

Potensi Pemaparan *Light Emitting Diode* (LED) Inframerah Untuk Fotoinaktivasi Bakteri *Bacillus subtilis*

Suryani Dyah Astuti¹, Rania Basalamah¹, Moh. Yasin¹

¹ Program Studi Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

Email : suryanidyah@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemaparan cahaya LED inframerah pada fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis* dengan cara melakukan uji potensi untuk mengetahui panjang gelombang yang sesuai dengan spektrum serap fotosensitizer bakteri *Bacillus subtilis*. Selain itu dilakukan uji optimasi untuk menentukan jarak dan waktu pemaparan yang efektif pada proses fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis* dengan variasi jarak 1,5 cm, 2cm, dan 3cm serta variasi waktu 5 menit, 10 menit, 15 menit dan 20 menit. Penelitian ini menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) untuk menghitung jumlah kematian koloni bakteri akibat pemaparan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa LED inframerah dengan panjang gelombang 950 nm berpotensi untuk fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis*. Dan efek pemaparan yang paling efektif adalah pada jarak 1,5 cm pada waktu 15 menit dengan prosentase kematian sebesar 53%.

Kata kunci : *Bacillus subtilis*, Fotoinaktivasi, Fotosensitizer, LED (*Light Emitting Diode*), TPC (*Total Plate Count*)

PENDAHULUAN

Salah satu tujuan utama institusi pelayanan kesehatan adalah berupaya untuk mencegah terjadinya infeksi bagi pasien dan petugas kesehatan. Keberadaan bakteri kontaminan sebagai penyebab infeksi sangat berpengaruh pada area yang seharusnya terjaga kesterilannya, seperti ruang operasi dan laboratorium serta peralatan medis yang ada. Bakteri kontaminan yang sering ditemukan pada peralatan medis salah satunya adalah *Bacillus subtilis* (Pusdiknakes, 1989). Adanya pusat sterilisasi dalam unit rumah sakit sangat diperlukan sebagai upaya mengendalikan terjadinya infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme (Departemen Kesehatan RI, 2009).

Sterilisasi merupakan suatu proses yang dengan metode tertentu baik secara kimia atau fisika, dapat menghancurkan mikroba patogen termasuk endospora bakteri (Darmadi, 2008). Sterilisasi peralatan medis dapat dilakukan dengan

berbagai cara yaitu berdasarkan metode kimia meliputi teknik desinfeksi, serta metode fisika meliputi, teknik penyaringan, pemanasan dan radiasi (Hollander A, 1995 dalam Ariyadi dan Dewi, 2009). Proses desinfeksi menggunakan bahan kimia seperti Chlorine atau alkohol 70% hanya mampu membunuh sel vegetatif saja dan tidak mampu membunuh spora bakteri. Sehingga tidak efektif untuk proses sterilisasi (Dhirgo,2007). Sedangkan pada metode fisika, proses penyaringan menggunakan filter hanya terbatas untuk bakteri dengan ukuran tertentu saja dan sejatinya tidak membunuh bakteri melainkan hanya memisahkan bakteri tersebut dari suatu bahan, sehingga bakteri akan tetap hidup (Gabriel, 1988). Penggunaan autoklaf untuk teknik pemanasan yang kerap kali digunakan, seringkali terjadi masih adanya udara dalam autoklaf, sehingga suhu didalam ruang tersebut akan turun, akibatnya proses sterilisasi menjadi tidak sempurna. Selain itu, terjadinya kegagalan kontak akibat

tidak meratanya uap ke seluruh permukaan bahan menyebabkan kegagalan sterilisasi (Dhirgo,2007). Serta tidak semua peralatan medis dapat disterilkan dengan metode ini.

Teknik radiasi ionisasi yang biasa digunakan untuk sterilisasi adalah radiasi sinar gamma. Sinar gamma memiliki energi sangat tinggi yang dapat mengionisasi molekul bahan, sehingga dapat juga merusak bahan tersebut serta dapat menimbulkan mutasi pada organisme baik secara langsung maupun tidak langsung (Kappke *et al.*, 2005). Sedangkan radiasi non ionisasi yang selama ini digunakan adalah radiasi ultraviolet. Namun kelemahan dari sinar ultraviolet adalah daya penetrasinya yang lemah (Ariyadi dan Dewi,2009). Dengan demikian, diperlukan metode alternatif yang efektif untuk inaktivasi bakteri kontaminan, yaitu dengan menggunakan teknik fotodinamik.

Secara alamiah, beberapa bakteri menghasilkan endogen porfirin, yaitu molekul pengasorpsi cahaya yang bersifat fotosensitizer (peka terhadap cahaya). Setiap molekul porfirin memiliki kemampuan mengasorpsi cahaya yang bergantung pada panjang gelombang tertentu (Papageorgiou *et al.*, 2000). Kombinasi cahaya dan fotosensitizer dengan spektrum yang sesuai akan menyebabkan fotoinaktivasi sel bakteri. Proses fotoinaktivasi diawali dengan mekanisme fotosensitasi yaitu penyerapan cahaya oleh porfirin yang selanjutnya mengaktifasi reaksi dalam substrat. Fotosensitasi ini bergantung pada jenis dan kuantitas dari porfirin sebagai molekul penyerap cahaya (Nitzan *et al.*, 2004).

Kerusakan sel bakteri pada proses fotoinaktivasi didasarkan pada dua mekanisme, yaitu kerusakan DNA dan kerusakan membran sitoplasma. Penyinaran cahaya yang diserap oleh fotosensitizer akan memecah struktur DNA menjadi double-strained DNA, sehingga dapat menimbulkan kerusakan. Selain itu, fotoinaktivasi juga dapat mengakibatkan kebocoran sel atau inaktivasi sistem

transport membran dan sistem enzim membran pada bakteri tersebut (Hamblin dan Hasan, 2003). Fenomena fisis yang terjadi pada proses fotoinaktivasi meliputi 3 tiga tahap, yaitu tahap fotofisika, berupa interaksi cahaya dengan molekul porfirin pada proses absorpsi foton dan diikuti dengan eksitasi elektron. Pada tahap fotokimia, terjadi perubahan energi dan struktur elektron sebagai akibat dari eksitasi elektron. Sedangkan tahap fotobiologi, melibatkan perubahan sel organisme akibat interaksi cahaya (Grossweiner,2005). Menurut Nicorescu *et al.*, (2012), efek pemaparan cahaya pulsed light pada bakteri *Bacillus Subtilis* yang ditunjukkan oleh SEM, menyebabkan rusaknya struktur parietal bakteri tersebut. Salah satu penggunaan cahaya pulsed light adalah *Light Emitting Diode* (LED).

LED merupakan semikonduktor kompleks yang dapat mengkonversi energi listrik menjadi cahaya. LED termasuk sumber cahaya dengan rentang spektrum absorpsi porfirin tipe fotosensitizer. Kelebihan LED dibandingkan dengan sumber cahaya lain untuk fotoinaktivasi adalah karena hanya menghasilkan sejumlah kecil panas dalam cahaya yang ditimbulkan. LED menghasilkan cahaya dengan berbagai warna. Warna cahaya yang diemisikan oleh LED bergantung pada komposisi material semikonduktor yang digunakan, baik inframerah, cahaya tampak maupun ultraviolet (Schubert, 2006).

Cahaya inframerah (700 nm – 10^6 nm) memiliki karakteristik mudah diserap oleh bahan organik. Material organik dalam bakteri akan cepat menyerap cahaya inframerah saat terjadi proses penyinaran, sehingga kenaikan temperatur dalam bakteri akan terjadi semakin cepat pula (Hamanaka, 2005). Absorpsi energi radiasi oleh sel bakteri secara garis besar mempunyai dua hasil yaitu kematian sel yang diindikasikan oleh tidak adanya kemampuan untuk membentuk koloni, atau mutasi yaitu perubahan pola genetik. Oleh karena itu, dapat diperkirakan bahwa

mekanisme utama dari fotoinaktivasi bakteri dengan cahaya inframerah adalah pemanasan langsung ke mikroorganisme oleh penyinaran termal (Dhirgo,2007).

Penelitian fotodinamik yang telah dilakukan sebelumnya membuktikan bahwa keberhasilan fotoinaktivasi pada bakteri ditentukan oleh kesesuaian panjang gelombang cahaya dengan spektrum serap porfirin. Berdasarkan penelitian Dhirgo *et al.*, (2007) menunjukkan bahwa penyinaran cahaya inframerah selama 15 menit, dapat menimbulkan inaktivasi bakteri *Bacillus subtilis*. Begitu juga dengan penelitian yang dilakukan Hamanaka *et al.*, (2005) menyimpulkan bahwa penyinaran inframerah 950 nm berpotensi fotoinaktivasi pada bakteri *Bacillus subtilis*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi pemaparan LED inframerah pada inaktivasi bakteri *Bacillus subtilis* sebagai upaya alternatif dan efektif untuk sterilisasi peralatan medis.

MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

Persiapan Kultur Bakteri

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Bacillus subtilis* yang diperoleh dari Laboratorium mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Alat dan bahan yang digunakan adalah Cawan petri (diameter 6 cm), tabung reaksi, Erlenmeyer 250 ml, *Micropipette*, lidi sapu (ose), lampu bunsen, neraca, *Microwave oven*, *Spektrophotometer*, *Dry oven*, *Autoclave* bersih, *Autoclave* kotor, *Incubator*, colony counter, Aluminium foil, plastik wrap, dan kapas.media Nutrient Agar, Aquades , air Garfis (campuran Aquades dan NaCl), Alkohol 70%.

Peralatan Perlakuan

Peralatan yang digunakan untuk perlakuan pada penelitian ini adalah Seperangkat LED (terdiri dari LED inframerah 940 nm dan 950 nm serta LED merah 626 nm) yang dilengkapi dengan mikrokontroler AVR 8535, motor servo, sensor suhu tipe LM 35, plat holder sampel, keypad sebagai pemberi masukan daya (PWM%), waktu (menit), dan suhu ($^{\circ}\text{C}$)

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratoris dengan rancangan acak lengkap pola faktorial *pre test-post test control group design* , yaitu dengan menyediakan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Metode pemaparan bakteri dilakukan dengan dua tahap uji. Tahap uji potensi bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang (dari lampu LED Inframerah 940 nm dan 950 nm serta LED merah) yang paling berpotensi untuk fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis*. Sedangkan tahap uji optimasi bertujuan untuk mengetahui jarak dan waktu pemaparan yang paling optimal untuk fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis*.

Karakterisasi Alat

Sebelum dilakukan pemaparan, terlebih dahulu dilakukan karakterisasi alat penyinaran yang terdiri dari 3 tahap yaitu tahap karakterisasi temperatur menggunakan Thermo-Hygrometer digital, karakterisasi waktu pemaparan menggunakan stopwatch digital ,dan karakterisasi intensitas pemaparan LED menggunakan *Silicon detector* 818 SL dengan Output yang disambungkan pada voltmeter.

Pengkulturan Bakteri

Isolat *Bacillus subtilis* dari media agar diambil menggunakan ose dan dimasukkan ke dalam larutan Nutrient

Broth. Kemudian campuran dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi selama 24 jam dengan inkubator 37⁰C. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan cara mengambil kultur 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi air fisiologis 9 ml (10⁻¹) hingga pengenceran ke 10⁻¹⁰. Tiap pengenceran bakteri dituang ke dalam cawan petri sebanyak 0,05 ml. Media Nutrient Agar yang telah dipanaskan dengan suhu 45⁰ ditambahkan ke dalam cawan bakteri, kemudian cawan tersebut digoyangkan dengan pola angka delapan hingga media yang berisi bakteri di dalam cawan menjadi padat. Cawan-cawan petri yang telah berisi bakteri diletakkan dalam posisi terbalik dan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37⁰C. Setelah itu dilakukan pengamatan pada jumlah bakteri masing-masing pengenceran. Jika memenuhi syarat sekitar 30-300 koloni, maka pengenceran itu yang dapat digunakan untuk perlakuan.

Uji Pemaparan LED

Setelah diperoleh sampel bakteri, dilakukan uji potensi pemaparan menggunakan LED inframerah 940 nm dan 950 nm serta LED merah, masing-masing dengan jarak 3 cm dan waktu pemaparan konstan 15 menit. Pada tahap ini dilakukan replikasi sebanyak 10 kali untuk masing-masing LED, sehingga terdapat 10x3 = 30 satuan percobaan yang dilaksanakan secara acak.

Kemudian hasil penyinaran tersebut diamati dan jenis LED yang lebih berpotensi untuk fotoinaktivasi bakteri dipilih untuk uji optimasi jarak dan waktu pemaparan. Digunakan variasi jarak 1,5 cm, 2 cm, 3 cm dan variasi waktu 5 menit, 10 menit, 15 menit, 20 menit. Pada tahap ini dilakukan replikasi sebanyak 4 kali, sehingga terdapat 3 x 4 = 12 kombinasi perlakuan yang dilaksanakan secara acak. Kemudian dilakukan pengamatan pada hasil pemaparan LED.

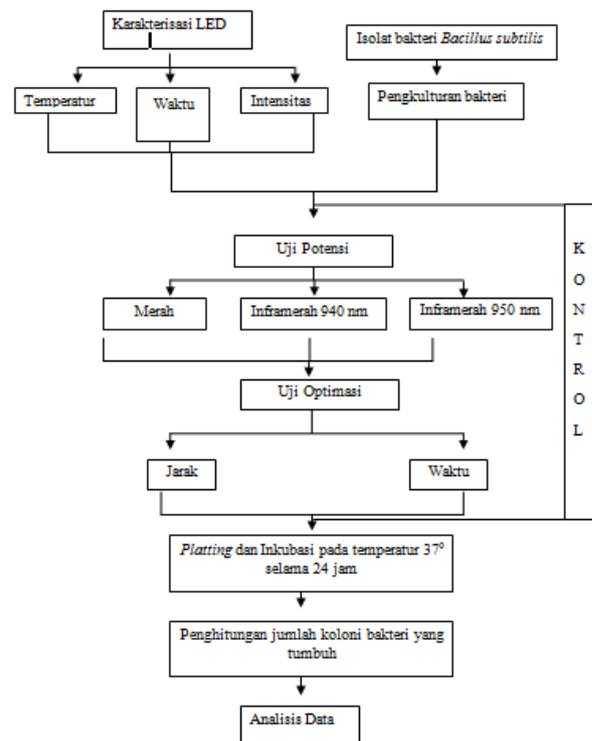
Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri

Penghitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh dilakukan dengan metode pencawanan (*Total Plate count*). Prosentase penurunan jumlah koloni bakteri yang tumbuh dapat dihitung dengan :

$$|(\Sigma \text{ koloni perlakuan} - \Sigma \text{ koloni kontrol}) / \Sigma \text{ koloni kontrol}| \times 100$$

Analisis Data

Analisis data menggunakan analisis statistik SPSS (*Statistical Package For Social Science*) berupa uji *one way anova* dan uji Anova Faktorial untuk mengetahui pengaruh antar kelompok perlakuan

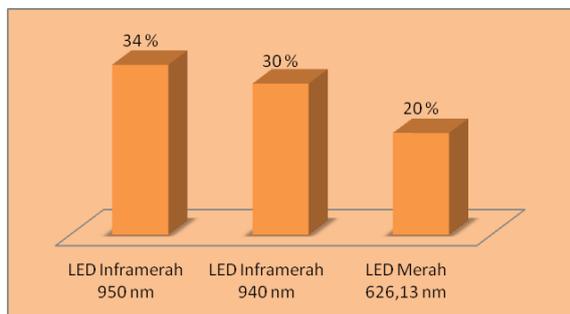


Gambar 1.1 Diagram alir langkah-langkah penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian tahap pertama yaitu uji potensi pemaparan LED inframerah 940 nm dan 950 nm serta LED merah 626 nm

untuk fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis* ini menggunakan jarak 3 cm dan waktu konstan 15 menit



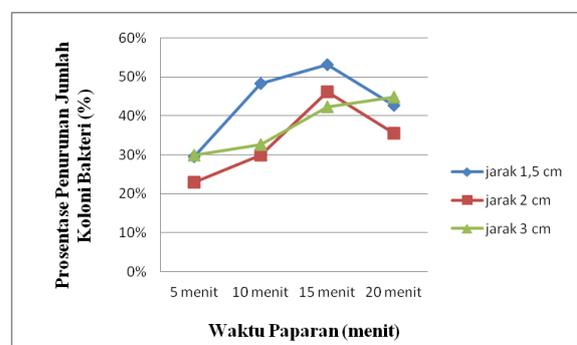
Gambar 1.2 Diagram batang prosentase penurunan bakteri *Bacillus subtilis* terhadap variasi panjang gelombang

Data hasil uji potensi dianalisis menggunakan uji statistik *One Way Anova* yang menunjukkan bahwa signifikan atau nilai probabilitas (p) $0,000 < 0,05$. Nilai ini mengandung makna ada perbedaan antara 3 perlakuan pada penelitian ini. Sedangkan berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Gambar 1.2 menyatakan bahwa LED inframerah dengan panjang gelombang 950 nm termasuk yang paling berpotensi pada fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis* dengan prosentase penurunan jumlah koloni bakteri sebesar 34%. Sehingga dapat diketahui pula bahwa sumber cahaya inframerah 950 nm sesuai dengan spektrum serap bakteri *Bacillus subtilis*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hamanaka *et al.*, (2005) yang menunjukkan bahwa sumber cahaya inframerah 950 nm memiliki pengaruh yang besar pada inaktivasi bakteri berspora, seperti *Bacillus subtilis*.

Pada tahap kedua yaitu uji optimasi jarak dan waktu untuk fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis*, dilakukan dengan menggunakan variasi jarak 1,5 cm, 2 cm, dan 3 cm serta variasi waktu 5 menit, 10 menit, 15 menit, dan 20 menit. Sumber cahaya yang digunakan adalah sesuai dengan hasil yang diperoleh pada tahap uji potensi, yaitu LED inframerah 950 nm. Data hasil uji optimasi kemudian dianalisis menggunakan uji

Anova faktorial dengan 2 faktor uji yaitu jarak dan waktu. Sehingga dapat diketahui apakah ada pengaruh pada masing-masing faktor dan interaksi antar faktor atau tidak ada pengaruh.

Uji Anova Faktorial menunjukkan nilai signifikan (p) untuk faktor jarak dan waktu adalah $0,000 < 0,05$. Sehingga berdasarkan uji statistik Anova Faktorial dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh yang bermakna pada pemaparan LED inframerah 950 nm dengan variasi jarak dan waktu. Data hasil uji optimasi jarak dan waktu dapat dipaparkan dalam grafik berikut :



Gambar 1.3. Grafik persentase penurunan jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* pada pemaparan LED inframerah 950 nm dengan variasi jarak 1,5 cm, 2 cm, dan 3 cm.

Berdasarkan Gambar 1.3 dapat disimpulkan bahwa pemaparan LED inframerah 950 nm untuk fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis* adalah optimal pada jarak 1,5 cm dan waktu pemaparan 15 menit serta dengan energi 1,39 Joule mampu menghasilkan prosentase penurunan jumlah koloni bakteri sebesar 53%.

Fotodinamik merupakan teknologi inaktivasi yang ditentukan oleh panjang gelombang spesifik dari cahaya yang sesuai dengan spektrum fotosensitizer untuk dapat menghasilkan molekul aktif yang bersifat racun pada sel bakteri (Zhou, 2012). Proses absorpsi cahaya menyebabkan terjadinya eksitasi elektron ke tingkat energi yang

lebih tinggi dan kemudian akan menstabilkan diri kembali ke keadaan dasar melalui transisi radiatif fluoresensi dan fosforesensi. Proses fluoresensi diawali dengan transisi non-radiatif berupa *internal conversion*. Sedangkan radiasi fosforesensi diawali dengan adanya transisi non-radiatif yaitu *intersystem crossing* yang berlangsung pada keadaan triplet dalam jangka waktu yang cukup lama. Akibatnya terjadi reaksi fotokimia antara molekul fotosensitizer dengan molekul lainnya secara langsung (Tipe 1) maupun tak langsung (Tipe 2). Sehingga dihasilkan radikal bebas dan singlet oksigen yang bersifat toksik dan merusak membran sel bakteri (Alves *et al.*, 2014).

Efek fotodinamik bergantung pada beberapa parameter, diantaranya adalah medium absorpsi cahaya atau fotosensitizer dan karakteristik sumber cahaya yang meliputi : panjang gelombang dan dosis energi (Costa *et al.*, 2012). Parameter fotosensitizer sebagai medium absorpsi cahaya, akan mempengaruhi keberhasilan fotoinaktivasi melalui kesesuaian spektrum serap fotosensitizer dengan panjang gelombang sumber cahaya.

Parameter dosis energi yang digunakan pada pemaparan sumber cahaya ditentukan oleh faktor intensitas dan waktu penyinaran. Menurut Alves *et al.*, (2014), fotoinaktivasi pada mikroorganisme akan lebih berpengaruh ketika intensitas penyinaran tinggi dan durasi waktu penyinaran lebih lama. Namun hasil penyinaran yang lebih efektif dapat dilakukan dengan menggunakan intensitas penyinaran yang tinggi pada waktu singkat atau intensitas penyinaran yang rendah pada waktu yang lama.

Penelitian optimasi jarak dan waktu untuk fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis*, akan berpengaruh pula terhadap intensitas penyinaran yang diterima oleh sampel bakteri. Semakin besar jarak penyinaran, maka semakin rendah intensitas penyinaran yang akan diabsorpsi oleh bakteri. Sehingga pemaparan yang efektif

dapat terjadi dengan meminimalkan jarak penyinaran yang akan menghasilkan intensitas tinggi. Maka dalam penelitian ini diperoleh hasil pemaparan LED inframerah 950 nm yang paling efektif adalah pada jarak terendah yaitu 1,5 cm.

Kematian yang ditimbulkan pada fotoinaktivasi bakteri memiliki mekanisme yang berbeda-beda, bergantung pada jenis bakteri tersebut, yaitu gram-positif atau gram-negatif. Titik lemah antara bakteri gram positif dan gram negatif, dapat dijelaskan berdasarkan struktur pembentuk dinding selnya (Alves *et al.*, 2014). Bakteri *Bacillus subtilis* sebagai jenis bakteri gram positif mempunyai dinding sel yang mengandung lipoteichoic dan asam teichoic yang tersusun pada lapisan ganda peptidoglikan yang akan berperan penting pada daya serap bakteri sebagai jalur masuk molekul fotosensitizer ke dalam sel untuk merusak sel melalui oksidasi singlet oksigen. Sedangkan Bakteri gram-negatif mempunyai membran luar yang kompleks pada dinding sel nya, yaitu terdiri dari fosfolipid, lipopolysakarida, asam lipoteichoic dan lipoprotein. Interaksi antara kation fotosensitizer dan unsur-unsur penyusun pada dinding sel gram negatif menghasilkan interaksi elektrostatis yang akan menstabilkan dinding sel, termasuk ikatan kimia dan akhirnya molekul fotosensitizer masuk ke dalam sel hingga singlet oksigen menimbulkan kerusakan pada dinding sel (Alves *et al.*, 2014).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh bahwa Pemaparan *Light Emitting Diode* (LED) inframerah dengan panjang gelombang 950 nm berpotensi untuk fotoinaktivasi bakteri *Bacillus subtilis*. Serta efek fotoinaktivasi paling optimal diperoleh pada jarak pemaparan 1,5cm dan durasi waktu pemaparan 15 menit, dengan energi sebesar 1,39 Joule mampu

menghasilkan efek fotoinaktivasi bakteri sebesar 53%.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Kementerian Direktorat Pendidikan Tinggi RI, yang telah membiayai biaya penelitian. Dan para pembimbing penelitian Serta kepada Laboratorium Gastroenteritis, Institute Tropical Disease, Universitas Airlangga.

DAFTAR PUSTAKA

Alves, Eliana *et al.* 2014. *Potential applications of porphyrins in photodynamic inactivation beyond the medical scope.* Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry

Ariyadi, T dan S Sinto Dewi. 2009. *Pengaruh Sinar Ultraviolet Terhadap Pertumbuhan Bakteri Bacillus Sp. Sebagai Bakteri Kontaminan.* Semarang: Universitas Muhammadiyah

Astuti, Suryani Dyah. 2010. *Potensi Light Emitting Diode (LED) Biru Untuk Fotoinaktivasi Bakteri Staphylococcus aureus dengan Porfirin Endogen.* Surabaya: Universitas Airlangga

Astuti, Suryani Dyah dkk. 2011. *Potensi Photodinamik inaktivasi Staphylococcus aureus dan Vibrio cholerae dengan Endogen*

Photosensitizer pada Penyinaran LED Biru (430 ± 4) nm dan Merah (629 ± 6) nm. Surabaya: Universitas Airlangga

Block, Seymour S. 1977. *Disinfection, sterilization, and preservation (ed 2th).* Philadelphia : Lea & Febiger.

Block, Seymour S. 2001. *Disinfection, sterilization, and preservation (ed 5th).* USA : Lippincot williams & wilkins.

Cavalcante, R.S *et al.* 2008. *A Combination of Techniques to Evaluate Photodynamic Efficiency of Photosensitizers.* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Costa, Liliana *et al.* 2012. *Photodynamic Inactivation of Mammalian Viruses and Bacteriophages.* Open Access Viruses.

Csele, Mark. 2004. *Fundamentals Of Light Sources And Lasers.* New Jersey : John Wiley & Sons, Inc.

Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial Problematika dan Pengendaliannya.* Jakarta : Penerbit salemba medika.

Departemen Kesehatan RI. 2009. *Pedoman Instalasi Pusat Sterilisasi di Rumah Sakit.* Jakarta : Direktorat Jendral Bina Pelayanan Medik.

De Rosa, Maria C dan Robert J Crutchley. 2002. *Photosensitized singlet oxygen and its applications.*

- Coordination Chemistry Reviews :
Elsevier
- Journal of Photochem & Photobiol,
Science.
- Dhirgo, Adji ,. 2013. *Perbandingan Efektivitas Sterilisasi Alkohol 70%,Inframerah,Otoklaf, dan Ozon Terhadap Pertumbuhan Bakteri Bacillus subtilis*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada
- Harwood, C.R and S.M.Cutting. 1990. *Molecular Biological Methods for Bacillus*. England : John Wiley & Sons Ltd.
- Gabriel, J.F. 1996. *Fisika Kedokteran*. Jakarta : EGC
- Hatmanti, Ariyani. 2000. *Pengenalan Bacillus Spp*. Jakarta : Oseana
- Gardner, Joan F and Margaret M Peel. 1986. *Introduction to Sterilization and Disinfection*. Melbourne: Longman Group.
- Held, Gilbert. 2009. *Introduction to Light Emitting Diode Technology and Applications*. Boca Raton : Taylor & Francis Group
- Giancoli, 2001. *Physics fifth edition*. Alih bahasa : Yuhilza Hanum dan Irwan Arifin. Jakarta : Erlangga.
- Juzenas, Petras *et al*. 2008. *Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer*. Advance Drug Delivery Review : Elsevier
- Grossweiner LI, 2005. *The Science of Phototherapy: An Introduction*, USA : Springer
- Kranovsky, A.A. 2007. *Luminescence and photochemical studies of singlet oxygen photonics*. Journal of Photochemistry and Photobiology : Elsevier
- Hamanaka, Daisuke. 2005. *Effect Of The Wavelength Of Infrared Heaters On The Inactivation Of Bacterial Spores At Various Water Activities*. International Journal of Food Microbiology : Elsevier
- Mamone, L *et al*. 2014. *Photodynamic inactivation of Gram-positive bacteria employing natural resources*. Journal of Photochemistry and Photobiology : Elsevier
- Hamblin dan Hasan T, 2003. *Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease*. PPS (<http://www.rsc.org/pps>)
- Merchant, LA and Parker, R.A. 1961. *Laboratry Manual for Veterinary Bacteriology*. Baltimore : Burgess Publishing Company.
- Hamblin dan Hasan T, 2004. *Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease*,

- Naim, R. 2003. *Endospora, Aspek Kesehatan Industri Pangan*. Bogor : FKH-IPB (diakses di <http://www.kompas.com/kompascetak/0301127lipteU9T493.htm>)
- Niemz, Markolf H. 2007. *Laser-Tissue Interactions Third enlarged edition*. New York :Springer Berlin Heidelberg
- Nicoresu, I *et al.* 2012. *Pulsed Light Inactivation Of Bacillus Subtilis Vegetative Cells In Suspensions and Spices*. Food Control Journal : Elsevier
- Nitzan, Divon MS, Shporen E, Malik Z, 2004. *ALA Induced Photodynamic Effect on Gram Positive and Negative bacteria*. Journal of Photochemistry & Photobiology.
- Papageorgiu, Katsambas, Chu. 2000. *Phototherapy with Blue (415nm) and Red (660nm) Light in The Treatment of Acne Vulgaris*. British Journal of Dermatology.
- Schubert E.F., 2006, *Light Emitting Diodes*, 2nd ed., Cambridge University Press, USA.
- Senior, John. 1985. *Optical Fiber Communications*. London : Prentice-Hall International.
- Tamimah, Ni'matut. 2013. *Skripsi Potensi Pemaparan Light Emitting Diode (LED) untuk Fotoinaktivasi Bakteri Streptococcus Mutans secara In Vitro*. Departemen Fisika Universitas Airlangga.
- Wainwright, Mark. 2009. *Photosensitizers in Biomedicine*. Wiley-Blackwell:UK
- Zhou, Li Sheng *et al.* 2012. *Novel fluorescent risedronates: Synthesis, photodynamic inactivation and imaging of Bacillus subtilis*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters : Elsevier