, M., Winiarska, M., Bojarczuk, K. dan Golab, J. (2011), "Aminolevulinic Acid (ALA) as a Prodrug in Photodynamic Therapy of Cancer", *Molecules*, Vol. 16, No. 5, hal. 4140–4164.
- Müller, A., Marschall, S., Jensen, O. B., Fricke, J., Wenzel, H., Sumpf, B. dan Andersen, P.E. (2013), "Diode laser based light sources for biomedical applications", *Laser & Photonics Reviews*, Vol. 7, No. 5, hal. 605–627.
- Murthy, K.V.R. dan Virk, H.S. (2013), "Luminescence Phenomena: An

- Introduction”, *Defect and Diffusion Forum*, Vol. 347, No. 1, hal. 1–34.
- Obadi, M., Zhu, K.X., Peng, W. dan Ammar A. (2016), “Effect of ozone gas processing on physical and chemical properties of wheat protein”, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* Vol. 15, No. 10, hal. 2147-2154.
- Okonogi, S., Naksuriya, O., Charumanee, S. dan Sirithunyalug, J. (2016), “Effect of aromatic substitution of curcumin nanoformulations on their stability”, *Scientia Pharmaceutica*, Vol. 84, No. 4, hal. 625–633.
- Onyango, A. N. (2016), “Endogenous generation of singlet oxygen and ozone in human and animal tissues: Mechanisms, biological significance, and influence of dietary components”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, ID 2398573, hal. 1-23.
- Peulen, T. O. dan Wilkinson, K. J. (2011), “Diffusion of nanoparticles in a biofilm”, *Environmental Science and Technology*, Vol. 45, No. 8, hal. 3367–3373.
- Plaetzer, K., Krammer, B., Berlanda, J., Berr, F. dan Kiesslich, T. (2009), “Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: Fundamental aspects”, *Lasers in Medical Science*, Vol. 24, No. 2, hal. 259–268.
- Prasad, P. N. (2004), *Introduction to Biophotonics*, A John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Priyadarsini, K. I. (2014), “The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent”, *Molecules*, Vol. 19, No. 12, hal. 20091–20112.
- Purbowati, R. (2018), “Correlation biofilm with infection: implication for public health and strategies to control”, *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, Vol. 5, No. 1, hal. 1-14.
- Ramage, G., Rajendran, R., Sherry, L. dan Williams, C. (2012), “Fungal biofilm resistance”, *Int. J. Microbiol.*, ID 52852, hal. 1-14
- Sabino, C.P., Garcez, A.S., Núñez, S.C., Ribeiro, M.S. dan Hamblin, M.R. (2014), “Real-time evaluation of two light delivery systems for photodynamic disinfection of *Candida albicans* biofilm in curved root canals”, *Lasers in Medical Science*, Vol. 30, No. 6, hal. 1657–1665.
- Sasaki, S.S., Sat, K. dan Abe, M. (1998), “Components of turmeric oleoresin preparations and photo-stability of curcumin”, *Japanese Journal of Food Chemistry and Safety*, Vol. 5, No. 1, hal. 57-63.

- Sherwani, M.A., Tufail, S., Khan, A.A. dan Owais, M. (2015), “Gold nanoparticle-photosensitizer conjugate based photodynamic inactivation of biofilm producing cells: Potential for treatment of *C. albicans* infection in BALB/c mice”, *PLoS ONE*, Vol. 10, No. 7, hal. 1–20.
- Solban, N., Ortel, B., Pogue, B. dan Hasan, T. (2005), “Targeted optical imaging and photodynamic therapy”, *Ernst Schering Research Foundation Workshop*, Vol. 49, hal. 229–258.
- Souza, R.C., Junqueira, J.C., Rossoni, R.D., Pereira, C.A., Munin, E. dan Jorge, A. O.C. (2010), “Comparison of the photodynamic fungicidal efficacy of methylene blue, toluidine blue, malachite green and low-power laser irradiation alone against *Candida albicans*”, *Lasers in Medical Science*, Vol. 25, No. 3, hal. 385–389.
- Sun, H., (2012), *Laser Diode Beam Propagation Basics. In Laser Diode Beam Basics, Manipulations and Characterizations*, Springer, Dordrecht.
- Stewart, P. S. dan Costerton, J. W. (2001), “Antibiotic resistance of bacteria in biofilms”, *The Lancet*, Vol. 358, No. 9276, hal. 135-138.
- Tjahjono, D. H. (2006), “Porphyrin Structure-based Molecules for Photodynamic Therapy of Cancer”, *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol. 31, No. 1, hal. 1-13.
- Trigo Gutierrez, J.K., Zanatta, G.C., Ortega, A.L.M., Balastegui, M.I.C., Sanitá, P.V., Pavarina, A.C. dan De Oliveira Mima, E.G. (2017), “Encapsulation of curcumin in polymeric nanoparticles for antimicrobial Photodynamic Therapy”, *PLoS ONE*, Vol. 12, No. 11, hal. 1-34.
- Wang, I. (1999), *Photodynamic therapy and laser-based diagnostic studies of malignant tumours*, Thesis Ph.D., Lund University, Lund, Sweden.
- Wang, Y., Wu, X., Chen, J., Amin, R., Lu, M., Bhayana, B. dan Hooper, D.C. (2016), “Antimicrobial Blue Light Inactivation of Gram-Negative Pathogens in Biofilms : In Vitro and In Vivo Studies”, *The Journal of Infectious Diseases*, Vol. 213, No. 9, hal. 1380-1387.
- Wrigley, C. W. (1996), “Biopolymers giant proteins with flour power”, *Nature*, Vol. 381, hal. 738-739.
- Xiao, Y.Y., Tian, J.L., Li, J.K. dan Zhang, J.S. (2006), “CT-Guide ozone injection for the treatment of cervical disc herniation”, *Rivista Italiana di Ossigeno-*

Ozonoterapia, Vol. 5, hal. 109-115.

Xu, R., Zhou, J., Wang, H. dan Liu, B. (2014), “Identifying DNA-binding proteins by combining support vector machine and PSSM distance transformation”, *BMC Systems Biology*, Vol. 9, No. 1, hal. 1-10.

Yeh, S.-C., Patterson, M., Hayward, J. dan Fang, Q. (2014), “Time-Resolved Fluorescence in Photodynamic Therapy”, *Photonics*, Vol. 1, No. 4, hal. 530–564.

Zhu, T. C. dan Finlay, J. C. (2008), “The role of photodynamic therapy (PDT) physics”, *Medical Physics*, Vol. 35, No. 7, hal. 3127–3136.

LAMPIRAN I

a. Penentuan Rapat Energi Penyinaran Laser

Rapat energi laser pada setiap penyinaran dengan berbagai variasi waktu diperoleh menggunakan persamaan:

$$R_E \left(\frac{J}{cm^2} \right) = \frac{P}{A} \times t$$

Tabel 1. Rapat energi laser

Energi Foton (Js)	Jumlah Foton	Luas Area (cm ²)	Daya Laser (W)	Waktu (s)	Densitas Energi (J/cm ²)
5.00 x 10 ⁻¹⁹	8.77 x 10 ¹⁴	0.24	4.38 x 10 ⁻⁵	10	1.83 x 10 ⁻³
	1.75 x 10 ¹⁵			20	3.65 x 10 ⁻³
	2.63 x 10 ¹⁵			30	5.48 x 10 ⁻³
	3.51 x 10 ¹⁵			40	7.30 x 10 ⁻³
	4.48 x 10 ¹⁵			50	9.13 10 ⁻³

b. Hasil Reduksi

Persentase reduksi pada setiap perlakuan diperoleh menggunakan persamaan :

$$\% \text{ Efficacy} = \left(\frac{\Sigma \text{kontrol} (CFU/mL) - \Sigma \text{perlakuan} (CFU/mL)}{\Sigma \text{kontrol} (CFU/mL)} \right) \times 100 \%$$

Tabel 2. Hasil *efficacy* pada masing-masing perlakuan

Irradiation Time (s)	% Biofilm Reductions														
	Cur	Ozpen	Ozpex	Lpen	Lpex	Lpen Oz1	Lpen Oz2	Lpen Oz3	Lpen Oz4	Lpen Oz5	Lpex Oz1	Lpex Oz2	Lpex Oz3	Lpex Oz4	Lpex Oz5
10	57,8	49,4	65,1	94,1	55,2	80,2	88,3	59,3	68,2	65,1	76,7	92,3	90,5	90,5	42,3
20	58,4	33,4	61,3	59,1	79,0	76,8	66,2	88,8	82,6	75,9	65,3	88,8	81,2	91,0	68,4
30	59,6	30,7	79,3	65,5	85,6	96,3	91,4	86,9	85,6	65,1	86,0	81,6	57,0	90,9	94,5
40	59,5	23,1	63,5	83,0	83,5	80,8	84,4	83,5	76,7	97,6	95,3	64,4	92,1	77,1	64,0
50	60,1	21,6	65,0	84,7	85,6	87,8	69,5	73,0	86,5	95,8	93,2	88,2	78,0	92,7	94,0

c. Hasil Log CFU/mL

Nilai regresi linear dari kurva McFarland yaitu :

$$Y = (33 \times X) - 17,42$$

Tabel 3. Hasil log CFU/mL pada masing-masing perlakuan

Ir. Time (s)	LOG CFU/mL															
	Cont+	Cur	Ozpen	Ozpex	Lpen	Lpex	Lpen Oz1	Lpen Oz2	Lpen Oz3	Lpen Oz4	Lpen Oz5	Lpex Oz1	Lpex Oz2	Lpex Oz3	Lpex Oz4	Lpex Oz5
10	73,96	31,16	37,36	25,81	4,36	33,07	14,59	8,65	30,10	23,50	25,81	17,23	5,68	7,00	7,00	42,64
20	74,45	30,93	49,57	28,78	30,43	15,58	17,23	25,15	8,32	12,94	17,89	25,81	8,32	13,93	6,67	23,50
30	73,96	29,87	51,22	15,25	25,48	10,63	2,71	6,34	9,64	10,63	25,81	10,30	13,60	31,75	6,67	4,03
40	72,64	29,41	55,84	26,47	12,28	11,95	13,93	11,29	11,95	16,90	1,72	3,37	25,81	5,68	16,57	26,14
50	73,83	29,41	57,82	25,81	11,29	10,63	8,98	22,51	19,87	9,97	3,04	5,02	8,65	16,24	5,35	4,36

d. Spesifikasi GENESYS 30 Vis Spektrofotometer

Baseline Flatness	<0.003A 325nm – 1000nm smoothed
Compartments	Accessible from top, front or side Able to accommodate cells up to 100mm pathlength Available accessory for test-tubes up to 25mm diameter and 150mm height Removable, washable sample compartment liner with magnetic placement and hold-down
Connections	USB-A on front face supports flash memory devices for method and data storage USB-B on side supports connection to a Windows™ computer running optional remote control software.
Description	GENESYS 30 Visible Spectrophotometer
Detector Type	Silicon Photodiode
Dimensions (L x W x H)	35.5cm x 38.5cm x 19.5cm
Display	5" diagonal, 32 bit color display, 800 x 480 pixels
Drift	<0.002A/Hr At 500nm after 2hr warmup. Typical <0.004A/hr after 1hr warmup
Electrical Requirements	External AC to DC converter. Voltage and Hz selected automatically, 100-250 volts, 50-60Hz
Keypad	Tactile rubber 23 keys with numeric keypad
Lamp	1000 Hrs typical service life
Languages	English, Spanish, German, French, Italian, Portuguese, Russian, Chinese, Japanese, Korean, Thai, Arabic
Noise	≤0.001A at 0A ≤0.001A at 1A ≤0.002A at 2A RMS at 500nm. 60 consecutive measurements
Optical Design	Single beam

Photometric Accuracy Instrument	±0.002A (0 - 0.3A) 0.5% of ABS reading (0.301A - 2.5A)
Photometric Display	-3A to 3A, 0 to 200 000 %T, 0 to 9 999 999 C
Photometric Range	-3A to 3A
Photometric Repeatability	± 0.002A Measured at 1.0 A @546nm
Printer	Thermal printer accessory with 80mm width paper
Spectral Bandwidth	5nm
Stray Light	<0.1%T at 340nm and 400nm Measured using glass cutoff filters or NaNO ₂ at 340nm
Wavelength Accuracy	± 2nm
Wavelength Data Interval	1nm
Wavelength Range	325nm – 1100nm
Wavelength Repeatability	< ±1nm
Wavelength Scan Speed	Automatic – up to 1200nm/min
Weight (Metric)	7.5kg

e. Spesifikasi OLYMPUS CX43 Biological Microscope

Observation Method	Phase Contrast		✓
	Fluorescence (Blue/Green Excitations)		✓ (Blue Excitation only) (peak excitation wavelength 470 nm: B excitation only)
	Simple Polarized Light		✓
	Brightfield		✓
	Darkfield		✓
Illuminator	Transmitted Koehler Illuminator	LED Lamp	✓ (fixed field diaphragm)
	• Fluorescence Illuminator	LED Lamp	• ✓
Focus	Focusing Mechanism	Stage Focus	✓

	Features		• Coarse adjustment limit stopper • Torque adjustment for coarse adjustment knob
Revolving Nosepiece	Manual	Standard Type	Built-in 5 position
Stage	Mechanical	Mechanical Stages with Right-Hand Control	• Built-in X: 76 mm, Y: 52 mm
Condenser	Manual	Abbe Conenser	NA1.25 (2 X - 100 X)
Observation Tubes	Standard (FN18)	Tilting Binocular	✓
	Standard (FN20)	Binocular	✓
		Trinocular	✓
	Tube Inclination Angle		Binocular, Trunocular 30°, Tilting Binocular 30 - 60°
	•	Trinocular Tube Light Path Selection (Camera : Observation)	• 50% : 50 %
	•	Interpupillary Distance Adjustment	• 48 - 75 mm
Dimensions			211 (W) x 376 (D) x 393 (H) mm (Standard Configuration)
Weight			Approx. 7.3 kg

LAMPIRAN II

A. Hasil Karakterisasi Panjang Gelombang (nm) pada Laser Dioda

Data statistik karakterisasi panjang gelombang

λ (nm)	Rata- rata (mW)	Std Pengukuran ($\pm$)	λ (nm)	Rata- rata (mW)	Std Pengukuran ($\pm$)
350	0.0160	7.40E-06	426	0.0493	4.38E-06
351	0.0167	3.97E-06	427	0.0418	1.64E-06
352	0.0172	2.59E-06	428	0.0368	5.77E-06
353	0.0179	1.14E-06	429	0.0321	1.19E-05
354	0.0185	8.94E-07	430	0.0282	2.88E-06
355	0.0191	1.00E-06	431	0.0262	1.58E-06
356	0.0197	1.67E-06	432	0.0226	5.48E-07
357	0.0205	2.17E-06	433	0.0207	2.97E-06
358	0.0212	2.59E-06	434	0.0192	1.79E-06
359	0.0220	8.94E-07	435	0.0182	1.00E-06
360	0.0229	1.14E-06	436	0.0173	7.07E-07
361	0.0240	4.53E-06	437	0.0168	1.58E-06
362	0.0251	1.64E-06	438	0.0165	8.37E-07
363	0.0264	1.14E-06	439	0.0160	8.37E-07
364	0.0292	2.35E-06	440	0.0155	8.94E-07
365	0.0358	4.16E-06	441	0.0148	9.28E-06
366	0.0439	6.02E-06	442	0.0143	1.14E-06
367	0.0537	2.95E-06	443	0.0140	1.82E-06
368	0.0620	9.19E-06	444	0.0135	8.94E-07
369	0.0685	6.43E-06	445	0.0130	2.07E-06
370	0.0746	1.08E-05	446	0.0123	8.94E-07
371	0.0781	5.93E-06	447	0.0117	4.47E-07
372	0.0813	6.87E-06	448	0.0111	8.37E-07
373	0.0829	7.82E-06	449	0.0105	5.48E-07
374	0.0857	9.06E-06	450	0.0099	3.03E-07
375	0.0909	1.10E-05	451	0.0096	8.41E-07
376	0.0997	1.93E-05	452	0.0092	3.96E-07
377	0.1171	4.00E-05	453	0.0085	6.61E-06
378	0.1786	3.70E-05	454	0.0079	1.58E-06
			455	0.0074	4.15E-07
			456	0.0065	5.63E-07

379	0.3619	7.94E-03	457	0.0063	2.00E-07
380	0.5414	1.79E-04	458	0.0061	4.66E-06
381	0.7567	1.69E-04	459	0.0060	1.84E-06
382	0.9698	2.89E-04	460	0.0057	2.99E-06
383	1.1484	1.22E-03	461	0.0052	2.07E-07
384	1.4982	3.36E-04	462	0.0046	6.06E-07
385	1.8075	2.70E-04	463	0.0042	1.06E-06
386	2.1310	2.68E-04	464	0.0039	8.12E-07
387	2.2591	4.47E-05	465	0.0037	5.13E-07
388	2.7531	6.22E-04	466	0.0035	3.65E-07
389	3.0417	2.55E-04	467	0.0034	1.41E-06
390	3.4411	2.97E-04	468	0.0032	3.36E-07
391	3.7138	1.51E-03	469	0.0031	2.74E-07
392	4.0515	5.45E-04	470	0.0030	1.30E-07
393	4.4004	3.13E-04	471	0.0028	2.77E-07
394	4.7002	5.36E-04	472	0.0027	1.52E-07
395	4.9382	2.97E-04	473	0.0026	3.96E-07
396	5.1148	3.21E-04	474	0.0026	4.06E-07
397	5.4143	3.78E-04	475	0.0025	2.55E-07
398	5.6033	4.32E-04	476	0.0025	1.82E-07
399	5.7607	8.98E-04	477	0.0024	4.76E-07
400	5.7881	2.00E-04	478	0.0024	2.77E-07
401	5.9049	1.11E-03	479	0.0024	2.41E-07
402	6.0142	2.17E-04	480	0.0024	1.82E-07
403	6.0216	7.63E-04	481	0.0023	4.02E-07
404	6.0015	3.42E-04	482	0.0024	2.83E-07
405	5.9348	8.26E-04	483	0.0023	1.82E-07
406	5.8299	5.13E-04	484	0.0023	1.48E-07
407	5.6947	5.07E-04	485	0.0023	1.14E-07
408	5.4365	2.97E-04	486	0.0023	1.82E-07
409	5.1559	4.90E-04	487	0.0023	1.87E-07
410	4.9298	1.48E-03	488	0.0023	4.56E-07
411	4.4284	2.77E-04	489	0.0022	3.56E-07
412	3.8859	2.45E-04	490	0.0022	2.07E-07
413	3.4138	2.61E-04	491	0.0022	2.17E-07
414	2.7793	6.07E-04	492	0.0022	6.98E-07
415	2.2563	7.46E-04	493	0.0022	8.94E-08
416	1.7028	1.95E-04	494	0.0021	1.14E-07
417	1.3893	1.52E-04	495	0.0021	2.00E-07

418	1.1381	2.41E-04
419	0.6149	1.18E-04
420	0.4266	2.00E-04
421	0.2630	1.54E-04
422	0.1696	9.57E-05
423	0.1271	4.53E-05
424	0.0743	8.53E-06
425	0.0579	2.29E-05

496	0.0021	3.85E-07
497	0.0020	3.78E-07
498	0.0020	1.79E-07
499	0.0020	4.36E-07
500	0.0019	1.52E-07

B. Hasil Karakterisasi Daya (mW) terhadap Jarak (cm)

Data statistik karakterisasi panjang gelombang

Jarak (cm)	Error Analisis Mistar	Daya (mW)			Error Analisis Instrumen PM	Rata-rata (mW)	Std Pengukuran (±)
		P1	P2	P3			
0	0.05	28.67	28.7	28.72	0.005	28.697	0.018
0.5	0.05	27.77	27.77	27.77	0.005	27.770	0.000
1	0.05	27.65	27.66	27.65	0.005	27.653	0.004
1.5	0.05	27.13	27.14	27.14	0.005	27.137	0.004
2	0.05	26.79	26.8	26.8	0.005	26.797	0.004
2.5	0.05	26.64	26.64	26.64	0.005	26.640	0.000
3	0.05	26.49	26.5	26.5	0.005	26.497	0.004
3.5	0.05	26.38	26.39	26.39	0.005	26.387	0.004
4	0.05	26.3	26.32	26.33	0.005	26.317	0.011
4.5	0.05	25.88	25.9	25.92	0.005	25.900	0.014
5	0.05	25.54	25.6	25.6	0.005	25.580	0.024

C. Hasil Karakterisasi Daya (mW) terhadap Waktu (s)

Data statistik karakterisasi stabilitas daya

Waktu (s)	Error Stopwatch	Daya (mW)			Error Power Meter	Rata-rata Daya (mW)	Std Pengukuran (±)
		P1	P2	P3			
1	0.005	22.217	21.579	21.950	0.005	21.915	0.320
2	0.005	22.216	21.598	21.974	0.005	21.929	0.311
3	0.005	22.223	21.617	22.000	0.005	21.947	0.307
4	0.005	22.226	21.642	22.024	0.005	21.964	0.297
5	0.005	22.228	21.658	22.044	0.005	21.977	0.291
6	0.005	22.233	21.684	22.061	0.005	21.993	0.281

7	0.005	22.236	21.707	22.083	0.005	22.009	0.272
8	0.005	22.241	21.735	22.102	0.005	22.026	0.261
9	0.005	22.246	21.752	22.117	0.005	22.038	0.256
10	0.005	22.248	21.770	22.133	0.005	22.050	0.249
11	0.005	22.253	21.791	22.149	0.005	22.064	0.242
12	0.005	22.259	21.805	22.166	0.005	22.077	0.240
13	0.005	22.260	21.820	22.177	0.005	22.086	0.234
14	0.005	22.263	21.836	22.194	0.005	22.098	0.229
15	0.005	22.265	21.855	22.206	0.005	22.109	0.222
16	0.005	22.270	21.865	22.218	0.005	22.118	0.220
17	0.005	22.273	21.881	22.230	0.005	22.128	0.215
18	0.005	22.279	21.894	22.243	0.005	22.139	0.213
19	0.005	22.286	21.908	22.255	0.005	22.150	0.210
20	0.005	22.286	21.918	22.262	0.005	22.155	0.206
21	0.005	22.291	21.934	22.274	0.005	22.166	0.201
22	0.005	22.292	21.944	22.284	0.005	22.173	0.199
23	0.005	22.299	21.955	22.298	0.005	22.184	0.198
24	0.005	22.301	21.969	22.306	0.005	22.192	0.193
25	0.005	22.305	21.980	22.317	0.005	22.201	0.191
26	0.005	22.304	21.988	22.326	0.005	22.206	0.189
27	0.005	22.310	21.997	22.334	0.005	22.214	0.188
28	0.005	22.318	22.007	22.341	0.005	22.222	0.187
29	0.005	22.318	22.020	22.352	0.005	22.230	0.183
30	0.005	22.323	22.027	22.358	0.005	22.236	0.182
31	0.005	22.327	22.037	22.367	0.005	22.244	0.180
32	0.005	22.335	22.049	22.378	0.005	22.254	0.179
33	0.005	22.332	22.055	22.384	0.005	22.257	0.177
34	0.005	22.340	22.062	22.392	0.005	22.265	0.177
35	0.005	22.343	22.070	22.397	0.005	22.270	0.175
36	0.005	22.350	22.078	22.405	0.005	22.278	0.175
37	0.005	22.351	22.083	22.413	0.005	22.282	0.175
38	0.005	22.353	22.098	22.419	0.005	22.290	0.170
39	0.005	22.357	22.102	22.425	0.005	22.295	0.170
40	0.005	22.361	22.111	22.430	0.005	22.301	0.168
41	0.005	22.365	22.120	22.435	0.005	22.307	0.165
42	0.005	22.366	22.125	22.440	0.005	22.310	0.165
43	0.005	22.372	22.133	22.448	0.005	22.318	0.164
44	0.005	22.375	22.142	22.453	0.005	22.323	0.162
45	0.005	22.378	22.150	22.458	0.005	22.329	0.160
46	0.005	22.380	22.157	22.467	0.005	22.335	0.160
47	0.005	22.385	22.163	22.474	0.005	22.341	0.160

48	0.005	22.383	22.165	22.481	0.005	22.343	0.162
49	0.005	22.391	22.174	22.485	0.005	22.350	0.160
50	0.005	22.393	22.181	22.492	0.005	22.355	0.159
51	0.005	22.395	22.185	22.498	0.005	22.359	0.160
52	0.005	22.398	22.195	22.503	0.005	22.365	0.157
53	0.005	22.400	22.195	22.505	0.005	22.367	0.158
54	0.005	22.403	22.205	22.510	0.005	22.373	0.155
55	0.005	22.402	22.207	22.513	0.005	22.374	0.155
56	0.005	22.408	22.215	22.521	0.005	22.381	0.155
57	0.005	22.410	22.220	22.522	0.005	22.384	0.153
58	0.005	22.410	22.225	22.531	0.005	22.389	0.154
59	0.005	22.414	22.231	22.532	0.005	22.392	0.152
60	0.005	22.414	22.236	22.536	0.005	22.395	0.151
61	0.005	22.419	22.244	22.546	0.005	22.403	0.152
62	0.005	22.418	22.244	22.548	0.005	22.403	0.153
63	0.005	22.425	22.249	22.556	0.005	22.410	0.154
64	0.005	22.425	22.253	22.559	0.005	22.412	0.153
65	0.005	22.427	22.259	22.560	0.005	22.415	0.151
66	0.005	22.427	22.266	22.570	0.005	22.421	0.152
67	0.005	22.431	22.270	22.571	0.005	22.424	0.151
68	0.005	22.433	22.274	22.574	0.005	22.427	0.150
69	0.005	22.438	22.279	22.580	0.005	22.432	0.151
70	0.005	22.436	22.283	22.584	0.005	22.434	0.151
71	0.005	22.441	22.286	22.585	0.005	22.437	0.150
72	0.005	22.441	22.290	22.594	0.005	22.442	0.152
73	0.005	22.442	22.296	22.595	0.005	22.444	0.150
74	0.005	22.446	22.300	22.600	0.005	22.449	0.150
75	0.005	22.445	22.302	22.600	0.005	22.449	0.149
76	0.005	22.448	22.305	22.606	0.005	22.453	0.151
77	0.005	22.447	22.312	22.607	0.005	22.455	0.148
78	0.005	22.452	22.310	22.608	0.005	22.457	0.149
79	0.005	22.455	22.319	22.619	0.005	22.464	0.150
80	0.005	22.454	22.325	22.623	0.005	22.467	0.149
81	0.005	22.456	22.330	22.623	0.005	22.470	0.147
82	0.005	22.457	22.332	22.624	0.005	22.471	0.147
83	0.005	22.456	22.334	22.628	0.005	22.473	0.148
84	0.005	22.461	22.336	22.635	0.005	22.477	0.150
85	0.005	22.460	22.339	22.635	0.005	22.478	0.149
86	0.005	22.458	22.339	22.640	0.005	22.479	0.152
87	0.005	22.462	22.343	22.642	0.005	22.482	0.151
88	0.005	22.461	22.346	22.644	0.005	22.484	0.150

89	0.005	22.463	22.351	22.644	0.005	22.486	0.148
90	0.005	22.467	22.353	22.647	0.005	22.489	0.148
91	0.005	22.468	22.358	22.647	0.005	22.491	0.146
92	0.005	22.471	22.362	22.647	0.005	22.493	0.144
93	0.005	22.470	22.365	22.647	0.005	22.494	0.143
94	0.005	22.473	22.369	22.647	0.005	22.496	0.140
95	0.005	22.475	22.370	22.647	0.005	22.497	0.140
96	0.005	22.475	22.375	22.648	0.005	22.499	0.138
97	0.005	22.475	22.376	22.648	0.005	22.500	0.138
98	0.005	22.473	22.378	22.648	0.005	22.500	0.137
99	0.005	22.475	22.379	22.648	0.005	22.501	0.136
100	0.005	22.476	22.378	22.649	0.005	22.501	0.137
101	0.005	22.477	22.387	22.649	0.005	22.504	0.133
102	0.005	22.480	22.386	22.649	0.005	22.505	0.133
103	0.005	22.480	22.389	22.649	0.005	22.506	0.132
104	0.005	22.483	22.393	22.649	0.005	22.508	0.130
105	0.005	22.484	22.396	22.649	0.005	22.510	0.128
106	0.005	22.486	22.397	22.649	0.005	22.511	0.128
107	0.005	22.487	22.396	22.650	0.005	22.511	0.129
108	0.005	22.487	22.399	22.650	0.005	22.512	0.127
109	0.005	22.488	22.404	22.650	0.005	22.514	0.125
110	0.005	22.489	22.406	22.650	0.005	22.515	0.124
111	0.005	22.491	22.411	22.650	0.005	22.517	0.122
112	0.005	22.490	22.415	22.650	0.005	22.518	0.120
113	0.005	22.491	22.414	22.650	0.005	22.518	0.120
114	0.005	22.491	22.415	22.651	0.005	22.519	0.120
115	0.005	22.494	22.417	22.651	0.005	22.521	0.119
116	0.005	22.492	22.423	22.651	0.005	22.522	0.117
117	0.005	22.491	22.426	22.651	0.005	22.523	0.116
118	0.005	22.494	22.426	22.651	0.005	22.524	0.115
119	0.005	22.496	22.431	22.651	0.005	22.526	0.113
120	0.005	22.498	22.435	22.651	0.005	22.528	0.111
121	0.005	22.497	22.432	22.651	0.005	22.527	0.112
122	0.005	22.501	22.436	22.651	0.005	22.529	0.110
123	0.005	22.502	22.438	22.651	0.005	22.530	0.109
124	0.005	22.503	22.444	22.652	0.005	22.533	0.107
125	0.005	22.504	22.451	22.652	0.005	22.536	0.104
126	0.005	22.505	22.448	22.652	0.005	22.535	0.105
127	0.005	22.507	22.449	22.652	0.005	22.536	0.105
128	0.005	22.508	22.452	22.652	0.005	22.537	0.103
129	0.005	22.508	22.454	22.652	0.005	22.538	0.102

130	0.005	22.507	22.455	22.652	0.005	22.538	0.102
131	0.005	22.508	22.460	22.652	0.005	22.540	0.100
132	0.005	22.508	22.463	22.653	0.005	22.541	0.099
133	0.005	22.509	22.465	22.653	0.005	22.542	0.098
134	0.005	22.509	22.468	22.653	0.005	22.543	0.097
135	0.005	22.516	22.469	22.653	0.005	22.546	0.096
136	0.005	22.513	22.474	22.653	0.005	22.547	0.094
137	0.005	22.515	22.476	22.653	0.005	22.548	0.093
138	0.005	22.513	22.480	22.653	0.005	22.549	0.092
139	0.005	22.517	22.482	22.653	0.005	22.551	0.090
140	0.005	22.515	22.485	22.653	0.005	22.551	0.090
141	0.005	22.516	22.484	22.654	0.005	22.551	0.090
142	0.005	22.519	22.491	22.654	0.005	22.555	0.087
143	0.005	22.520	22.491	22.654	0.005	22.555	0.087
144	0.005	22.521	22.493	22.654	0.005	22.556	0.086
145	0.005	22.521	22.497	22.654	0.005	22.557	0.085
146	0.005	22.519	22.498	22.654	0.005	22.557	0.085
147	0.005	22.525	22.502	22.654	0.005	22.560	0.082
148	0.005	22.523	22.504	22.654	0.005	22.560	0.082
149	0.005	22.524	22.507	22.655	0.005	22.562	0.081
150	0.005	22.524	22.513	22.655	0.005	22.564	0.079
151	0.005	22.523	22.511	22.655	0.005	22.563	0.080
152	0.005	22.523	22.514	22.655	0.005	22.564	0.079
153	0.005	22.524	22.523	22.655	0.005	22.567	0.076
154	0.005	22.526	22.523	22.655	0.005	22.568	0.075
155	0.005	22.527	22.528	22.655	0.005	22.570	0.074
156	0.005	22.527	22.523	22.655	0.005	22.568	0.075
157	0.005	22.528	22.523	22.655	0.005	22.569	0.075
158	0.005	22.528	22.532	22.655	0.005	22.572	0.072
159	0.005	22.530	22.532	22.655	0.005	22.572	0.072
160	0.005	22.528	22.533	22.655	0.005	22.572	0.072
161	0.005	22.534	22.539	22.655	0.005	22.576	0.068
162	0.005	22.532	22.541	22.655	0.005	22.576	0.069
163	0.005	22.531	22.546	22.655	0.005	22.577	0.068
164	0.005	22.532	22.544	22.655	0.005	22.577	0.068
165	0.005	22.530	22.549	22.655	0.005	22.578	0.067
166	0.005	22.534	22.551	22.656	0.005	22.580	0.066
167	0.005	22.534	22.554	22.656	0.005	22.581	0.065
168	0.005	22.537	22.554	22.656	0.005	22.582	0.064
169	0.005	22.536	22.554	22.656	0.005	22.582	0.065
170	0.005	22.537	22.556	22.656	0.005	22.583	0.064

171	0.005	22.539	22.559	22.656	0.005	22.585	0.063
172	0.005	22.540	22.562	22.656	0.005	22.586	0.062
173	0.005	22.539	22.566	22.656	0.005	22.587	0.061
174	0.005	22.540	22.569	22.656	0.005	22.588	0.060
175	0.005	22.541	22.569	22.656	0.005	22.589	0.060
176	0.005	22.540	22.568	22.656	0.005	22.588	0.061
177	0.005	22.543	22.569	22.656	0.005	22.589	0.059
178	0.005	22.544	22.574	22.656	0.005	22.591	0.058
179	0.005	22.543	22.579	22.656	0.005	22.593	0.058
180	0.005	22.544	22.576	22.656	0.005	22.592	0.058
181	0.005	22.546	22.577	22.656	0.005	22.593	0.057
182	0.005	22.547	22.582	22.656	0.005	22.595	0.056
183	0.005	22.546	22.579	22.656	0.005	22.594	0.056
184	0.005	22.548	22.585	22.657	0.005	22.597	0.055
185	0.005	22.549	22.587	22.657	0.005	22.598	0.055
186	0.005	22.546	22.588	22.657	0.005	22.597	0.056
187	0.005	22.546	22.593	22.657	0.005	22.599	0.056
188	0.005	22.546	22.590	22.657	0.005	22.598	0.056
189	0.005	22.544	22.596	22.657	0.005	22.599	0.057
190	0.005	22.546	22.595	22.657	0.005	22.599	0.056
191	0.005	22.545	22.599	22.657	0.005	22.600	0.056
192	0.005	22.548	22.599	22.657	0.005	22.601	0.055
193	0.005	22.548	22.599	22.657	0.005	22.601	0.055
194	0.005	22.548	22.602	22.657	0.005	22.602	0.055
195	0.005	22.551	22.604	22.658	0.005	22.604	0.054
196	0.005	22.552	22.607	22.658	0.005	22.606	0.053
197	0.005	22.549	22.609	22.658	0.005	22.605	0.055
198	0.005	22.550	22.609	22.658	0.005	22.606	0.054
199	0.005	22.550	22.611	22.658	0.005	22.606	0.054
200	0.005	22.550	22.612	22.658	0.005	22.607	0.054
201	0.005	22.551	22.614	22.658	0.005	22.608	0.054
202	0.005	22.552	22.615	22.658	0.005	22.608	0.053
203	0.005	22.549	22.614	22.658	0.005	22.607	0.055
204	0.005	22.550	22.615	22.658	0.005	22.608	0.054
205	0.005	22.551	22.621	22.658	0.005	22.610	0.054
206	0.005	22.552	22.619	22.658	0.005	22.610	0.054
207	0.005	22.553	22.622	22.658	0.005	22.611	0.053
208	0.005	22.554	22.621	22.658	0.005	22.611	0.053
209	0.005	22.555	22.622	22.658	0.005	22.612	0.052
210	0.005	22.554	22.624	22.658	0.005	22.612	0.053
211	0.005	22.554	22.626	22.658	0.005	22.613	0.053

212	0.005	22.555	22.627	22.659	0.005	22.614	0.053
213	0.005	22.556	22.625	22.659	0.005	22.613	0.052
214	0.005	22.558	22.629	22.659	0.005	22.615	0.052
215	0.005	22.560	22.629	22.659	0.005	22.616	0.051
216	0.005	22.560	22.630	22.659	0.005	22.616	0.051
217	0.005	22.560	22.631	22.659	0.005	22.617	0.051
218	0.005	22.563	22.636	22.659	0.005	22.619	0.050
219	0.005	22.561	22.635	22.659	0.005	22.618	0.051
220	0.005	22.561	22.633	22.659	0.005	22.618	0.051
221	0.005	22.561	22.635	22.660	0.005	22.619	0.051
222	0.005	22.563	22.637	22.660	0.005	22.620	0.051
223	0.005	22.562	22.636	22.660	0.005	22.619	0.051
224	0.005	22.564	22.637	22.660	0.005	22.620	0.050
225	0.005	22.564	22.640	22.660	0.005	22.621	0.051
226	0.005	22.563	22.638	22.660	0.005	22.620	0.051
227	0.005	22.564	22.637	22.661	0.005	22.621	0.051
228	0.005	22.565	22.642	22.661	0.005	22.623	0.051
229	0.005	22.563	22.642	22.661	0.005	22.622	0.052
230	0.005	22.564	22.643	22.661	0.005	22.623	0.052
231	0.005	22.564	22.643	22.662	0.005	22.623	0.052
232	0.005	22.565	22.641	22.662	0.005	22.623	0.051
233	0.005	22.568	22.646	22.662	0.005	22.625	0.050
234	0.005	22.566	22.650	22.663	0.005	22.626	0.053
235	0.005	22.566	22.646	22.663	0.005	22.625	0.052
236	0.005	22.562	22.648	22.663	0.005	22.624	0.055
237	0.005	22.567	22.649	22.663	0.005	22.626	0.052
238	0.005	22.567	22.652	22.663	0.005	22.627	0.053
239	0.005	22.566	22.651	22.664	0.005	22.627	0.053
240	0.005	22.566	22.651	22.664	0.005	22.627	0.053
241	0.005	22.564	22.652	22.664	0.005	22.627	0.055
242	0.005	22.569	22.655	22.664	0.005	22.629	0.052
243	0.005	22.568	22.652	22.664	0.005	22.628	0.052
244	0.005	22.568	22.655	22.665	0.005	22.629	0.053
245	0.005	22.570	22.652	22.665	0.005	22.629	0.052
246	0.005	22.568	22.653	22.665	0.005	22.629	0.053
247	0.005	22.567	22.653	22.665	0.005	22.628	0.053
248	0.005	22.569	22.652	22.665	0.005	22.629	0.052
249	0.005	22.571	22.655	22.666	0.005	22.631	0.052
250	0.005	22.569	22.655	22.666	0.005	22.630	0.053
251	0.005	22.571	22.655	22.666	0.005	22.631	0.052
252	0.005	22.572	22.657	22.666	0.005	22.632	0.052

253	0.005	22.572	22.655	22.666	0.005	22.631	0.051
254	0.005	22.570	22.659	22.667	0.005	22.632	0.054
255	0.005	22.571	22.657	22.667	0.005	22.632	0.053
256	0.005	22.571	22.657	22.667	0.005	22.632	0.053
257	0.005	22.571	22.656	22.667	0.005	22.631	0.053
258	0.005	22.572	22.660	22.667	0.005	22.633	0.053
259	0.005	22.570	22.657	22.667	0.005	22.631	0.053
260	0.005	22.571	22.660	22.667	0.005	22.633	0.054
261	0.005	22.577	22.660	22.667	0.005	22.635	0.050
262	0.005	22.572	22.663	22.667	0.005	22.634	0.054
263	0.005	22.574	22.662	22.667	0.005	22.634	0.052
264	0.005	22.576	22.660	22.667	0.005	22.634	0.051
265	0.005	22.576	22.663	22.667	0.005	22.635	0.051
266	0.005	22.580	22.664	22.668	0.005	22.637	0.050
267	0.005	22.578	22.661	22.668	0.005	22.636	0.050
268	0.005	22.578	22.662	22.668	0.005	22.636	0.050
269	0.005	22.580	22.661	22.668	0.005	22.636	0.049
270	0.005	22.576	22.661	22.668	0.005	22.635	0.051
271	0.005	22.579	22.662	22.668	0.005	22.636	0.050
272	0.005	22.578	22.660	22.668	0.005	22.635	0.050
273	0.005	22.582	22.661	22.668	0.005	22.637	0.048
274	0.005	22.581	22.663	22.668	0.005	22.637	0.049
275	0.005	22.580	22.661	22.668	0.005	22.636	0.049
276	0.005	22.580	22.662	22.668	0.005	22.637	0.049
277	0.005	22.581	22.664	22.668	0.005	22.638	0.049
278	0.005	22.579	22.663	22.668	0.005	22.637	0.050
279	0.005	22.581	22.661	22.669	0.005	22.637	0.049
280	0.005	22.579	22.662	22.669	0.005	22.637	0.050
281	0.005	22.581	22.664	22.669	0.005	22.638	0.049
282	0.005	22.579	22.663	22.669	0.005	22.637	0.050
283	0.005	22.578	22.661	22.669	0.005	22.636	0.050
284	0.005	22.581	22.663	22.669	0.005	22.638	0.049
285	0.005	22.582	22.665	22.669	0.005	22.639	0.049
286	0.005	22.582	22.668	22.669	0.005	22.640	0.050
287	0.005	22.581	22.663	22.669	0.005	22.638	0.049
288	0.005	22.581	22.663	22.669	0.005	22.638	0.049
289	0.005	22.581	22.664	22.669	0.005	22.638	0.049
290	0.005	22.583	22.664	22.669	0.005	22.639	0.048
291	0.005	22.585	22.665	22.669	0.005	22.640	0.047
292	0.005	22.582	22.668	22.669	0.005	22.640	0.050
293	0.005	22.584	22.665	22.669	0.005	22.639	0.048

294	0.005	22.585	22.663	22.669	0.005	22.639	0.047
295	0.005	22.586	22.664	22.669	0.005	22.640	0.047
296	0.005	22.587	22.663	22.669	0.005	22.640	0.046
297	0.005	22.585	22.664	22.669	0.005	22.639	0.047
298	0.005	22.585	22.666	22.669	0.005	22.640	0.048
299	0.005	22.586	22.662	22.669	0.005	22.639	0.046
300	0.005	22.588	22.663	22.670	0.005	22.640	0.045
301	0.005	22.587	22.663	22.670	0.005	22.640	0.046
302	0.005	22.588	22.665	22.670	0.005	22.641	0.046
303	0.005	22.587	22.665	22.670	0.005	22.641	0.047
304	0.005	22.589	22.665	22.670	0.005	22.641	0.045
305	0.005	22.591	22.662	22.670	0.005	22.641	0.043
306	0.005	22.590	22.663	22.670	0.005	22.641	0.044
307	0.005	22.589	22.664	22.670	0.005	22.641	0.045
308	0.005	22.594	22.665	22.670	0.005	22.643	0.043
309	0.005	22.592	22.663	22.670	0.005	22.642	0.043
310	0.005	22.592	22.665	22.670	0.005	22.642	0.044
311	0.005	22.593	22.665	22.670	0.005	22.643	0.043
312	0.005	22.592	22.667	22.670	0.005	22.643	0.044
313	0.005	22.594	22.663	22.670	0.005	22.642	0.042
314	0.005	22.591	22.665	22.670	0.005	22.642	0.044
315	0.005	22.591	22.666	22.670	0.005	22.642	0.045
316	0.005	22.590	22.665	22.670	0.005	22.642	0.045
317	0.005	22.592	22.663	22.670	0.005	22.642	0.043
318	0.005	22.592	22.664	22.670	0.005	22.642	0.043
319	0.005	22.589	22.661	22.670	0.005	22.640	0.044
320	0.005	22.592	22.663	22.670	0.005	22.642	0.043
321	0.005	22.588	22.664	22.670	0.005	22.641	0.046
322	0.005	22.589	22.668	22.670	0.005	22.642	0.046
323	0.005	22.589	22.666	22.670	0.005	22.642	0.046
324	0.005	22.590	22.663	22.670	0.005	22.641	0.044
325	0.005	22.590	22.666	22.670	0.005	22.642	0.045
326	0.005	22.591	22.665	22.670	0.005	22.642	0.044
327	0.005	22.593	22.666	22.670	0.005	22.643	0.043
328	0.005	22.591	22.668	22.670	0.005	22.643	0.045
329	0.005	22.592	22.667	22.670	0.005	22.643	0.044
330	0.005	22.593	22.666	22.670	0.005	22.643	0.043
331	0.005	22.591	22.667	22.670	0.005	22.643	0.045
332	0.005	22.592	22.667	22.670	0.005	22.643	0.044
333	0.005	22.592	22.666	22.670	0.005	22.643	0.044
334	0.005	22.591	22.667	22.671	0.005	22.643	0.045

335	0.005	22.590	22.667	22.671	0.005	22.643	0.046
336	0.005	22.591	22.667	22.671	0.005	22.643	0.045
337	0.005	22.589	22.663	22.671	0.005	22.641	0.045
338	0.005	22.588	22.665	22.671	0.005	22.641	0.046
339	0.005	22.589	22.667	22.671	0.005	22.642	0.046
340	0.005	22.590	22.667	22.671	0.005	22.643	0.046
341	0.005	22.593	22.664	22.671	0.005	22.643	0.043
342	0.005	22.592	22.665	22.671	0.005	22.643	0.044
343	0.005	22.592	22.667	22.671	0.005	22.643	0.045
344	0.005	22.592	22.664	22.671	0.005	22.642	0.044
345	0.005	22.593	22.666	22.671	0.005	22.643	0.044
346	0.005	22.591	22.666	22.671	0.005	22.643	0.045
347	0.005	22.592	22.664	22.671	0.005	22.642	0.044
348	0.005	22.590	22.665	22.671	0.005	22.642	0.045
349	0.005	22.590	22.667	22.671	0.005	22.643	0.046
350	0.005	22.590	22.668	22.671	0.005	22.643	0.046
351	0.005	22.591	22.668	22.671	0.005	22.643	0.045
352	0.005	22.591	22.666	22.671	0.005	22.643	0.045
353	0.005	22.590	22.668	22.671	0.005	22.643	0.046
354	0.005	22.591	22.668	22.671	0.005	22.643	0.045
355	0.005	22.590	22.667	22.671	0.005	22.643	0.046
356	0.005	22.593	22.671	22.671	0.005	22.645	0.045
357	0.005	22.591	22.669	22.671	0.005	22.644	0.046
358	0.005	22.592	22.670	22.671	0.005	22.644	0.045
359	0.005	22.594	22.667	22.671	0.005	22.644	0.043
360	0.005	22.593	22.668	22.671	0.005	22.644	0.044
361	0.005	22.593	22.666	22.672	0.005	22.644	0.044
362	0.005	22.593	22.667	22.672	0.005	22.644	0.044
363	0.005	22.593	22.664	22.672	0.005	22.643	0.043
364	0.005	22.595	22.665	22.672	0.005	22.644	0.043
365	0.005	22.593	22.666	22.672	0.005	22.644	0.044
366	0.005	22.593	22.668	22.672	0.005	22.644	0.045
367	0.005	22.597	22.668	22.672	0.005	22.646	0.042
368	0.005	22.595	22.669	22.672	0.005	22.645	0.044
369	0.005	22.598	22.665	22.672	0.005	22.645	0.041
370	0.005	22.600	22.664	22.672	0.005	22.645	0.039
371	0.005	22.597	22.666	22.672	0.005	22.645	0.042
372	0.005	22.595	22.665	22.672	0.005	22.644	0.043
373	0.005	22.599	22.666	22.672	0.005	22.646	0.041
374	0.005	22.597	22.668	22.672	0.005	22.646	0.042
375	0.005	22.599	22.666	22.672	0.005	22.646	0.041

376	0.005	22.598	22.669	22.672	0.005	22.646	0.042
377	0.005	22.596	22.664	22.672	0.005	22.644	0.042
378	0.005	22.594	22.664	22.672	0.005	22.643	0.043
379	0.005	22.598	22.668	22.672	0.005	22.646	0.042
380	0.005	22.596	22.666	22.672	0.005	22.645	0.042
381	0.005	22.598	22.664	22.672	0.005	22.645	0.041
382	0.005	22.598	22.662	22.672	0.005	22.644	0.040
383	0.005	22.598	22.660	22.672	0.005	22.643	0.040
384	0.005	22.597	22.668	22.672	0.005	22.646	0.042
385	0.005	22.599	22.665	22.672	0.005	22.645	0.040
386	0.005	22.598	22.667	22.672	0.005	22.646	0.041
387	0.005	22.600	22.667	22.672	0.005	22.646	0.040
388	0.005	22.599	22.669	22.672	0.005	22.647	0.041
389	0.005	22.599	22.668	22.672	0.005	22.646	0.041
390	0.005	22.599	22.669	22.672	0.005	22.647	0.041
391	0.005	22.597	22.672	22.672	0.005	22.647	0.043
392	0.005	22.597	22.668	22.673	0.005	22.646	0.043
393	0.005	22.601	22.671	22.673	0.005	22.648	0.041
394	0.005	22.598	22.667	22.673	0.005	22.646	0.042
395	0.005	22.597	22.668	22.673	0.005	22.646	0.043
396	0.005	22.598	22.669	22.673	0.005	22.647	0.042
397	0.005	22.596	22.671	22.673	0.005	22.647	0.044
398	0.005	22.599	22.667	22.673	0.005	22.646	0.041
399	0.005	22.599	22.670	22.673	0.005	22.647	0.042
400	0.005	22.599	22.670	22.673	0.005	22.647	0.042
401	0.005	22.598	22.670	22.673	0.005	22.647	0.042
402	0.005	22.598	22.667	22.673	0.005	22.646	0.042
403	0.005	22.598	22.668	22.673	0.005	22.646	0.042
404	0.005	22.600	22.671	22.673	0.005	22.648	0.042
405	0.005	22.600	22.670	22.673	0.005	22.648	0.041
406	0.005	22.600	22.670	22.673	0.005	22.648	0.041
407	0.005	22.599	22.671	22.673	0.005	22.648	0.042
408	0.005	22.604	22.671	22.674	0.005	22.650	0.040
409	0.005	22.600	22.672	22.674	0.005	22.649	0.042
410	0.005	22.599	22.671	22.674	0.005	22.648	0.042
411	0.005	22.603	22.671	22.674	0.005	22.649	0.040
412	0.005	22.600	22.672	22.674	0.005	22.649	0.042
413	0.005	22.599	22.668	22.674	0.005	22.647	0.042
414	0.005	22.598	22.669	22.674	0.005	22.647	0.043
415	0.005	22.599	22.672	22.674	0.005	22.648	0.043
416	0.005	22.601	22.671	22.674	0.005	22.649	0.041

417	0.005	22.603	22.669	22.674	0.005	22.649	0.040
418	0.005	22.602	22.668	22.674	0.005	22.648	0.040
419	0.005	22.604	22.667	22.674	0.005	22.648	0.039
420	0.005	22.602	22.667	22.674	0.005	22.648	0.040
421	0.005	22.603	22.671	22.674	0.005	22.649	0.040
422	0.005	22.601	22.670	22.674	0.005	22.648	0.041
423	0.005	22.602	22.669	22.674	0.005	22.648	0.040
424	0.005	22.602	22.668	22.674	0.005	22.648	0.040
425	0.005	22.603	22.668	22.674	0.005	22.648	0.039
426	0.005	22.606	22.665	22.674	0.005	22.648	0.037
427	0.005	22.603	22.668	22.675	0.005	22.649	0.040
428	0.005	22.603	22.667	22.675	0.005	22.648	0.039
429	0.005	22.604	22.667	22.675	0.005	22.649	0.039
430	0.005	22.600	22.669	22.675	0.005	22.648	0.042
431	0.005	22.602	22.668	22.675	0.005	22.648	0.040
432	0.005	22.602	22.668	22.675	0.005	22.648	0.040
433	0.005	22.602	22.670	22.675	0.005	22.649	0.041
434	0.005	22.599	22.667	22.675	0.005	22.647	0.042
435	0.005	22.598	22.669	22.675	0.005	22.647	0.043
436	0.005	22.602	22.670	22.675	0.005	22.649	0.041
437	0.005	22.601	22.668	22.675	0.005	22.648	0.041
438	0.005	22.601	22.669	22.675	0.005	22.648	0.041
439	0.005	22.600	22.670	22.675	0.005	22.648	0.042
440	0.005	22.599	22.668	22.675	0.005	22.647	0.042
441	0.005	22.602	22.669	22.675	0.005	22.649	0.041
442	0.005	22.600	22.668	22.675	0.005	22.648	0.041
443	0.005	22.602	22.670	22.675	0.005	22.649	0.041
444	0.005	22.600	22.671	22.675	0.005	22.649	0.042
445	0.005	22.600	22.668	22.675	0.005	22.648	0.041
446	0.005	22.601	22.671	22.675	0.005	22.649	0.042
447	0.005	22.600	22.673	22.675	0.005	22.649	0.043
448	0.005	22.600	22.675	22.676	0.005	22.650	0.044
449	0.005	22.600	22.674	22.676	0.005	22.650	0.043
450	0.005	22.600	22.670	22.676	0.005	22.649	0.042
451	0.005	22.600	22.673	22.676	0.005	22.650	0.043
452	0.005	22.599	22.671	22.676	0.005	22.649	0.043
453	0.005	22.598	22.671	22.676	0.005	22.648	0.044
454	0.005	22.601	22.670	22.676	0.005	22.649	0.042
455	0.005	22.599	22.674	22.676	0.005	22.650	0.044
456	0.005	22.600	22.672	22.676	0.005	22.649	0.043
457	0.005	22.600	22.676	22.676	0.005	22.651	0.044

458	0.005	22.598	22.674	22.677	0.005	22.650	0.045
459	0.005	22.601	22.672	22.677	0.005	22.650	0.043
460	0.005	22.599	22.671	22.677	0.005	22.649	0.043
461	0.005	22.600	22.675	22.677	0.005	22.651	0.044
462	0.005	22.603	22.673	22.677	0.005	22.651	0.042
463	0.005	22.603	22.674	22.677	0.005	22.651	0.042
464	0.005	22.602	22.674	22.677	0.005	22.651	0.042
465	0.005	22.602	22.671	22.678	0.005	22.650	0.042
466	0.005	22.601	22.672	22.678	0.005	22.650	0.043
467	0.005	22.603	22.673	22.678	0.005	22.651	0.042
468	0.005	22.602	22.674	22.678	0.005	22.651	0.043
469	0.005	22.604	22.675	22.678	0.005	22.652	0.042
470	0.005	22.604	22.677	22.678	0.005	22.653	0.042
471	0.005	22.601	22.673	22.678	0.005	22.651	0.043
472	0.005	22.604	22.674	22.678	0.005	22.652	0.042
473	0.005	22.601	22.674	22.679	0.005	22.651	0.044
474	0.005	22.601	22.675	22.679	0.005	22.652	0.044
475	0.005	22.600	22.678	22.679	0.005	22.652	0.045
476	0.005	22.603	22.676	22.679	0.005	22.653	0.043
477	0.005	22.603	22.678	22.679	0.005	22.653	0.044
478	0.005	22.603	22.681	22.679	0.005	22.654	0.044
479	0.005	22.603	22.681	22.680	0.005	22.655	0.045
480	0.005	22.603	22.679	22.680	0.005	22.654	0.044
481	0.005	22.604	22.680	22.680	0.005	22.655	0.044
482	0.005	22.603	22.680	22.680	0.005	22.654	0.044
483	0.005	22.602	22.680	22.681	0.005	22.654	0.045
484	0.005	22.602	22.683	22.681	0.005	22.655	0.046
485	0.005	22.602	22.681	22.681	0.005	22.655	0.046
486	0.005	22.604	22.680	22.681	0.005	22.655	0.044
487	0.005	22.602	22.681	22.682	0.005	22.655	0.046
488	0.005	22.603	22.682	22.682	0.005	22.656	0.046
489	0.005	22.601	22.676	22.682	0.005	22.653	0.045
490	0.005	22.605	22.682	22.683	0.005	22.657	0.045
491	0.005	22.605	22.683	22.683	0.005	22.657	0.045
492	0.005	22.601	22.680	22.683	0.005	22.655	0.047
493	0.005	22.603	22.680	22.683	0.005	22.655	0.045
494	0.005	22.603	22.679	22.683	0.005	22.655	0.045
495	0.005	22.602	22.680	22.683	0.005	22.655	0.046
496	0.005	22.599	22.682	22.683	0.005	22.655	0.048
497	0.005	22.600	22.679	22.683	0.005	22.654	0.047
498	0.005	22.603	22.678	22.683	0.005	22.655	0.045

499	0.005	22.603	22.680	22.684	0.005	22.656	0.046
500	0.005	22.602	22.681	22.684	0.005	22.656	0.047
501	0.005	22.601	22.679	22.684	0.005	22.655	0.047
502	0.005	22.602	22.678	22.684	0.005	22.655	0.046
503	0.005	22.600	22.680	22.684	0.005	22.655	0.047
504	0.005	22.598	22.678	22.685	0.005	22.654	0.048
505	0.005	22.602	22.679	22.685	0.005	22.655	0.046
506	0.005	22.600	22.681	22.685	0.005	22.655	0.048
507	0.005	22.601	22.680	22.685	0.005	22.655	0.047
508	0.005	22.599	22.681	22.685	0.005	22.655	0.049
509	0.005	22.601	22.680	22.686	0.005	22.656	0.047
510	0.005	22.604	22.677	22.686	0.005	22.656	0.045
511	0.005	22.603	22.680	22.686	0.005	22.656	0.046
512	0.005	22.600	22.681	22.686	0.005	22.656	0.048
513	0.005	22.602	22.683	22.686	0.005	22.657	0.048
514	0.005	22.604	22.678	22.686	0.005	22.656	0.045
515	0.005	22.602	22.679	22.686	0.005	22.656	0.047
516	0.005	22.601	22.681	22.687	0.005	22.656	0.048
517	0.005	22.600	22.677	22.687	0.005	22.655	0.048
518	0.005	22.604	22.678	22.687	0.005	22.656	0.046
519	0.005	22.604	22.679	22.687	0.005	22.657	0.046
520	0.005	22.604	22.680	22.688	0.005	22.657	0.046
521	0.005	22.602	22.677	22.688	0.005	22.656	0.047
522	0.005	22.604	22.678	22.689	0.005	22.657	0.046
523	0.005	22.606	22.680	22.689	0.005	22.658	0.046
524	0.005	22.603	22.680	22.689	0.005	22.657	0.047
525	0.005	22.605	22.680	22.689	0.005	22.658	0.046
526	0.005	22.602	22.677	22.689	0.005	22.656	0.047
527	0.005	22.604	22.678	22.689	0.005	22.657	0.046
528	0.005	22.603	22.678	22.690	0.005	22.657	0.047
529	0.005	22.604	22.676	22.690	0.005	22.657	0.046
530	0.005	22.602	22.676	22.690	0.005	22.656	0.047
531	0.005	22.606	22.677	22.691	0.005	22.658	0.046
532	0.005	22.603	22.680	22.691	0.005	22.658	0.048
533	0.005	22.603	22.677	22.691	0.005	22.657	0.047
534	0.005	22.604	22.681	22.691	0.005	22.659	0.048
535	0.005	22.606	22.677	22.691	0.005	22.658	0.046
536	0.005	22.603	22.676	22.692	0.005	22.657	0.047
537	0.005	22.603	22.679	22.692	0.005	22.658	0.048
538	0.005	22.604	22.679	22.692	0.005	22.658	0.048
539	0.005	22.605	22.677	22.693	0.005	22.658	0.047

540	0.005	22.603	22.679	22.693	0.005	22.658	0.048
541	0.005	22.603	22.677	22.693	0.005	22.658	0.048
542	0.005	22.605	22.679	22.693	0.005	22.659	0.047
543	0.005	22.607	22.677	22.693	0.005	22.659	0.046
544	0.005	22.608	22.678	22.693	0.005	22.660	0.045
545	0.005	22.604	22.680	22.694	0.005	22.659	0.048
546	0.005	22.607	22.679	22.694	0.005	22.660	0.047
547	0.005	22.604	22.681	22.694	0.005	22.660	0.049
548	0.005	22.604	22.679	22.694	0.005	22.659	0.048
549	0.005	22.607	22.681	22.694	0.005	22.661	0.047
550	0.005	22.607	22.678	22.694	0.005	22.660	0.046
551	0.005	22.608	22.680	22.695	0.005	22.661	0.047
552	0.005	22.606	22.675	22.695	0.005	22.659	0.047
553	0.005	22.604	22.677	22.695	0.005	22.659	0.048
554	0.005	22.602	22.677	22.696	0.005	22.658	0.050
555	0.005	22.605	22.677	22.697	0.005	22.660	0.048
556	0.005	22.602	22.677	22.697	0.005	22.659	0.050
557	0.005	22.607	22.678	22.697	0.005	22.661	0.047
558	0.005	22.606	22.678	22.697	0.005	22.660	0.048
559	0.005	22.604	22.677	22.697	0.005	22.659	0.049
560	0.005	22.605	22.676	22.697	0.005	22.659	0.048
561	0.005	22.603	22.679	22.697	0.005	22.660	0.050
562	0.005	22.606	22.675	22.698	0.005	22.660	0.048
563	0.005	22.604	22.678	22.698	0.005	22.660	0.050
564	0.005	22.608	22.676	22.698	0.005	22.661	0.047
565	0.005	22.604	22.680	22.698	0.005	22.661	0.050
566	0.005	22.606	22.678	22.698	0.005	22.661	0.048
567	0.005	22.607	22.677	22.699	0.005	22.661	0.048
568	0.005	22.607	22.678	22.699	0.005	22.661	0.048
569	0.005	22.605	22.677	22.700	0.005	22.661	0.050
570	0.005	22.604	22.678	22.700	0.005	22.661	0.050
571	0.005	22.604	22.675	22.700	0.005	22.660	0.050
572	0.005	22.607	22.675	22.700	0.005	22.661	0.048
573	0.005	22.607	22.674	22.701	0.005	22.661	0.048
574	0.005	22.608	22.678	22.701	0.005	22.662	0.048
575	0.005	22.608	22.675	22.701	0.005	22.661	0.048
576	0.005	22.608	22.680	22.701	0.005	22.663	0.049
577	0.005	22.607	22.678	22.702	0.005	22.662	0.049
578	0.005	22.605	22.675	22.702	0.005	22.661	0.050
579	0.005	22.606	22.679	22.702	0.005	22.662	0.050
580	0.005	22.605	22.677	22.702	0.005	22.661	0.050

581	0.005	22.607	22.676	22.702	0.005	22.662	0.049
582	0.005	22.605	22.674	22.702	0.005	22.660	0.050
583	0.005	22.607	22.674	22.703	0.005	22.661	0.049
584	0.005	22.606	22.676	22.703	0.005	22.662	0.050
585	0.005	22.604	22.673	22.703	0.005	22.660	0.051
586	0.005	22.606	22.675	22.703	0.005	22.661	0.050
587	0.005	22.605	22.672	22.703	0.005	22.660	0.050
588	0.005	22.607	22.671	22.704	0.005	22.661	0.049
589	0.005	22.606	22.672	22.704	0.005	22.661	0.050
590	0.005	22.605	22.674	22.705	0.005	22.661	0.051
591	0.005	22.606	22.672	22.705	0.005	22.661	0.050
592	0.005	22.607	22.671	22.705	0.005	22.661	0.050
593	0.005	22.605	22.673	22.705	0.005	22.661	0.051
594	0.005	22.606	22.671	22.705	0.005	22.661	0.050
595	0.005	22.606	22.671	22.705	0.005	22.661	0.050
596	0.005	22.608	22.672	22.705	0.005	22.662	0.049
597	0.005	22.608	22.670	22.705	0.005	22.661	0.049
598	0.005	22.609	22.668	22.705	0.005	22.661	0.048
599	0.005	22.607	22.671	22.705	0.005	22.661	0.050
600	0.005	22.607	22.672	22.705	0.005	22.661	0.050
601	0.005	22.609	22.674	22.706	0.005	22.663	0.049
602	0.005	22.609	22.669	22.706	0.005	22.661	0.049
603	0.005	22.605	22.675	22.706	0.005	22.662	0.052
604	0.005	22.606	22.672	22.706	0.005	22.661	0.051
605	0.005	22.607	22.670	22.707	0.005	22.661	0.051
606	0.005	22.606	22.673	22.707	0.005	22.662	0.051
607	0.005	22.606	22.672	22.707	0.005	22.662	0.051
608	0.005	22.604	22.669	22.707	0.005	22.660	0.052
609	0.005	22.605	22.670	22.707	0.005	22.661	0.052
610	0.005	22.604	22.670	22.708	0.005	22.661	0.053
611	0.005	22.605	22.669	22.708	0.005	22.661	0.052
612	0.005	22.604	22.671	22.709	0.005	22.661	0.053
613	0.005	22.605	22.668	22.709	0.005	22.661	0.052
614	0.005	22.605	22.672	22.709	0.005	22.662	0.053
615	0.005	22.602	22.671	22.709	0.005	22.661	0.054
616	0.005	22.603	22.672	22.710	0.005	22.662	0.054
617	0.005	22.606	22.668	22.710	0.005	22.661	0.052
618	0.005	22.604	22.667	22.711	0.005	22.661	0.054
619	0.005	22.601	22.669	22.711	0.005	22.660	0.056
620	0.005	22.604	22.670	22.711	0.005	22.662	0.054
621	0.005	22.601	22.667	22.712	0.005	22.660	0.056

622	0.005	22.599	22.667	22.712	0.005	22.659	0.057
623	0.005	22.604	22.668	22.712	0.005	22.661	0.054
624	0.005	22.603	22.668	22.713	0.005	22.661	0.055
625	0.005	22.603	22.670	22.713	0.005	22.662	0.055
626	0.005	22.603	22.666	22.714	0.005	22.661	0.056
627	0.005	22.604	22.665	22.714	0.005	22.661	0.055
628	0.005	22.605	22.668	22.714	0.005	22.662	0.055
629	0.005	22.604	22.667	22.715	0.005	22.662	0.056
630	0.005	22.600	22.665	22.715	0.005	22.660	0.058
631	0.005	22.601	22.665	22.716	0.005	22.661	0.058
632	0.005	22.605	22.668	22.716	0.005	22.663	0.056
633	0.005	22.603	22.667	22.716	0.005	22.662	0.057
634	0.005	22.605	22.667	22.716	0.005	22.663	0.056
635	0.005	22.604	22.664	22.717	0.005	22.662	0.057
636	0.005	22.604	22.667	22.717	0.005	22.663	0.057
637	0.005	22.603	22.666	22.717	0.005	22.662	0.057
638	0.005	22.602	22.667	22.718	0.005	22.662	0.058
639	0.005	22.601	22.669	22.718	0.005	22.663	0.059
640	0.005	22.604	22.668	22.718	0.005	22.663	0.057
641	0.005	22.602	22.668	22.718	0.005	22.663	0.058
642	0.005	22.602	22.667	22.718	0.005	22.662	0.058
643	0.005	22.603	22.667	22.718	0.005	22.663	0.058
644	0.005	22.601	22.664	22.718	0.005	22.661	0.059
645	0.005	22.603	22.668	22.718	0.005	22.663	0.058
646	0.005	22.601	22.669	22.719	0.005	22.663	0.059
647	0.005	22.604	22.663	22.719	0.005	22.662	0.058
648	0.005	22.604	22.665	22.719	0.005	22.663	0.058
649	0.005	22.605	22.669	22.719	0.005	22.664	0.057
650	0.005	22.606	22.666	22.719	0.005	22.664	0.057
651	0.005	22.606	22.662	22.720	0.005	22.663	0.057
652	0.005	22.604	22.664	22.720	0.005	22.663	0.058
653	0.005	22.605	22.662	22.720	0.005	22.662	0.058
654	0.005	22.606	22.664	22.720	0.005	22.663	0.057
655	0.005	22.606	22.662	22.720	0.005	22.663	0.057
656	0.005	22.606	22.663	22.720	0.005	22.663	0.057
657	0.005	22.606	22.664	22.720	0.005	22.663	0.057
658	0.005	22.607	22.661	22.721	0.005	22.663	0.057
659	0.005	22.608	22.664	22.721	0.005	22.664	0.057
660	0.005	22.607	22.665	22.722	0.005	22.665	0.058
661	0.005	22.607	22.665	22.722	0.005	22.665	0.058
662	0.005	22.609	22.663	22.722	0.005	22.665	0.057

663	0.005	22.609	22.663	22.722	0.005	22.665	0.057
664	0.005	22.608	22.665	22.723	0.005	22.665	0.058
665	0.005	22.609	22.666	22.723	0.005	22.666	0.057
666	0.005	22.611	22.665	22.723	0.005	22.666	0.056
667	0.005	22.611	22.667	22.723	0.005	22.667	0.056
668	0.005	22.613	22.666	22.724	0.005	22.668	0.056
669	0.005	22.612	22.664	22.724	0.005	22.667	0.056
670	0.005	22.615	22.666	22.724	0.005	22.668	0.055
671	0.005	22.612	22.663	22.724	0.005	22.666	0.056
672	0.005	22.614	22.667	22.724	0.005	22.668	0.055
673	0.005	22.615	22.665	22.725	0.005	22.668	0.055
674	0.005	22.615	22.668	22.725	0.005	22.669	0.055
675	0.005	22.615	22.669	22.725	0.005	22.670	0.055
676	0.005	22.618	22.666	22.725	0.005	22.670	0.054
677	0.005	22.614	22.666	22.725	0.005	22.668	0.056
678	0.005	22.616	22.666	22.725	0.005	22.669	0.055
679	0.005	22.620	22.665	22.725	0.005	22.670	0.053
680	0.005	22.618	22.666	22.726	0.005	22.670	0.054
681	0.005	22.620	22.663	22.726	0.005	22.670	0.053
682	0.005	22.620	22.667	22.726	0.005	22.671	0.053
683	0.005	22.618	22.668	22.726	0.005	22.671	0.054
684	0.005	22.621	22.664	22.727	0.005	22.671	0.053
685	0.005	22.622	22.666	22.727	0.005	22.672	0.053
686	0.005	22.625	22.666	22.727	0.005	22.673	0.051
687	0.005	22.624	22.666	22.727	0.005	22.672	0.052
688	0.005	22.623	22.668	22.727	0.005	22.673	0.052
689	0.005	22.625	22.667	22.727	0.005	22.673	0.051
690	0.005	22.626	22.670	22.727	0.005	22.674	0.051
691	0.005	22.627	22.668	22.727	0.005	22.674	0.050
692	0.005	22.627	22.668	22.727	0.005	22.674	0.050
693	0.005	22.627	22.669	22.727	0.005	22.674	0.050
694	0.005	22.629	22.668	22.727	0.005	22.675	0.049
695	0.005	22.626	22.666	22.727	0.005	22.673	0.051
696	0.005	22.629	22.670	22.728	0.005	22.676	0.050
697	0.005	22.630	22.670	22.728	0.005	22.676	0.049
698	0.005	22.630	22.667	22.728	0.005	22.675	0.049
699	0.005	22.627	22.668	22.728	0.005	22.674	0.051
700	0.005	22.629	22.668	22.728	0.005	22.675	0.050
701	0.005	22.630	22.671	22.728	0.005	22.676	0.049
702	0.005	22.630	22.664	22.728	0.005	22.674	0.050
703	0.005	22.630	22.667	22.728	0.005	22.675	0.049

704	0.005	22.634	22.670	22.728	0.005	22.677	0.047
705	0.005	22.632	22.666	22.729	0.005	22.676	0.049
706	0.005	22.634	22.668	22.729	0.005	22.677	0.048
707	0.005	22.633	22.668	22.729	0.005	22.677	0.049
708	0.005	22.634	22.669	22.729	0.005	22.677	0.048
709	0.005	22.635	22.667	22.729	0.005	22.677	0.048
710	0.005	22.636	22.668	22.729	0.005	22.678	0.047
711	0.005	22.634	22.667	22.729	0.005	22.677	0.048
712	0.005	22.638	22.668	22.729	0.005	22.678	0.046
713	0.005	22.635	22.670	22.729	0.005	22.678	0.048
714	0.005	22.637	22.669	22.729	0.005	22.678	0.047
715	0.005	22.636	22.664	22.729	0.005	22.676	0.048
716	0.005	22.637	22.667	22.729	0.005	22.678	0.047
717	0.005	22.637	22.664	22.729	0.005	22.677	0.047
718	0.005	22.637	22.666	22.730	0.005	22.678	0.048
719	0.005	22.636	22.662	22.730	0.005	22.676	0.049
720	0.005	22.635	22.660	22.730	0.005	22.675	0.049
721	0.005	22.638	22.661	22.730	0.005	22.676	0.048
722	0.005	22.638	22.663	22.730	0.005	22.677	0.048
723	0.005	22.639	22.661	22.730	0.005	22.677	0.047
724	0.005	22.638	22.666	22.730	0.005	22.678	0.047
725	0.005	22.638	22.661	22.731	0.005	22.677	0.048
726	0.005	22.640	22.659	22.731	0.005	22.677	0.048
727	0.005	22.639	22.664	22.731	0.005	22.678	0.048
728	0.005	22.637	22.661	22.731	0.005	22.676	0.049
729	0.005	22.638	22.662	22.731	0.005	22.677	0.048
730	0.005	22.635	22.663	22.731	0.005	22.676	0.049
731	0.005	22.636	22.660	22.731	0.005	22.676	0.049
732	0.005	22.635	22.664	22.731	0.005	22.677	0.049
733	0.005	22.638	22.661	22.731	0.005	22.677	0.048
734	0.005	22.635	22.662	22.731	0.005	22.676	0.050
735	0.005	22.636	22.658	22.731	0.005	22.675	0.050
736	0.005	22.638	22.658	22.731	0.005	22.676	0.049
737	0.005	22.636	22.663	22.732	0.005	22.677	0.050
738	0.005	22.637	22.663	22.732	0.005	22.677	0.049
739	0.005	22.639	22.662	22.732	0.005	22.678	0.048
740	0.005	22.637	22.661	22.732	0.005	22.677	0.049
741	0.005	22.637	22.662	22.732	0.005	22.677	0.049
742	0.005	22.638	22.659	22.732	0.005	22.676	0.049
743	0.005	22.636	22.659	22.732	0.005	22.676	0.050
744	0.005	22.636	22.659	22.732	0.005	22.676	0.050

745	0.005	22.638	22.661	22.732	0.005	22.677	0.049
746	0.005	22.637	22.662	22.732	0.005	22.677	0.049
747	0.005	22.639	22.661	22.733	0.005	22.678	0.049
748	0.005	22.636	22.664	22.733	0.005	22.678	0.050
749	0.005	22.638	22.664	22.733	0.005	22.678	0.049
750	0.005	22.638	22.665	22.733	0.005	22.679	0.049
751	0.005	22.641	22.654	22.733	0.005	22.676	0.050
752	0.005	22.639	22.656	22.733	0.005	22.676	0.050
753	0.005	22.636	22.656	22.733	0.005	22.675	0.051
754	0.005	22.638	22.658	22.733	0.005	22.676	0.050
755	0.005	22.637	22.660	22.733	0.005	22.677	0.050
756	0.005	22.636	22.661	22.733	0.005	22.677	0.050
757	0.005	22.637	22.658	22.733	0.005	22.676	0.050
758	0.005	22.636	22.657	22.733	0.005	22.675	0.051
759	0.005	22.636	22.659	22.733	0.005	22.676	0.051
760	0.005	22.634	22.654	22.733	0.005	22.674	0.052
761	0.005	22.635	22.654	22.733	0.005	22.674	0.052
762	0.005	22.636	22.655	22.734	0.005	22.675	0.052
763	0.005	22.639	22.656	22.734	0.005	22.676	0.051
764	0.005	22.637	22.657	22.734	0.005	22.676	0.051
765	0.005	22.637	22.654	22.734	0.005	22.675	0.052
766	0.005	22.638	22.652	22.734	0.005	22.675	0.052
767	0.005	22.640	22.657	22.734	0.005	22.677	0.050
768	0.005	22.639	22.654	22.735	0.005	22.676	0.052
769	0.005	22.639	22.654	22.735	0.005	22.676	0.052
770	0.005	22.639	22.653	22.735	0.005	22.676	0.052
771	0.005	22.638	22.650	22.735	0.005	22.674	0.053
772	0.005	22.638	22.656	22.735	0.005	22.676	0.052
773	0.005	22.637	22.652	22.735	0.005	22.675	0.053
774	0.005	22.637	22.648	22.735	0.005	22.673	0.054
775	0.005	22.638	22.652	22.735	0.005	22.675	0.052
776	0.005	22.637	22.655	22.735	0.005	22.676	0.052
777	0.005	22.638	22.659	22.735	0.005	22.677	0.051
778	0.005	22.639	22.657	22.735	0.005	22.677	0.051
779	0.005	22.640	22.653	22.736	0.005	22.676	0.052
780	0.005	22.639	22.655	22.736	0.005	22.677	0.052
781	0.005	22.638	22.652	22.736	0.005	22.675	0.053
782	0.005	22.637	22.651	22.736	0.005	22.675	0.054
783	0.005	22.639	22.652	22.736	0.005	22.676	0.053
784	0.005	22.638	22.652	22.736	0.005	22.675	0.053
785	0.005	22.638	22.650	22.736	0.005	22.675	0.053

786	0.005	22.638	22.651	22.737	0.005	22.675	0.054
787	0.005	22.638	22.653	22.737	0.005	22.676	0.053
788	0.005	22.638	22.656	22.737	0.005	22.677	0.053
789	0.005	22.639	22.655	22.737	0.005	22.677	0.053
790	0.005	22.640	22.656	22.737	0.005	22.678	0.052
791	0.005	22.638	22.654	22.737	0.005	22.676	0.053
792	0.005	22.637	22.653	22.737	0.005	22.676	0.054
793	0.005	22.637	22.657	22.738	0.005	22.677	0.053
794	0.005	22.634	22.654	22.738	0.005	22.675	0.055
795	0.005	22.634	22.653	22.738	0.005	22.675	0.055
796	0.005	22.635	22.655	22.738	0.005	22.676	0.055
797	0.005	22.634	22.655	22.738	0.005	22.676	0.055
798	0.005	22.638	22.657	22.738	0.005	22.678	0.053
799	0.005	22.634	22.656	22.738	0.005	22.676	0.055
800	0.005	22.633	22.659	22.738	0.005	22.677	0.055
801	0.005	22.634	22.659	22.738	0.005	22.677	0.054
802	0.005	22.632	22.659	22.738	0.005	22.676	0.055
803	0.005	22.636	22.657	22.738	0.005	22.677	0.054
804	0.005	22.632	22.656	22.738	0.005	22.675	0.056
805	0.005	22.636	22.653	22.738	0.005	22.676	0.055
806	0.005	22.635	22.655	22.738	0.005	22.676	0.055
807	0.005	22.633	22.654	22.738	0.005	22.675	0.056
808	0.005	22.632	22.659	22.738	0.005	22.676	0.055
809	0.005	22.634	22.655	22.739	0.005	22.676	0.056
810	0.005	22.632	22.654	22.739	0.005	22.675	0.057
811	0.005	22.634	22.653	22.739	0.005	22.675	0.056
812	0.005	22.632	22.656	22.739	0.005	22.676	0.056
813	0.005	22.633	22.661	22.739	0.005	22.678	0.055
814	0.005	22.630	22.655	22.739	0.005	22.675	0.057
815	0.005	22.633	22.650	22.739	0.005	22.674	0.057
816	0.005	22.631	22.654	22.739	0.005	22.675	0.057
817	0.005	22.633	22.654	22.739	0.005	22.675	0.056
818	0.005	22.634	22.654	22.739	0.005	22.676	0.056
819	0.005	22.632	22.656	22.740	0.005	22.676	0.057
820	0.005	22.636	22.657	22.740	0.005	22.678	0.055
821	0.005	22.635	22.656	22.740	0.005	22.677	0.056
822	0.005	22.634	22.653	22.740	0.005	22.676	0.057
823	0.005	22.633	22.655	22.740	0.005	22.676	0.057
824	0.005	22.634	22.654	22.740	0.005	22.676	0.056
825	0.005	22.631	22.654	22.740	0.005	22.675	0.057
826	0.005	22.632	22.656	22.740	0.005	22.676	0.057

827	0.005	22.633	22.653	22.740	0.005	22.675	0.057
828	0.005	22.635	22.655	22.740	0.005	22.677	0.056
829	0.005	22.633	22.650	22.740	0.005	22.674	0.058
830	0.005	22.635	22.654	22.741	0.005	22.677	0.057
831	0.005	22.634	22.654	22.741	0.005	22.676	0.057
832	0.005	22.635	22.655	22.741	0.005	22.677	0.056
833	0.005	22.633	22.656	22.741	0.005	22.677	0.057
834	0.005	22.632	22.652	22.741	0.005	22.675	0.058
835	0.005	22.632	22.655	22.741	0.005	22.676	0.057
836	0.005	22.633	22.654	22.741	0.005	22.676	0.057
837	0.005	22.636	22.656	22.741	0.005	22.678	0.056
838	0.005	22.632	22.656	22.741	0.005	22.676	0.057
839	0.005	22.633	22.654	22.741	0.005	22.676	0.057
840	0.005	22.634	22.657	22.741	0.005	22.677	0.056
841	0.005	22.631	22.655	22.741	0.005	22.676	0.058
842	0.005	22.634	22.652	22.741	0.005	22.676	0.057
843	0.005	22.633	22.653	22.741	0.005	22.676	0.057
844	0.005	22.633	22.657	22.741	0.005	22.677	0.057
845	0.005	22.634	22.652	22.741	0.005	22.676	0.057
846	0.005	22.634	22.655	22.741	0.005	22.677	0.057
847	0.005	22.631	22.656	22.741	0.005	22.676	0.058
848	0.005	22.634	22.652	22.742	0.005	22.676	0.058
849	0.005	22.632	22.653	22.742	0.005	22.676	0.058
850	0.005	22.636	22.652	22.742	0.005	22.677	0.057
851	0.005	22.633	22.650	22.742	0.005	22.675	0.059
852	0.005	22.635	22.647	22.742	0.005	22.675	0.059
853	0.005	22.629	22.650	22.742	0.005	22.674	0.060
854	0.005	22.631	22.656	22.742	0.005	22.676	0.058
855	0.005	22.629	22.650	22.742	0.005	22.674	0.060
856	0.005	22.630	22.649	22.742	0.005	22.674	0.060
857	0.005	22.628	22.650	22.742	0.005	22.673	0.060
858	0.005	22.630	22.654	22.742	0.005	22.675	0.059
859	0.005	22.629	22.652	22.742	0.005	22.674	0.060
860	0.005	22.631	22.652	22.742	0.005	22.675	0.059
861	0.005	22.630	22.645	22.742	0.005	22.672	0.061
862	0.005	22.631	22.647	22.742	0.005	22.673	0.060
863	0.005	22.633	22.648	22.742	0.005	22.674	0.059
864	0.005	22.632	22.643	22.742	0.005	22.672	0.061
865	0.005	22.634	22.648	22.743	0.005	22.675	0.059
866	0.005	22.635	22.649	22.743	0.005	22.676	0.059
867	0.005	22.633	22.647	22.743	0.005	22.674	0.060

868	0.005	22.635	22.648	22.743	0.005	22.675	0.059
869	0.005	22.635	22.644	22.743	0.005	22.674	0.060
870	0.005	22.633	22.646	22.743	0.005	22.674	0.060
871	0.005	22.633	22.645	22.743	0.005	22.674	0.060
872	0.005	22.634	22.645	22.743	0.005	22.674	0.060
873	0.005	22.637	22.642	22.743	0.005	22.674	0.060
874	0.005	22.634	22.648	22.743	0.005	22.675	0.059
875	0.005	22.637	22.646	22.743	0.005	22.675	0.059
876	0.005	22.636	22.643	22.743	0.005	22.674	0.060
877	0.005	22.637	22.644	22.743	0.005	22.675	0.059
878	0.005	22.639	22.646	22.743	0.005	22.676	0.058
879	0.005	22.638	22.644	22.743	0.005	22.675	0.059
880	0.005	22.637	22.643	22.743	0.005	22.674	0.060
881	0.005	22.636	22.642	22.743	0.005	22.674	0.060
882	0.005	22.637	22.645	22.743	0.005	22.675	0.059
883	0.005	22.637	22.642	22.743	0.005	22.674	0.060
884	0.005	22.639	22.644	22.743	0.005	22.675	0.059
885	0.005	22.639	22.644	22.743	0.005	22.675	0.059
886	0.005	22.636	22.647	22.744	0.005	22.676	0.059
887	0.005	22.638	22.645	22.744	0.005	22.676	0.059
888	0.005	22.635	22.639	22.744	0.005	22.673	0.062
889	0.005	22.633	22.643	22.744	0.005	22.673	0.061
890	0.005	22.635	22.644	22.744	0.005	22.674	0.061
891	0.005	22.633	22.641	22.744	0.005	22.673	0.062
892	0.005	22.636	22.639	22.744	0.005	22.673	0.062
893	0.005	22.637	22.644	22.744	0.005	22.675	0.060
894	0.005	22.636	22.641	22.744	0.005	22.674	0.061
895	0.005	22.633	22.637	22.744	0.005	22.671	0.063
896	0.005	22.634	22.641	22.744	0.005	22.673	0.062
897	0.005	22.636	22.636	22.744	0.005	22.672	0.062
898	0.005	22.638	22.638	22.744	0.005	22.673	0.061
899	0.005	22.638	22.641	22.744	0.005	22.674	0.060
900	0.005	22.637	22.641	22.744	0.005	22.674	0.061
901	0.005	22.642	22.640	22.744	0.005	22.675	0.059
902	0.005	22.641	22.646	22.744	0.005	22.677	0.058
903	0.005	22.639	22.642	22.744	0.005	22.675	0.060
904	0.005	22.639	22.641	22.744	0.005	22.675	0.060
905	0.005	22.638	22.636	22.744	0.005	22.673	0.062
906	0.005	22.638	22.641	22.745	0.005	22.675	0.061
907	0.005	22.638	22.640	22.745	0.005	22.674	0.061
908	0.005	22.640	22.639	22.745	0.005	22.675	0.061

909	0.005	22.640	22.638	22.745	0.005	22.674	0.061
910	0.005	22.642	22.638	22.745	0.005	22.675	0.061
911	0.005	22.641	22.634	22.745	0.005	22.673	0.062
912	0.005	22.640	22.637	22.745	0.005	22.674	0.062
913	0.005	22.637	22.639	22.745	0.005	22.674	0.062
914	0.005	22.637	22.641	22.745	0.005	22.674	0.061
915	0.005	22.639	22.640	22.745	0.005	22.675	0.061
916	0.005	22.635	22.644	22.745	0.005	22.675	0.061
917	0.005	22.635	22.639	22.745	0.005	22.673	0.062
918	0.005	22.634	22.642	22.745	0.005	22.674	0.062
919	0.005	22.638	22.637	22.745	0.005	22.673	0.062
920	0.005	22.639	22.639	22.745	0.005	22.674	0.061
921	0.005	22.637	22.639	22.745	0.005	22.674	0.062
922	0.005	22.637	22.642	22.745	0.005	22.675	0.061
923	0.005	22.638	22.637	22.745	0.005	22.673	0.062
924	0.005	22.637	22.636	22.745	0.005	22.673	0.063
925	0.005	22.635	22.634	22.745	0.005	22.671	0.064
926	0.005	22.634	22.638	22.745	0.005	22.672	0.063
927	0.005	22.632	22.634	22.745	0.005	22.670	0.065
928	0.005	22.633	22.636	22.745	0.005	22.671	0.064
929	0.005	22.631	22.639	22.745	0.005	22.672	0.064
930	0.005	22.633	22.642	22.745	0.005	22.673	0.062
931	0.005	22.635	22.637	22.745	0.005	22.672	0.063
932	0.005	22.635	22.634	22.745	0.005	22.671	0.064
933	0.005	22.634	22.638	22.745	0.005	22.672	0.063
934	0.005	22.631	22.634	22.746	0.005	22.670	0.066
935	0.005	22.635	22.629	22.746	0.005	22.670	0.066
936	0.005	22.639	22.633	22.746	0.005	22.673	0.064
937	0.005	22.636	22.631	22.746	0.005	22.671	0.065
938	0.005	22.638	22.634	22.746	0.005	22.673	0.064
939	0.005	22.635	22.633	22.746	0.005	22.671	0.065
940	0.005	22.638	22.629	22.746	0.005	22.671	0.065
941	0.005	22.638	22.637	22.746	0.005	22.674	0.063
942	0.005	22.637	22.630	22.746	0.005	22.671	0.065
943	0.005	22.637	22.630	22.746	0.005	22.671	0.065
944	0.005	22.636	22.632	22.746	0.005	22.671	0.065
945	0.005	22.636	22.631	22.746	0.005	22.671	0.065
946	0.005	22.637	22.634	22.746	0.005	22.672	0.064
947	0.005	22.634	22.632	22.746	0.005	22.671	0.065
948	0.005	22.637	22.631	22.746	0.005	22.671	0.065
949	0.005	22.637	22.634	22.746	0.005	22.672	0.064

950	0.005	22.634	22.636	22.746	0.005	22.672	0.064
951	0.005	22.636	22.633	22.746	0.005	22.672	0.064
952	0.005	22.637	22.634	22.746	0.005	22.672	0.064
953	0.005	22.636	22.633	22.746	0.005	22.672	0.064
954	0.005	22.636	22.635	22.746	0.005	22.672	0.064
955	0.005	22.637	22.634	22.746	0.005	22.672	0.064
956	0.005	22.636	22.635	22.746	0.005	22.672	0.064
957	0.005	22.635	22.632	22.746	0.005	22.671	0.065
958	0.005	22.636	22.638	22.746	0.005	22.673	0.063
959	0.005	22.635	22.636	22.746	0.005	22.672	0.064
960	0.005	22.636	22.637	22.747	0.005	22.673	0.064
961	0.005	22.635	22.638	22.747	0.005	22.673	0.064
962	0.005	22.634	22.634	22.747	0.005	22.672	0.065
963	0.005	22.637	22.637	22.747	0.005	22.674	0.064
964	0.005	22.636	22.635	22.747	0.005	22.673	0.064
965	0.005	22.636	22.636	22.747	0.005	22.673	0.064
966	0.005	22.636	22.638	22.747	0.005	22.674	0.064
967	0.005	22.636	22.635	22.747	0.005	22.673	0.064
968	0.005	22.636	22.637	22.747	0.005	22.673	0.064
969	0.005	22.636	22.636	22.747	0.005	22.673	0.064
970	0.005	22.639	22.639	22.747	0.005	22.675	0.062
971	0.005	22.635	22.636	22.747	0.005	22.673	0.064
972	0.005	22.637	22.641	22.747	0.005	22.675	0.062
973	0.005	22.636	22.640	22.747	0.005	22.674	0.063
974	0.005	22.637	22.638	22.747	0.005	22.674	0.063
975	0.005	22.637	22.639	22.747	0.005	22.674	0.063
976	0.005	22.636	22.637	22.748	0.005	22.674	0.064
977	0.005	22.636	22.639	22.748	0.005	22.674	0.064
978	0.005	22.636	22.642	22.748	0.005	22.675	0.063
979	0.005	22.635	22.637	22.748	0.005	22.673	0.065
980	0.005	22.636	22.643	22.748	0.005	22.676	0.063
981	0.005	22.635	22.643	22.748	0.005	22.675	0.063
982	0.005	22.632	22.643	22.748	0.005	22.674	0.064
983	0.005	22.631	22.648	22.748	0.005	22.676	0.063
984	0.005	22.629	22.641	22.748	0.005	22.673	0.066
985	0.005	22.633	22.641	22.748	0.005	22.674	0.064
986	0.005	22.634	22.643	22.748	0.005	22.675	0.063
987	0.005	22.636	22.645	22.748	0.005	22.676	0.062
988	0.005	22.632	22.646	22.748	0.005	22.675	0.063
989	0.005	22.634	22.645	22.748	0.005	22.676	0.063
990	0.005	22.635	22.646	22.748	0.005	22.676	0.062

991	0.005	22.632	22.651	22.749	0.005	22.677	0.063
992	0.005	22.633	22.648	22.749	0.005	22.677	0.063
993	0.005	22.635	22.649	22.749	0.005	22.678	0.062
994	0.005	22.633	22.653	22.749	0.005	22.678	0.062
995	0.005	22.631	22.652	22.750	0.005	22.678	0.064
996	0.005	22.632	22.655	22.750	0.005	22.679	0.063
997	0.005	22.631	22.656	22.750	0.005	22.679	0.063
998	0.005	22.633	22.656	22.750	0.005	22.680	0.062
999	0.005	22.634	22.655	22.750	0.005	22.680	0.062
1000	0.005	22.633	22.661	22.752	0.005	22.682	0.062

D. Hasil Karakterisasi Temperatur (C) terhadap Waktu (s)

Data statistik karakterisasi temperature terhadap waktu

Waktu (s)	Error Stopwatch	Suhu (°C)			Error Multimeter Suhu	Rata- rata Suhu (C)	Std Pengukuran (±)
		T1	T2	T3			
301	0.005	34	31.3	32.9	0.005	32.733	1.358
302	0.005	33.2	31.4	32.9	0.005	32.500	0.964
303	0.005	33.1	31.4	32.3	0.005	32.267	0.850
304	0.005	32.9	31.4	31.1	0.005	31.800	0.964
305	0.005	32.7	31.4	30.8	0.005	31.633	0.971
306	0.005	32.6	31.4	30.9	0.005	31.633	0.874
307	0.005	32.5	31.4	31.1	0.005	31.667	0.737
308	0.005	32.5	31.4	31	0.005	31.633	0.777
309	0.005	32.5	31.5	31.1	0.005	31.700	0.721
310	0.005	32.5	31.6	31.2	0.005	31.767	0.666
311	0.005	32.5	31.7	31.3	0.005	31.833	0.611
312	0.005	32.5	31.6	31.3	0.005	31.800	0.624
313	0.005	32.5	31.6	31.4	0.005	31.833	0.586
314	0.005	32.6	31.7	31.4	0.005	31.900	0.624
315	0.005	32.7	31.8	31.4	0.005	31.967	0.666
316	0.005	32.6	31.9	31.5	0.005	32.000	0.557
317	0.005	32.5	31.8	31.6	0.005	31.967	0.473
318	0.005	32.5	31.8	31.5	0.005	31.933	0.513
319	0.005	32.5	31.9	31.5	0.005	31.967	0.503
320	0.005	32.5	31.8	31.6	0.005	31.967	0.473
321	0.005	32.5	31.8	31.6	0.005	31.967	0.473
322	0.005	32.6	31.9	31.6	0.005	32.033	0.513
323	0.005	32.6	31.9	31.6	0.005	32.033	0.513
324	0.005	32.6	31.9	31.3	0.005	31.933	0.651

325	0.005	32.6	32	31.3	0.005	31.967	0.651
326	0.005	32.7	32	31.3	0.005	32.000	0.700
327	0.005	32.6	32	31.4	0.005	32.000	0.600
328	0.005	32.6	32	31.3	0.005	31.967	0.651
329	0.005	32.6	32	31.4	0.005	32.000	0.600
330	0.005	32.6	32.1	31.6	0.005	32.100	0.500
331	0.005	32.5	32	31.7	0.005	32.067	0.404
332	0.005	32.5	31.9	31.7	0.005	32.033	0.416
333	0.005	32.6	31.9	31.8	0.005	32.100	0.436
334	0.005	32.6	32	31.8	0.005	32.133	0.416
335	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
336	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
337	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
338	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
339	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
340	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
341	0.005	32.6	32	31.8	0.005	32.133	0.416
342	0.005	32.5	32	31.8	0.005	32.100	0.361
343	0.005	32.5	32	31.8	0.005	32.100	0.361
344	0.005	32.5	32	31.8	0.005	32.100	0.361
345	0.005	32.5	32	31.8	0.005	32.100	0.361
346	0.005	32.5	32.1	31.8	0.005	32.133	0.351
347	0.005	32.4	32	31.8	0.005	32.067	0.306
348	0.005	32.5	32	31.8	0.005	32.100	0.361
349	0.005	32.6	32.1	31.7	0.005	32.133	0.451
350	0.005	32.7	32.1	31.7	0.005	32.167	0.503
351	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
352	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
353	0.005	32.6	32.1	31.9	0.005	32.200	0.361
354	0.005	32.5	32.1	31.9	0.005	32.167	0.306
355	0.005	32.5	32.1	31.9	0.005	32.167	0.306
356	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
357	0.005	32.6	32.1	31.8	0.005	32.167	0.404
358	0.005	32.6	32.1	31.9	0.005	32.200	0.361
359	0.005	32.6	32.1	31.7	0.005	32.133	0.451
360	0.005	32.6	32.1	31.5	0.005	32.067	0.551
361	0.005	32.5	32.1	32.2	0.005	32.267	0.208
362	0.005	32.6	32.1	32.1	0.005	32.267	0.289
363	0.005	32.6	32.1	32	0.005	32.233	0.321
364	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
365	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252

366	0.005	32.5	32.1	32	0.005	32.200	0.265
367	0.005	32.5	32.1	32	0.005	32.200	0.265
368	0.005	32.5	32.1	32	0.005	32.200	0.265
369	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
370	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
371	0.005	32.5	32.2	31.9	0.005	32.200	0.300
372	0.005	32.5	32.2	31.9	0.005	32.200	0.300
373	0.005	32.5	32.2	31.9	0.005	32.200	0.300
374	0.005	32.5	32.1	31.9	0.005	32.167	0.306
375	0.005	32.5	32.2	31	0.005	31.900	0.794
376	0.005	32.6	32.2	31	0.005	31.933	0.833
377	0.005	32.5	32.1	31	0.005	31.867	0.777
378	0.005	32.6	32.2	31	0.005	31.933	0.833
379	0.005	32.6	32.2	31	0.005	31.933	0.833
380	0.005	32.6	32.2	31	0.005	31.933	0.833
381	0.005	32.6	32.2	31	0.005	31.933	0.833
382	0.005	32.6	32.2	31	0.005	31.933	0.833
383	0.005	32.6	32.1	31.9	0.005	32.200	0.361
384	0.005	32.5	32.1	31.7	0.005	32.100	0.400
385	0.005	32.5	32.1	31.6	0.005	32.067	0.451
386	0.005	32.5	32.2	31.7	0.005	32.133	0.404
387	0.005	32.5	32.2	31.8	0.005	32.167	0.351
388	0.005	32.5	32.2	31.9	0.005	32.200	0.300
389	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
390	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
391	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
392	0.005	32.5	32.3	32	0.005	32.267	0.252
393	0.005	32.5	32.3	32	0.005	32.267	0.252
394	0.005	32.6	32.3	32	0.005	32.300	0.300
395	0.005	32.4	32.2	32	0.005	32.200	0.200
396	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
397	0.005	32.4	32.2	32	0.005	32.200	0.200
398	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
399	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
400	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
401	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
402	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
403	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
404	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
405	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
406	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252

407	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
408	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
409	0.005	32.5	32.2	31.9	0.005	32.200	0.300
410	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
411	0.005	32.6	32.2	32.5	0.005	32.433	0.208
412	0.005	32.6	32.2	32.7	0.005	32.500	0.265
413	0.005	32.6	32.2	32.2	0.005	32.333	0.231
414	0.005	32.6	32.2	31.7	0.005	32.167	0.451
415	0.005	32.6	32.2	31.7	0.005	32.167	0.451
416	0.005	32.6	32.2	31.9	0.005	32.233	0.351
417	0.005	32.6	32.2	31.9	0.005	32.233	0.351
418	0.005	32.6	32.2	31.9	0.005	32.233	0.351
419	0.005	32.6	32.2	31.9	0.005	32.233	0.351
420	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
421	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
422	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
423	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
424	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
425	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
426	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
427	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
428	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
429	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
430	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
431	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
432	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
433	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
434	0.005	31.5	32.2	32	0.005	31.900	0.361
435	0.005	31.9	32.2	32	0.005	32.033	0.153
436	0.005	32.7	32.2	32	0.005	32.300	0.361
437	0.005	32.8	32.2	32	0.005	32.333	0.416
438	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
439	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
440	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
441	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
442	0.005	32.4	32.2	32.1	0.005	32.233	0.153
443	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
444	0.005	32.5	32.2	31.9	0.005	32.200	0.300
445	0.005	32.5	32.2	31.8	0.005	32.167	0.351
446	0.005	32.5	32.2	31.9	0.005	32.200	0.300
447	0.005	32.5	32.2	31.9	0.005	32.200	0.300

448	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
449	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
450	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
451	0.005	32.3	32.2	32	0.005	32.167	0.153
452	0.005	32.4	32.2	32	0.005	32.200	0.200
453	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
454	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
455	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
456	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
457	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
458	0.005	32.6	32.2	32.1	0.005	32.300	0.265
459	0.005	32.7	32.2	32.1	0.005	32.333	0.321
460	0.005	32.8	32.2	32.1	0.005	32.367	0.379
461	0.005	32.8	32.1	32.1	0.005	32.333	0.404
462	0.005	32.7	32.2	32.1	0.005	32.333	0.321
463	0.005	32.6	32.3	32	0.005	32.300	0.300
464	0.005	32.5	32.3	31.9	0.005	32.233	0.306
465	0.005	32.4	32.3	31.9	0.005	32.200	0.265
466	0.005	32.3	32.3	32	0.005	32.200	0.173
467	0.005	32.3	32.1	32	0.005	32.133	0.153
468	0.005	32.5	32.1	32.1	0.005	32.233	0.231
469	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
470	0.005	32.7	32.3	32	0.005	32.333	0.351
471	0.005	32.6	32.2	32.1	0.005	32.300	0.265
472	0.005	32.7	32.2	32	0.005	32.300	0.361
473	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
474	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
475	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
476	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
477	0.005	32.6	32.2	32.1	0.005	32.300	0.265
478	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
479	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
480	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
481	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
482	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
483	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
484	0.005	32.5	32.1	32.1	0.005	32.233	0.231
485	0.005	32.5	32.1	32	0.005	32.200	0.265
486	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
487	0.005	32.5	32.3	32.1	0.005	32.300	0.200
488	0.005	32.6	32.4	32	0.005	32.333	0.306

489	0.005	32.5	32.3	32.1	0.005	32.300	0.200
490	0.005	32.5	32.3	32.1	0.005	32.300	0.200
491	0.005	32.5	32.3	32.1	0.005	32.300	0.200
492	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
493	0.005	32.6	32.2	32.1	0.005	32.300	0.265
494	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
495	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
496	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
497	0.005	32.5	32.2	32.2	0.005	32.300	0.173
498	0.005	32.5	32.2	32.3	0.005	32.333	0.153
499	0.005	32.5	32.2	32.2	0.005	32.300	0.173
500	0.005	32.5	32.2	31.9	0.005	32.200	0.300
501	0.005	32.5	32.3	31.9	0.005	32.233	0.306
502	0.005	32.5	32.3	32	0.005	32.267	0.252
503	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
504	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
505	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
506	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
507	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
508	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
509	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
510	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
511	0.005	32.6	32.2	32.1	0.005	32.300	0.265
512	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
513	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
514	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
515	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
516	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
517	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
518	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
519	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
520	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
521	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
522	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
523	0.005	32.6	32.2	32	0.005	32.267	0.306
524	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
525	0.005	32.5	32.3	32	0.005	32.267	0.252
526	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
527	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
528	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
529	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208

530	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
531	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
532	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
533	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
534	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
535	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
536	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
537	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252
538	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
539	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
540	0.005	32.6	32.2	32.1	0.005	32.300	0.265
541	0.005	32.6	32.2	32.1	0.005	32.300	0.265
542	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
543	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
544	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
545	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
546	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
547	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
548	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
549	0.005	32.5	32.2	32.1	0.005	32.267	0.208
550	0.005	32.5	32.2	32	0.005	32.233	0.252

E. Hasil Karakterisasi Diameter Berkas Laser

Data statistik karakterisasi diameter berkas laser

Jarak (cm)	Error	Diameter Berkas (cm)		Luas berkas (cm ²)	Rata-rata (cm ²)	SD
		d _x	d _y			
0,00	0,05	0,40	0,40	0,13	0,13	0,00
		0,40	0,40	0,13		
		0,40	0,40	0,13		
0,50	0,05	0,30	0,40	0,09	0,14	0,04
		0,40	0,50	0,16		
		0,40	0,50	0,16		
1,00	0,05	0,50	0,50	0,20	0,20	0,00
		0,50	0,50	0,20		
		0,50	0,50	0,20		
1,50	0,05	0,50	0,50	0,20	0,21	0,02
		0,50	0,50	0,20		
		0,50	0,60	0,24		
2,00	0,05	0,50	0,60	0,24	0,22	0,02

		0,50	0,60	0,24		
		0,50	0,50	0,20		
2,50	0,05	0,50	0,50	0,20	0,24	0,04
		0,50	0,60	0,24		
		0,60	0,60	0,28		
3,00	0,05	0,60	0,50	0,24	0,25	0,03
		0,50	0,60	0,24		
		0,60	0,60	0,28		
3,50	0,05	0,50	0,60	0,24	0,27	0,05
		0,50	0,60	0,24		
		0,60	0,70	0,33		
4,00	0,05	0,60	0,60	0,28	0,28	0,00
		0,60	0,60	0,28		
		0,60	0,60	0,28		
4,50	0,05	0,60	0,60	0,28	0,31	0,03
		0,60	0,70	0,33		
		0,70	0,60	0,33		
5,00	0,05	0,70	0,70	0,38	0,35	0,03
		0,60	0,70	0,33		
		0,70	0,60	0,33		

Analisis perhitungan :

$$\begin{aligned}
 d_x(z) &= dx_0 \left[1 + \left(\frac{4\lambda}{\pi dx_0^2} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
 &= \left[dx_0^2 + \left(\frac{4\lambda dx_0}{\pi dx_0^2} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
 &= \left[dx_0^2 + \left(\frac{4\lambda}{\pi dx_0} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
 &= \left[0,50^2 + \left(\frac{4(398,81 \times 10^{-7})}{3,14 \times 0,50} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
 &= \left[0,50^2 + \left(\frac{1595,24 \times 10^{-7}}{1,57} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
 &= [0,50^2 + (1016,08 \times 10^{-7})^2]^{\frac{1}{2}} \\
 &= [0,50^2]^{\frac{1}{2}} \\
 &= 0,50 \text{ cm}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \Delta dx(z) &= \left| \frac{\partial dx(z)}{\partial dx_0} \right| |\Delta dx_0| \\
 &= |1 - (4\lambda \pi^{-1} dx_0^{-2})| |\Delta dx_0| \\
 &= |1 - (4(403 \\
 &\quad \times 10^{-7})(3,14)^{-1}(0,50)^{-2})| |0,01| \\
 &= |1 - ((1612 \times 10^{-7})(0,785^{-1}))| |0,01| \\
 &= |0,99| |0,01| = 0,01
 \end{aligned}$$

$$d_x(z) \pm \Delta dx(z) = (0,50 \pm 0,01) \text{ cm}$$

$$\begin{aligned}
d_y(z) &= dy_0 \left[1 + \left(\frac{4\lambda}{\pi dy_0^2} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
&= \left[dy_0^2 + \left(\frac{4\lambda dy_0}{\pi dy_0^2} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
&= \left[dy_0^2 + \left(\frac{4\lambda}{\pi dy_0} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
&= \left[0,50^2 + \left(\frac{4(398,81 \times 10^{-7})}{3,14 \times 0,50} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
&= \left[0,40^2 + \left(\frac{1595,24 \times 10^{-7}}{1,57} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\
&= [0,40^2 + (1016,08 \times 10^{-7})^2]^{\frac{1}{2}} \\
&= [0,50^2]^{\frac{1}{2}} \\
&= 0,50 \text{ cm}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\Delta dy(z) &= \left| \frac{\partial dy(z)}{\partial dy_0} \right| |\Delta dy_0| \\
&= |1 - (4\lambda\pi^{-1} dx_0^{-2})| |\Delta dx_0| \\
&= |1 - (4(403 \\
&\quad \times 10^{-7})(3,14)^{-1}(0,50)^{-2})| |0,01| \\
&= |1 - ((1612 \times 10^{-7})(0,785)^{-1})| |0,01| \\
&= |0,99| |0,01| = 0,01
\end{aligned}$$

$$d_y(z) \pm \Delta dy(z) = (0,50 \pm 0,01) \text{ cm}$$

$$\begin{aligned}
A &= \frac{\pi}{4} dx(z) dy(z) \\
&= \frac{3,14}{4} \times 0,50 \text{ cm} \times 0,50 \text{ cm} \\
&= 0,20 \text{ cm}^2
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\Delta A &= \left| \frac{\partial A}{\partial dx(z)} \right| |\Delta dx(z)| + \left| \frac{\partial A}{\partial dy(z)} \right| |\Delta dy(z)| \\
&= \left| \frac{\pi}{4} dy(z) \right| |\Delta dx(z)| + \left| \frac{\pi}{4} dx(z) \right| |\Delta dy(z)| \\
&= \left| \frac{3,14}{4} (0,50) \right| |0,01| + \left| \frac{3,14}{4} (0,50) \right| |0,01| \\
&= (0,3925)(0,010) + (0,3925)(0,010) \\
&= 0,01
\end{aligned}$$

$$A \pm \Delta A = (0,20 \pm 0,01) \text{ cm}^2$$

F. Hasil Uji Absorbansi Bakteri SA

Data statistik karakterisasi absorbansi

Panjang Gelombang (nm)	Abs	Panjang Gelombang (nm)	Abs	Panjang Gelombang (nm)	Abs
350	0,813	372	0,543	394	0,594
352	1,39	374	0,533	396	0,596
354	0,6	376	0,568	398	0,597
356	0,366	378	0,573	400	0,597
358	0,416	380	0,57	402	0,598
360	0,467	382	0,576	404	0,599
362	0,515	384	0,58	406	0,599
364	0,525	386	0,587	408	0,599
366	0,522	388	0,586	410	0,599
368	0,534	390	0,589	412	0,598
370	0,534	392	0,592	414	0,598

Panjang Gelombang (nm)	Abs
416	0,597
418	0,596
420	0,594
422	0,594
424	0,592
426	0,591
428	0,59
430	0,588
432	0,587
434	0,585
436	0,583
438	0,58
440	0,577
442	0,576
444	0,574
446	0,572
448	0,569
450	0,567
452	0,565
454	0,563
456	0,561
458	0,558

Panjang Gelombang (nm)	Abs
460	0,556
462	0,553
464	0,551
466	0,548
468	0,545
470	0,542
472	0,54
474	0,537
476	0,534
478	0,532
480	0,529
482	0,526
484	0,524
486	0,521
488	0,518
490	0,515
492	0,512
494	0,509
496	0,506
498	0,504
500	0,503
502	0,505
504	0,502

Panjang Gelombang (nm)	Abs
506	0,499
508	0,496
510	0,492
512	0,489
514	0,486
516	0,483
518	0,48
520	0,477
522	0,474
524	0,472
526	0,469
528	0,466
530	0,463
532	0,46
534	0,458
536	0,454
538	0,451
540	0,449
542	0,446
544	0,443
546	0,441
548	0,438
550	0,436

G. Hasil Uji Absorbansi Curcumin (sampel 3)

Data statistik karakterisasi absorbansi

Wavelength	Abs			Rerata	SD
	C1	C2	C3		
350	0,071	0,071	0,071	0,07	0,00
351	0,073	0,071	0,073	0,07	0,00
352	0,076	0,076	0,076	0,08	0,00
353	0,079	0,079	0,076	0,08	0,00
354	0,083	0,083	0,083	0,08	0,00
355	0,086	0,086	0,086	0,09	0,00
356	0,09	0,09	0,09	0,09	0,00
357	0,092	0,09	0,09	0,09	0,00
358	0,095	0,09	0,095	0,09	0,00

359	0,098	0,098	0,098	0,10	0,00
360	0,089	0,089	0,089	0,09	0,00
361	0,092	0,092	0,092	0,09	0,00
362	0,094	0,092	0,094	0,09	0,00
363	0,097	0,092	0,097	0,10	0,00
364	0,099	0,099	0,099	0,10	0,00
365	0,102	0,102	0,102	0,10	0,00
366	0,105	0,105	0,105	0,11	0,00
367	0,108	0,108	0,108	0,11	0,00
368	0,112	0,112	0,112	0,11	0,00
369	0,115	0,112	0,115	0,11	0,00
370	0,119	0,112	0,119	0,12	0,00
371	0,123	0,123	0,123	0,12	0,00
372	0,126	0,126	0,126	0,13	0,00
373	0,13	0,13	0,13	0,13	0,00
374	0,134	0,134	0,134	0,13	0,00
375	0,138	0,138	0,138	0,14	0,00
376	0,142	0,142	0,142	0,14	0,00
377	0,147	0,147	0,147	0,15	0,00
378	0,151	0,151	0,151	0,15	0,00
379	0,155	0,151	0,155	0,15	0,00
380	0,16	0,16	0,16	0,16	0,00
381	0,165	0,165	0,165	0,17	0,00
382	0,17	0,17	0,17	0,17	0,00
383	0,176	0,176	0,176	0,18	0,00
384	0,181	0,181	0,181	0,18	0,00
385	0,187	0,181	0,187	0,19	0,00
386	0,193	0,181	0,193	0,19	0,01
387	0,199	0,199	0,199	0,20	0,00
388	0,205	0,205	0,205	0,21	0,00
389	0,212	0,212	0,212	0,21	0,00
390	0,218	0,218	0,218	0,22	0,00
391	0,225	0,225	0,225	0,23	0,00
392	0,231	0,231	0,231	0,23	0,00
393	0,236	0,231	0,236	0,23	0,00
394	0,242	0,242	0,242	0,24	0,00
395	0,248	0,248	0,248	0,25	0,00
396	0,253	0,253	0,253	0,25	0,00
397	0,258	0,258	0,258	0,26	0,00
398	0,262	0,262	0,262	0,26	0,00
399	0,267	0,267	0,267	0,27	0,00
400	0,272	0,272	0,272	0,27	0,00

401	0,277	0,277	0,277	0,28	0,00
402	0,282	0,282	0,282	0,28	0,00
403	0,288	0,288	0,288	0,29	0,00
404	0,293	0,288	0,293	0,29	0,00
405	0,299	0,299	0,299	0,30	0,00
406	0,305	0,305	0,305	0,31	0,00
407	0,311	0,311	0,311	0,31	0,00
408	0,318	0,318	0,318	0,32	0,00
409	0,324	0,324	0,324	0,32	0,00
410	0,33	0,33	0,33	0,33	0,00
411	0,337	0,337	0,337	0,34	0,00
412	0,343	0,343	0,343	0,34	0,00
413	0,349	0,349	0,349	0,35	0,00
414	0,354	0,354	0,354	0,35	0,00
415	0,358	0,358	0,358	0,36	0,00
416	0,362	0,362	0,362	0,36	0,00
417	0,365	0,365	0,365	0,37	0,00
418	0,366	0,366	0,366	0,37	0,00
419	0,367	0,367	0,367	0,37	0,00
420	0,366	0,366	0,366	0,37	0,00
421	0,365	0,365	0,365	0,37	0,00
422	0,364	0,364	0,364	0,36	0,00
423	0,362	0,362	0,362	0,36	0,00
424	0,36	0,362	0,36	0,36	0,00
425	0,357	0,357	0,357	0,36	0,00
426	0,354	0,354	0,354	0,35	0,00
427	0,352	0,352	0,352	0,35	0,00
428	0,35	0,35	0,35	0,35	0,00
429	0,348	0,348	0,348	0,35	0,00
430	0,347	0,347	0,347	0,35	0,00
431	0,345	0,345	0,345	0,35	0,00
432	0,344	0,344	0,344	0,34	0,00
433	0,343	0,343	0,343	0,34	0,00
434	0,342	0,342	0,342	0,34	0,00
435	0,342	0,342	0,342	0,34	0,00
436	0,341	0,341	0,341	0,34	0,00
437	0,339	0,339	0,339	0,34	0,00
438	0,337	0,337	0,337	0,34	0,00
439	0,334	0,334	0,334	0,33	0,00
440	0,331	0,331	0,331	0,33	0,00
441	0,327	0,331	0,327	0,33	0,00
442	0,321	0,321	0,321	0,32	0,00

443	0,314	0,314	0,314	0,31	0,00
444	0,308	0,308	0,308	0,31	0,00
445	0,3	0,3	0,3	0,30	0,00
446	0,29	0,29	0,29	0,29	0,00
447	0,281	0,281	0,281	0,28	0,00
448	0,269	0,281	0,269	0,27	0,01
449	0,258	0,258	0,258	0,26	0,00
450	0,249	0,249	0,249	0,25	0,00
451	0,238	0,238	0,238	0,24	0,00
452	0,226	0,226	0,226	0,23	0,00
453	0,216	0,216	0,216	0,22	0,00
454	0,205	0,205	0,205	0,21	0,00
455	0,195	0,195	0,195	0,20	0,00
456	0,186	0,186	0,186	0,19	0,00
457	0,176	0,176	0,186	0,18	0,01
458	0,167	0,167	0,167	0,17	0,00
459	0,158	0,158	0,158	0,16	0,00
460	0,149	0,149	0,149	0,15	0,00
461	0,14	0,14	0,14	0,14	0,00
462	0,133	0,133	0,133	0,13	0,00
463	0,124	0,124	0,124	0,12	0,00
464	0,117	0,117	0,117	0,12	0,00
465	0,109	0,109	0,109	0,11	0,00
466	0,102	0,102	0,102	0,10	0,00
467	0,096	0,096	0,096	0,10	0,00
468	0,088	0,088	0,088	0,09	0,00
469	0,082	0,082	0,082	0,08	0,00
470	0,076	0,076	0,076	0,08	0,00
471	0,069	0,069	0,069	0,07	0,00
472	0,063	0,063	0,063	0,06	0,00
473	0,058	0,058	0,058	0,06	0,00
474	0,053	0,053	0,053	0,05	0,00
475	0,048	0,048	0,048	0,05	0,00
476	0,044	0,044	0,048	0,05	0,00
477	0,039	0,039	0,039	0,04	0,00
478	0,035	0,035	0,035	0,04	0,00
479	0,031	0,031	0,031	0,03	0,00
480	0,027	0,027	0,027	0,03	0,00
481	0,024	0,024	0,024	0,02	0,00
482	0,021	0,021	0,021	0,02	0,00
483	0,018	0,018	0,018	0,02	0,00
484	0,015	0,015	0,015	0,02	0,00

485	0,013	0,013	0,013	0,01	0,00
486	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
487	0,008	0,008	0,008	0,01	0,00
488	0,006	0,006	0,006	0,01	0,00
489	0,004	0,004	0,004	0,00	0,00
490	0,003	0,003	0,003	0,00	0,00
491	0,001	0,001	0,003	0,00	0,00
492	0	0	0	0,00	0,00
493	-0,001	-0,001	-0,001	0,00	0,00
494	-0,002	-0,002	-0,002	0,00	0,00
495	-0,003	-0,003	-0,003	0,00	0,00
496	-0,004	-0,004	-0,004	0,00	0,00
497	-0,005	-0,005	-0,004	0,00	0,00
498	-0,005	-0,005	-0,005	-0,01	0,00
499	-0,006	-0,006	-0,006	-0,01	0,00
500	-0,009	-0,009	-0,009	-0,01	0,00

H. Hasil Perlakuan

Data perlakuan

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
Control +	2,769	2,58	0,37	73,96	67,56	12,36
	2,784			74,45		
	2,769			73,96		
	2,729			72,64		
	2,765			73,83		
	2,74			73,00		
	2,002			48,65		
	2,967			80,49		
	2,387			61,35		
	1,84			43,30		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
Control -	0,159	0,18	0,05	-12,17	-11,40	1,56
	0,159			-12,17		
	0,141			-12,77		
	0,166			-11,94		
	0,164			-12,01		
	0,133			-13,03		
	0,259			-8,87		
	0,18			-11,48		

	0,273			-8,41		
	0,191			-11,12		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
Cur	1,47	1,46	0,13	31,16	30,75	4,16
	1,47			30,93		
	1,56			33,99		
	1,55			33,76		
	1,51			32,46		
	1,433			29,87		
	1,419			29,41		
	1,153			20,63		
	1,615			35,88		
	1,419			29,41		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
Ozpen1	1,853	1,66	0,33	43,73	37,44	11,00
	2,148			53,46		
	1,794			41,78		
	1,59			35,05		
	2,109			52,18		
	1,595			35,22		
	1,422			29,51		
	1,465			30,93		
	1,619			36,01		
	1,028			16,50		
Ozpen2	2,055	2,03	0,72	50,40	49,50	23,85
	3,103			84,98		
	2,478			64,35		
	2,493			64,85		
	2,454			63,56		
	1,84			43,30		
	0,984			15,05		
	2,566			67,26		
	1,168			21,12		
	1,138			20,13		
Ozpen3	2,063	2,08	0,53	50,66	51,22	17,42
	2,285			57,99		
	2,175			54,36		
	2,822			75,71		
	1,629			36,34		

	2,321			59,17		
	1,825			42,81		
	0,902			12,35		
	2,396			61,65		
	2,381			61,15		
Ozpen4	2,423	2,22	0,33	62,54	55,95	10,94
	2,625			69,21		
	2,02			49,24		
	1,741			40,03		
	2,629			69,34		
	2,315			58,98		
	1,797			41,88		
	1,903			45,38		
	2,398			61,71		
	2,383			61,22		
Ozpen5	1,867	2,28	0,23	44,19	57,81	7,70
	2,075			51,06		
	2,135			53,04		
	2,502			65,15		
	2,699			71,65		
	2,45			63,43		
	2,286			58,02		
	2,278			57,75		
	2,276			57,69		
	2,23			56,17		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
Ozpex1	1,17	1,31	0,11	21,29	25,82	3,68
	1,34			26,64		
	1,22			22,94		
	1,52			32,71		
	1,274			24,62		
	1,46			30,76		
	1,36			27,46		
	1,262			24,23		
	1,301			25,51		
	1,197			22,08		
Ozpex2	2,42	1,40	0,40	62,54	28,68	13,04
	1,65			37,00		
	1,02			16,11		
	1,41			29,24		
	1,224			22,97		

	1,269			24,46		
	1,266			24,36		
	1,222			22,91		
	1,204			22,31		
	1,282			24,89		
Ozpex3	0,97	0,99	0,14	14,49	15,33	4,53
	1,15			20,53		
	0,87			11,16		
	1,08			18,35		
	1,286			25,02		
	0,912			12,68		
	0,964			14,39		
	0,897			12,18		
	0,907			12,51		
	0,892			12,02		
Ozpex4	1,44	1,33	0,20	30,10	26,46	6,64
	1,19			21,75		
	1,56			34,06		
	1,19			21,85		
	1,61			35,71		
	1,401			28,81		
	0,912			12,68		
	1,327			26,37		
	1,308			25,74		
	1,363			27,56		
Ozpex5	1,38	1,31	0,17	28,09	25,95	5,74
	1,62			36,17		
	1,25			23,73		
	1,44			30,00		
	1,303			25,58		
	0,931			13,30		
	1,342			26,87		
	1,287			25,05		
	1,338			26,73		
	1,254			23,96		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
Lpen1	0,58	0,66	0,08	1,72	4,24	2,74
	0,572			1,46		
	0,595			2,22		
	0,744			7,13		
	0,614			2,84		

	0,61			2,71		
	0,701			5,71		
	0,812			9,38		
	0,727			6,57		
	0,608			2,64		
Lpen2	1,93	1,45	0,31	46,20	30,48	10,17
	2,02			49,08		
	1,22			22,74		
	1,30			25,45		
	1,193			21,95		
	1,5			32,08		
	1,167			21,09		
	1,503			32,18		
	1,178			21,45		
	1,514			32,54		
Lpen3	1,01	1,30	0,15	15,75	25,56	5,09
	1,21			22,54		
	1,10			18,98		
	1,33			26,40		
	1,342			26,87		
	1,311			25,84		
	1,465			30,93		
	1,35			27,13		
	1,452			30,50		
	1,457			30,66		
Lpen4	0,97	0,90	0,31	14,56	12,44	10,27
	0,77			7,92		
	0,80			9,05		
	0,86			10,89		
	0,582			1,79		
	0,57			1,39		
	1,33			26,47		
	0,56			1,06		
	1,282			24,89		
	1,327			26,37		
Lpen5	0,82	0,87	0,09	9,64	11,30	2,83
	0,97			14,62		
	1,01			16,04		
	0,89			12,02		
	0,825			9,81		
	0,902			12,35		
	0,896			12,15		
	0,881			11,65		

	0,76			7,66		
	0,742			7,07		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
Lpex1	1,48	1,53	0,39	31,55	32,94	12,86
	1,47			31,02		
	2,38			61,09		
	1,41			29,18		
	1,416			29,31		
	1,461			30,79		
	1,612			35,78		
	1,005			15,75		
	1,109			19,18		
	1,915			45,78		
Lpex2	0,91	1,00	0,09	12,71	15,52	2,87
	1,13			19,90		
	0,92			12,94		
	1,08			18,09		
	0,988			15,18		
	0,911			12,64		
	0,918			12,87		
	1,123			19,64		
	1,025			16,41		
	0,976			14,79		
Lpex3	0,69	0,85	0,14	5,25	10,54	4,66
	0,85			10,56		
	1,15			20,60		
	0,74			7,13		
	0,939			13,57		
	0,777			8,22		
	0,876			11,49		
	0,962			14,33		
	0,718			6,27		
	0,769			7,96		
Lpex4	0,62	0,89	0,23	3,17	12,06	7,43
	0,76			7,76		
	1,17			21,16		
	0,77			7,92		
	1,321			26,17		
	0,987			15,15		

	0,934			13,40		
	0,847			10,53		
	0,91			12,61		
	0,611			2,74		
Lpex5	0,93	0,85	0,08	13,37	10,54	2,63
	0,88			11,62		
	0,70			5,55		
	0,78			8,22		
	0,885			11,79		
	0,942			13,67		
	0,911			12,64		
	0,785			8,49		
	0,865			11,13		
	0,799			8,95		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1penOz1	1,24	0,97	0,27	23,50	14,56	8,96
	1,044			17,03		
	0,718			6,27		
	0,839			10,27		
	1,266			24,36		
	0,675			4,86		
	1,254			23,96		
	0,699			5,65		
	1,275			24,66		
	0,682			5,09		
L2penOz1	0,904	1,05	0,18	12,41	17,39	5,90
	1,313			25,91		
	0,975			14,76		
	0,918			12,87		
	1,315			25,98		
	0,96			14,26		
	0,94			13,60		
	1,308			25,74		
	0,955			14,10		
	0,96			14,26		
L3penOz1	0,551	0,61	0,04	0,76	2,62	1,33
	0,562			1,13		
	0,587			1,95		
	0,654			4,16		
	0,591			2,08		

	0,599			2,35		
	0,672			4,76		
	0,611			2,74		
	0,594			2,18		
	0,653			4,13		
L4penOz1	0,671	0,95	0,28	4,72	14,03	9,09
	1,227			23,07		
	0,663			4,46		
	1,222			22,91		
	0,674			4,82		
	1,209			22,48		
	0,99			15,25		
	0,569			1,36		
	1,163			20,96		
	1,141			20,23		
L5penOz1	0,95	0,80	0,08	13,93	9,06	2,71
	0,741			7,03		
	0,76			7,66		
	0,76			7,66		
	0,745			7,17		
	0,859			10,93		
	0,739			6,97		
	0,709			5,98		
	0,868			11,22		
	0,893			12,05		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1penOz 2	0,719	0,79	0,11	6,31	8,79	3,56
	0,716			6,21		
	0,566			1,26		
	0,857			10,86		
	0,805			9,15		
	0,816			9,51		
	0,901			12,31		
	0,764			7,79		
	0,932			13,34		
	0,867			11,19		
L2penOz 2	0,916	1,29	0,34	12,81	25,24	11,11
	1,329			26,44		
	0,802			9,05		
	0,762			7,73		

	1,595			35,22		
	1,427			29,67		
	1,61			35,71		
	1,432			29,84		
	1,617			35,94		
	1,436			29,97		
L3penOz 2	0,719	0,72	0,09	6,31	6,48	3,03
	0,566			1,26		
	0,805			9,15		
	0,744			7,13		
	0,61			2,71		
	0,812			9,38		
	0,737			6,90		
	0,632			3,44		
	0,813			9,41		
	0,805			9,15		
L4penOz 2	1,234	0,87	0,28	23,30	11,20	9,25
	0,602			2,45		
	1,233			23,27		
	0,604			2,51		
	1,267			24,39		
	0,598			2,31		
	0,629			3,34		
	0,805			9,15		
	0,797			8,88		
	0,903			12,38		
L5penOz 2	1,728	1,21	0,39	39,60	22,36	12,97
	0,972			14,66		
	0,803			9,08		
	1,73			39,67		
	0,964			14,39		
	0,997			15,48		
	1,725			39,51		
	0,855			10,80		
	0,892			12,02		
	1,388			28,38		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1penOz3	2,063	1,44	0,53	50,66	30,01	17,38
	1,461			30,79		
	0,612			2,78		

	1,005			15,75		
	2,109			52,18		
	1,465			30,93		
	1,028			16,50		
	2,106			52,08		
	1,497			31,98		
	1,028			16,50		
L2penOz3	0,629	0,78	0,11	3,34	8,41	3,76
	0,797			8,88		
	0,903			12,38		
	0,629			3,34		
	0,825			9,81		
	0,902			12,35		
	0,628			3,30		
	0,807			9,21		
	0,901			12,31		
	0,805			9,15		
L3penOz3	1,099	0,82	0,16	18,85	9,58	5,16
	0,823			9,74		
	0,839			10,27		
	1,092			18,62		
	0,689			5,32		
	0,697			5,58		
	0,775			8,16		
	0,684			5,15		
	0,784			8,45		
	0,701			5,71		
L4penOz3	0,763	0,89	0,11	7,76	12,05	3,56
	0,716			6,21		
	0,95			13,93		
	0,916			12,81		
	0,836			10,17		
	1,026			16,44		
	0,801			9,01		
	0,952			14,00		
	1,021			16,27		
	0,95			13,93		
L5penOz3	1,251	1,13	0,21	23,86	19,81	6,91
	1,162			20,93		
	0,812			9,38		
	1,369			27,76		
	1,231			23,20		
	0,881			11,65		

	1,393			28,55		
	1,246			23,70		
	0,886			11,82		
	1,052			17,30		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1penOz4	1,33	1,24	0,12	26,50	23,38	3,90
	1,01			15,88		
	1,22			22,81		
	1,24			23,60		
	1,102			18,95		
	1,201			22,21		
	1,206			22,38		
	1,376			27,99		
	1,385			28,29		
	1,292			25,22		
L2penOz4	1,427	0,92	0,42	29,67	12,81	13,84
	0,649			4,00		
	0,604			2,51		
	1,549			33,70		
	0,636			3,57		
	0,619			3,01		
	1,56			34,06		
	0,654			4,16		
	0,862			11,03		
	0,602			2,45		
L3penOz4	0,99	0,85	0,15	15,25	10,76	5,11
	0,678			4,95		
	0,742			7,07		
	0,821			9,67		
	1,1			18,88		
	0,842			10,37		
	1,103			18,98		
	0,741			7,03		
	0,754			7,46		
	0,769			7,96		
L4penOz4	0,798	1,04	0,29	8,91	17,03	9,66
	0,852			10,70		
	1,799			41,95		
	0,746			7,20		
	0,944			13,73		

	1,036			16,77		
	1,042			16,97		
	1,091			18,58		
	1,03			16,57		
	1,1			18,88		
L5penOz4	0,793	0,83	0,07	8,75	9,93	2,33
	0,73			6,51		
	0,71			6,04		
	0,81			9,21		
	0,882			11,69		
	0,812			9,38		
	0,871			11,32		
	0,895			12,12		
	0,886			11,82		
	0,906			12,48		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1penOz5	1,651	1,31	0,34	37,06	25,65	11,14
	0,986			15,12		
	1,248			23,76		
	1,732			39,74		
	0,843			10,40		
	0,998			15,51		
	1,403			28,88		
	1,749			40,30		
	1,008			15,84		
	1,433			29,87		
L2penOz5	1,16	1,07	0,20	20,86	17,85	6,45
	0,851			10,66		
	0,916			12,81		
	1,178			21,45		
	1,225			23,01		
	0,898			12,21		
	0,906			12,48		
	1,426			29,64		
	1,214			22,64		
	0,915			12,78		
L3penOz5	1,372	1,31	0,35	27,86	25,71	11,52
	0,914			12,74		
	1,708			38,94		
	1,582			34,79		

	1,512			32,48		
	0,926			13,14		
	0,869			11,26		
	1,7			38,68		
	1,526			32,94		
	0,96			14,26		
L4penOz5	0,62	0,58	0,03	3,04	1,59	0,87
	0,574			1,52		
	0,541			0,43		
	0,559			1,03		
	0,597			2,28		
	0,553			0,83		
	0,587			1,95		
	0,597			2,28		
	0,543			0,50		
	0,591			2,08		
L5penOz5	0,563	0,62	0,13	1,16	3,05	4,37
	0,98			14,92		
	0,665			4,53		
	0,594			2,18		
	0,548			0,66		
	0,54			0,40		
	0,538			0,33		
	0,606			2,58		
	0,558			0,99		
	0,611			2,74		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1pexOz1	1,028	1,05	0,13	16,50	17,39	4,38
	1,07			17,89		
	1,072			17,96		
	0,929			13,24		
	1,315			25,98		
	0,997			15,48		
	0,903			12,38		
	0,998			15,51		
	0,983			15,02		
	1,253			23,93		
L2pexOz1	1,585	1,31	0,35	34,89	25,72	11,60
	0,943			13,70		
	1,804			42,11		

	1,048			17,16		
	1,686			38,22		
	0,995			15,42		
	1,461			30,79		
	1,612			35,78		
	1,005			15,75		
	0,933			13,37		
L3pexOz1	0,784	0,84	0,08	8,45	10,22	2,67
	0,832			10,04		
	0,87			11,29		
	0,956			14,13		
	0,846			10,50		
	0,97			14,59		
	0,794			8,78		
	0,848			10,56		
	0,709			5,98		
	0,768			7,92		
L4pexOz1	0,601	0,63	0,06	2,41	3,52	1,99
	0,619			3,01		
	0,627			3,27		
	0,58			1,72		
	0,649			4,00		
	0,608			2,64		
	0,561			1,09		
	0,746			7,20		
	0,732			6,74		
	0,622			3,11		
L5pexOz1	0,668	0,68	0,07	4,62	5,00	2,22
	0,625			3,21		
	0,712			6,08		
	0,613			2,81		
	0,698			5,61		
	0,592			2,12		
	0,684			5,15		
	0,77			7,99		
	0,798			8,91		
	0,635			3,54		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1pexOz2	0,711	0,70	0,29	6,04	5,62	9,54
	1,502			32,15		

	0,657			4,26		
	0,692			5,42		
	0,536			0,27		
	0,583			1,82		
	0,53			0,07		
	0,607			2,61		
	0,557			0,96		
	0,607			2,61		
L2pexOz2	0,952	0,78	0,11	14,00	8,27	3,76
	0,71			6,01		
	0,688			5,28		
	0,649			4,00		
	0,689			5,32		
	0,746			7,20		
	0,832			10,04		
	0,691			5,38		
	0,894			12,08		
	0,934			13,40		
L3pexOz2	0,897	0,94	0,32	12,18	13,56	10,58
	1,438			30,03		
	0,788			8,58		
	0,971			14,62		
	0,558			0,99		
	1,25			23,83		
	0,554			0,86		
	1,214			22,64		
	0,566			1,26		
	1,153			20,63		
L4pexOz2	0,964	1,13	0,39	14,39	20,03	12,84
	1,063			17,66		
	1,319			26,11		
	0,729			6,64		
	1,66			37,36		
	0,777			8,22		
	1,641			36,73		
	0,783			8,42		
	1,615			35,88		
	0,797			8,88		
L5pexOz2	0,803	0,79	0,19	9,08	8,60	6,32
	0,83			9,97		
	0,752			7,40		
	0,522			-0,19		
	0,936			13,47		

	0,924			13,07		
	0,569			1,36		
	0,861			10,99		
	1,123			19,64		
	0,564			1,19		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1pexOz3	0,712	0,74	0,04	6,08	7,10	1,27
	0,732			6,74		
	0,711			6,04		
	0,732			6,74		
	0,703			5,78		
	0,73			6,67		
	0,719			6,31		
	0,805			9,15		
	0,797			8,88		
	0,788			8,58		
L2pexOz3	0,754	0,95	0,35	7,46	13,82	11,58
	0,643			3,80		
	1,467			30,99		
	0,784			8,45		
	0,65			4,03		
	1,441			30,13		
	0,76			7,66		
	0,647			3,93		
	1,419			29,41		
	0,903			12,38		
L3pexOz3	1,109	1,49	0,42	19,18	31,70	13,99
	1,915			45,78		
	1,123			19,64		
	1,925			46,11		
	1,115			19,38		
	1,893			45,05		
	1,79			41,65		
	0,99			15,25		
	1,109			19,18		
	1,915			45,78		
L4pexOz3	0,555	0,70	0,13	0,90	5,75	4,25
	0,592			2,12		
	0,601			2,41		
	0,693			5,45		

	0,723			6,44		
	0,966			14,46		
	0,666			4,56		
	0,727			6,57		
	0,868			11,22		
	0,629			3,34		
L5pexOz3	0,727	1,02	0,27	6,57	16,29	8,75
	1,321			26,17		
	0,731			6,70		
	1,342			26,87		
	0,738			6,93		
	1,347			27,03		
	0,99			15,25		
	0,805			9,15		
	1,005			15,75		
	1,209			22,48		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1pexOz4	0,82	0,74	0,06	9,64	6,92	2,11
	0,82			9,61		
	0,73			6,51		
	0,82			9,64		
	0,677			4,92		
	0,692			5,42		
	0,678			4,95		
	0,767			7,89		
	0,663			4,46		
	0,714			6,14		
L2pexOz4	0,727	0,73	0,08	6,57	6,57	2,57
	0,748			7,26		
	0,709			5,98		
	0,873			11,39		
	0,683			5,12		
	0,798			8,91		
	0,691			5,38		
	0,643			3,80		
	0,788			8,58		
	0,611			2,74		
L3pexOz4	1,291	0,73	0,23	25,18	6,81	7,56
	0,509			-0,62		
	0,72			6,34		

	0,544			0,53		
	0,663			4,46		
	0,607			2,61		
	0,651			4,06		
	0,629			3,34		
	0,825			9,81		
	0,902			12,35		
L4pexOz4	1,139	1,03	0,16	20,17	16,57	5,34
	1,141			20,23		
	1,144			20,33		
	0,937			13,50		
	0,908			12,54		
	0,832			10,04		
	0,929			13,24		
	0,813			9,41		
	1,229			23,14		
	1,227			23,07		
L5pexOz4	0,77	0,69	0,13	8,09	5,43	4,21
	0,62			3,01		
	0,56			1,16		
	0,608			2,64		
	0,608			2,64		
	0,626			3,24		
	0,613			2,81		
	0,741			7,03		
	0,975			14,76		
	0,797			8,88		

Sample	OD	Rerata	SD	Log CFU/mL	Rerata	SD
L1pexOz5	1,839	1,82	0,14	43,27	42,60	4,64
	1,972			47,66		
	2			48,58		
	1,749			40,30		
	1,686			38,22		
	1,708			38,94		
	1,728			39,60		
	1,61			35,71		
	1,972			47,66		
	1,925			46,11		
L2pexOz5	1,139	1,24	0,44	20,17	23,52	14,36
	1,79			41,65		

	0,99			15,25		
	1,141			20,23		
	1,84			43,30		
	0,984			15,05		
	0,566			1,26		
	1,138			20,13		
	1,84			43,30		
	0,978			14,85		
L3pexOz5	0,635	0,65	0,07	3,54	4,07	2,23
	0,64			3,70		
	0,652			4,10		
	0,64			3,70		
	0,699			5,65		
	0,663			4,46		
	0,564			1,19		
	0,597			2,28		
	0,812			9,38		
	0,61			2,71		
L4pexOz5	1,5	1,32	0,23	32,08	26,29	7,75
	1,052			17,30		
	1,564			34,19		
	1,432			29,84		
	1,056			17,43		
	1,497			31,98		
	1,465			30,93		
	1,058			17,49		
	1,564			34,19		
	1,056			17,43		
L5pexOz5	0,682	0,66	0,03	5,09	4,26	0,86
	0,672			4,76		
	0,673			4,79		
	0,695			5,52		
	0,618			2,97		
	0,64			3,70		
	0,629			3,34		
	0,635			3,54		
	0,65			4,03		
	0,677			4,92		

BIOGRAFI PENULIS



PUTRI SURYANING PUSPITA merupakan nama lengkap penulis dengan nama panggilannya Putri atau Puput. Penulis dilahirkan di Blitar 23 Juni 1994 sebagai anak pertama dari dua bersaudara. Riwayat pendidikan penulis adalah SDN Jeblog (2000-2004), SDN 1 Gandusari (2004-2006), SMPN 2 Gandusari (2006-2009), SMAN 1 Talun (2009-2012), Program Studi S1 Fisika Universitas Airlangga Surabaya (2012-2017). Penulis diterima sebagai mahasiswa S2 Teknik Fisika ITS dengan bidang keahlian rekayasa instrumentasi industri pada tahun 2017. Penulis fokus pada bidang rekayasa fotonika untuk *treatment* medis sebagai penelitian tesisnya. Penulis dapat dihubungi melalui email asaputra.as64@gmail.com