

**PENGARUH IRRADIASI LASER TERHADAP INTENSITAS
FLUORESENSI DARI EKSPERIMEN PENGAMATAN
KALSIUM (Ca^{2+}) DALAM OOSIT IMMATURE KAMBING
YANG DIBERI INDIKATOR FLUO-3 DENGAN
MENGUNAKAN CONFOCAL LASER SCANNING
MICROSCOPE (CLSM)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang fisika

oleh:

SITI ZULKHIJAH ROHMATEN

0810933032-93



**PRODI FISIKA
JURUSAN FISIKA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH IRRADIASI LASER
TERHADAP INTENSITAS FLUORESENSI
DARI EKSPERIMEN PENGAMATAN KALSIUM (Ca^{2+})
DALAM OOSIT *IMMATURE* KAMBING YANG DIBERI
INDIKATOR FLUO-3 DENGAN MENGGUNAKAN
*CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPE (CLSM)***

Oleh:

SITI ZULKHIJAH R

0810933032-93

**Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal
dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang fisika**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Ir. DJ Djoko HS, M.Phil., Ph.D
NIP. 196601311990021001**

**Drs. Unggul P. Juswono, M.Sc
NIP. 196501111990021002**

**Mengetahui,
Kepala Jurusan Fisika
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

**Drs. Adi Susilo, M.Si., Ph.D
NIP. 196312271991031002**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Siti Zulkhijah R
NIM : 0810933032
Jurusan : Fisika
Penulis tugas akhir berjudul :

**PENGARUH IRRADIASI LASER
TERHADAP INTENSITAS FLUORESENSI
DARI EKSPERIMEN PENGAMATAN KALSIUM (Ca^{2+})
DALAM OOSIT *IMMATURE* KAMBING YANG DIBERI
INDIKATOR FLUO-3 DENGAN MENGGUNAKAN
CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPE (CLSM)**

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Tugas Akhir ini adalah benar – benar karya saya sendiri , dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya – karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka TA ini, semata – mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi TA saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,2013

Yang menyatakan,

(Siti Zulkhijah R)
NIM. 0810933032

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**PENGARUH IRRADIASI LASER TERHADAP INTENSITAS
FLUORESENSI DARI EKSPERIMEN PENGAMATAN KALSIMUM
(Ca²⁺) DALAM OOSIT IMMATURE KAMBING YANG DIBERI
INDIKATOR FLUO-3 DENGAN MENGGUNAKAN
CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPE (CLSM)**

ABSTRAK

Osilasi kalsium yang terjadi pada oosit berindikator biasanya diamati dengan menggunakan *laser fluorescence microscope*. Pada mikroskop ini osilasi kalsium dapat terlihat sebagai peristiwa transfer energi yaitu hasil pemendaran warna dari penembakan energi oleh laser ke oosit yang berindikator fluo-3. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi terjadinya peristiwa Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) dan untuk mengetahui pengaruh dari perubahan pengaturan prosentase laser yang ditembakkan oleh sumber laser yang digunakan sebagai sumber eksitasi pada eksperimen pengamatan Ca²⁺ dalam oosit kambing dengan indikator fluo-3. Pada penelitian ini membutuhkan oosit immature berlabel fluo-3 sebagai indikator kalsium dan confocal microscope laser scanning dengan sumber laser Argon 488 nm, laser HeNe G 543nm dan laser HeNe R 633nm. Prosentase laser pada program microscope diatur dengan perbandingan prosentase maksimal, prosentase besar-kecil, prosentase besar- sedang- kecil, prosentase sedang dan prosentase kecil. Analisa terjadinya transfer energi dilakukan dengan membuat grafik puncak - puncak intensitas yang tertangkap oleh channel-channel pada microscope membentuk grafik transfer energi dengan jarak yang lebih dekat. Dari hasil penelitian ini bahwa ketika laser yang dinyalakan hanya 1 dengan prosentase yang maksimal pada setiap laser, banyaknya kemungkinan transfer energi tidak menunjukkan banyak kejadian transfer energi. Apabila ketiga laser dinyalakan dengan prosentase laser yang variatif didapatkan banyak kemungkinan terjadinya transfer energi, terutama jika prosentase laser terbesar digunakan pada laser yang memiliki energi tertinggi.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa belum terlihat adanya pengaruh dari dirubahnya prosentase setiap laser pada pengamatan Ca²⁺ dalam oosit kambing dengan indikator fluo-3.

Kata Kunci : Kalsium (Ca²⁺), Oosit Kambing, Indikator Fluo-3, CLSM, FRET

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



THE INFLUENCE OF LASER PERCENTAGE TO EMISSION INTENSITY FROM CALCIUM (Ca^{2+}) OBSERVATION IN GOAT'S OOCYTE WHICH GIVEN WITH FLUO-3 INDICATOR USING *CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPE (CLSM)*

Abstract

Calcium oscilation which happens in indicated oocyte is usually observed using Laser Fluorescence Microscope. In this microscope, calcium oscilation can be seen as energy transfer event is colour phosphorescence result from energy shooting by laser to oocyte whose indicator is Fluo-3. This experiment aimed for identifying the event of Fluorescene Resonance Energy Transfer (FRET) and to find out the effect of laser percentage setting changing that fired by laser source which is used as excitation source in Ca^{2+} observation experiments in goat oocyte with fluo-3 indicator. In this experiment require immature oocyte labeled with fluo-3 as calcium indicator and confocal microscope laser scanning with Argon 488 nm, HeNe G 543nm and HeNe R 633nm lasers as sources. Accordance with the objectives, laser percentage in microscope program is set by maximum, big-small, big_small-medium, medium and small percentage comparison. Analysis energy transfer event done with creating intensity peaks graphic that captured by microscope's channels which form energy transfer overlapping graphic.

From this experiment can be concluded that percentage value on each intensity percentage not affect the occurence of energy transfer, but the amount of energy carried by excitation source may affect the occurence of FRET in oocyte.

Keywords : *Calcium (Ca^{2+}), Immature Oocyte, Fluo-3 Indicator, CLSM, FRET.*

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi ini dengan judul **Pengaruh Irradiasi Laser Terhadap Intensitas Fluoresensi Dari Eksperimen Pengamatan Kalsium (Ca^{2+}) Dalam Oosit *Immature* Kambing Yang Diberi Indikator Fluo-3 Dengan Menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM)***. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains dalam Bidang Minat Biofisika pada Jurusan Fisika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang.

Dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini banyak pihak yang telah membantu memberikan kontribusi ilmiah, moril dan materil baik secara langsung maupun tidak langsung kepada penulis. Penulis dengan tulus hati mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Sri Kuswati, saudariku Nur Khalifatul Hikmah dan Nur Lailatul Qomariyah yang selalu memberikan kasih sayang berlimpah, motivasi dan doa hingga terselesainya skripsi ini.
2. Bapak Drs. Adi Susilo, M.Si, PhD. selaku Ketua Jurusan Fisika Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.
3. Ir. DJ Djoko HS, Mphil., Ph.D selaku dosen pembimbing I atas bimbingan, pengarahan, motivasi, perhatian, tenaga, pikiran, kesabaran, dan segala sesuatu yang telah diberikan selama penyusunan skripsi ini.
4. Drs. Unggul P. Juswono, M.Sc selaku dosen pembimbing II atas bimbingan, masukan, nasehat dan kesabaran yang diberikan selama penyusunan skripsi ini.
5. Hari Soepriandono yang telah memberikan banyak masukan, perhatian, bantuan, dan tenaga selama penyusunan skripsi.
6. Bapak dan Ibu dosen, laboran, dan karyawan Jurusan Fisika baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Kepala Laboratorium LSIH Jurusan Biologi beserta Laboran CLSM Mbak Unil atas kesempatan yang telah diberikan untuk melakukan penelitian.

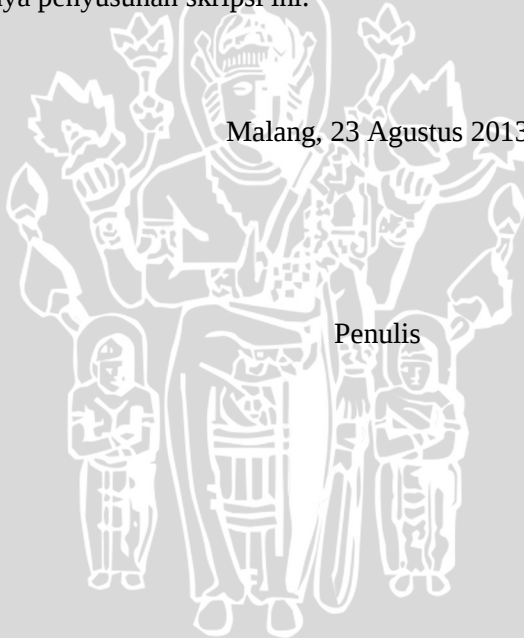
8. Orang-orang terdekatku RahmatiaPutri, Ayu Puspita Pradani, Dian Cahyono, Nathania Nanasari dan Teman-teman seperjuangan (Fisika angkatan 2008) terima kasih atas perhatian, bantuan, dan dukungannya.
9. Seluruh pihak terkait yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu terima kasih atas bantuan dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan di kemudian hari. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat dan dapat memberikan tambahan ilmu pengetahuan kepada para pembaca.

Penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya kepada semua pihak atas segala kekurangan dan kesalahan selama penelitian hingga terselesaikannya penyusunan skripsi ini.

Malang, 23 Agustus 2013

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	ix
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Oosit atau sel telur	5
2.2 Fluoresensi.....	6
2.3 Fluorescence Reconce Energy Transfer (FRET).....	9
2.3.1 Metode Pengukuran FRET	11
2.4 Olympus Fluoview FV 1000 CLSM.....	12
2.4.1 Spesifikasi Olympus Fluoview 100 CLSM	23
2.5 Indikator Fluoresensi	14
2.5.1 Fluo-3	14
2.6 Rentang Warna	15

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan	17
3.2 Tempat Dan Waktu Penelitian.....	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	17
3.2.1 Alat penelitian	17

3.2.2 Bahan penelitian	18
3.3 Metode Penelitian	19
3.3.1 Prosedur Persiapan Bahan	19
3.3.2 Prosedur Pengamatan & Pengambilan Data	21
3.3.2.1 Prinsip kerja CLSM	21
3.3.3 PengaturanAlat.....	25
3.3.3.1Proses Pengambilan Data dan hasil	25

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Data Hasil Penelitian.....	31
4.2 Hasil Penelitian	32
4.2.1 Hasil identifikasi terjadinya peristiwa Fluorescence Resonance Energy Transfer	32
4.2.2 Hasil identifikasi perubahan prosentase laser	37

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	45
5.2 Saran.....	45

DAFTAR PUSTAKA.....	47
----------------------------	-----------

LAMPIRAN – LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Oosit pada kambing	5
Gambar 2.2 Diagram energi fluoresensi jablonski	7
Gambar 2.3 Spektrum eksitasi dan emisi dari sebuah fluorophor dan hubungan antara amplitude eksitasi dan intensitas emisi	8
Gambar 2.4 Pergeseran stoke dari spectrum eksitasi dan emisi fluoropor	9
Gambar2.5 Diagram Jablonski Transfer Energi secara resonansi.....	10
Gambar 2.6Peristiwa FRET dan Bukan FRET	11
Gambar 2.7 Skema representasi dari fret tumpang tindih spektral	11
Gambar 2.8 Olympus Fluoview FV 1000 Confocal Laser Scanning Microscope	13
Gambar 2.9 Spektrum cahaya tampak yang mengindikasikan perkiraan panjang gelombang.....	15
Gambar 3.1 Alur rancangan penelitian	18
Gambar 3.2 Ovarium kambing yang masih menempel dengan saluran reproduksi.....	19
Gambar 3.3 Aspirasi oosit kambing dengan cara menyuntik menggunakan jarum khusus	20
Gambar 3.4 Diagram jalur optik dan komponen utama dalam laser mikroskop confocal.....	22
Gambar3.5 Jalan masuk laser ke dalam sistem olympus multi combiner	23
Gambar3.6 Olympus Filter Version Scan Unit	24
Gambar 3.7 Panel Dye List pada program olympus	26
Gambar 3.8 Acquisition setting pada program olympus.....	28
Gambar 3.9 Hasil fluoresensi spesimen yang telah ditangkap oleh channel.....	29
Gambar 4.1 Hasil pemendaran kalsium dalam oosit dengan probe Fluo-3	32
Gambar 4.2 Analisis data dalam bentuk grafik3D	33

Gambar 4.3 Analisa data transfer energi.....	35
Gambar 4.4 Diagram jablonski 1 sumber laser Ar 488 nm....	40
Gambar 4.5 Diagram jablonski 2 sumber, laser Ar 488nm dan laser HeNe G 543 nm	40
Gambar 4.6 Diagram jablonski 2 sumber, laser Ar 488nm dan laser HeNe R 633 nm	41
Gambar 4.7 Diagram jablonski 3 sumber, laser Ar 488nm, laser HeNe G 543 nm dan laser HeNe R 633 nm.....	41



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Tabel Percobaan	27
Tabel 2. Data Hasil Penelitian	31
Tabel 3. Data Hasil Penelitian	37
Tabel 4. Hasil Penelitian menggunakan 1 sumber laser	42
Tabel 5. Hasil Penelitian menggunakan 2 sumber laser	42
Tabel 6. Hasil Penelitian menggunakan 2 sumber laser dengan nilai intensitas sama	43
Tabel 7. Hasil Penelitian menggunakan 3 sumber laser	43
Tabel 8. Hasil Penelitian menggunakan 3 sumber laser referensi penelitian (HariSoepriandono,dkk)	44

