

**SKRIPSI**

**ANALISIS EFEKTIVITAS aPDT DENGAN SUMBER LASER MERAH  
TERHADAP NILAI DENSITAS OPTIK BIOFILM *Staphylococcus  
Epidermidis***

**Disusun oleh**

**ENGGRIANTI**

**H021171015**



**DEPARTEMEN FISIKA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN AL AM**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2022**

**ANALISIS EFEKTIVITAS aPDT DENGAN SUMBER LASER MERAH  
TERHADAP NILAI DENSITAS OPTIK BIOFILM *Staphylococcus  
Epidermidis***

**SKRIPSI**

*Diajukan sebagai Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
pada Program Studi Fisika Departemen Fisika  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin*

**ENGGRIANTI**

**H021171015**

**DEPARTEMEN FISIKA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2022**

LEMBAR PENGESAHAN

ANALISIS EFEKTIVITAS aPDT DENGAN SUMBER LASER MERAH  
TERHADAP NILAI DENSITAS OPTIK BIOFILM *Staphylococcus*  
*Epidermidis*

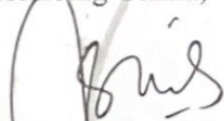
Disusun dan diajukan oleh:

ENGGRTIANTI  
H021 17 1015

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Fisika Fakultas Matematika dan  
Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 02 Februari 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

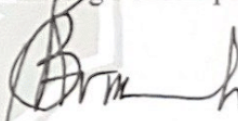
Menyetujui

Pembimbing Utama,



Dr. Sri Dewi Astuti Ilyas, S.Si, M.Si  
NIP. 19750513 199903 2 001

Pembimbing Pendamping,



Dr. Ir. Bidayatul Arminah, M.T  
NIP. 19630830 198903 2 001

Ketua Program Studi,



Prof. Dr. Arifin, MT  
NIP. 19670520 199403 1 002

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Enggrianti  
NIM : H021171015  
Program Studi : Fisika  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**Analisis Efektivitas Apdt Dengan Sumber Laser Merah Terhadap  
Perubahan Nilai Densitas Optik Biofilm *Staphylococcus Epidermidis***

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau seluruh skripsi ini hasil karya orang lain maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 02 Februari 2022

Yang Menyatakan,

  
Enggrianti

## ABSTRAK

Fotoinaktivitas merupakan terapi antimikroba fotodinamik (aPDT) yang merupakan bagian dari (PDT) yang bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba pathogen pemicu penyakit pada tubuh manusia. Fotoinaktivasi yang dikembangkan dalam penelitian telah menggunakan agen fotosensitizer alami yang diekstrak dari tanaman yang mengandung zat antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi panjang gelombang maksimum ekstrak daun Jarak sebagai fotosensitizer dalam aPDT-laser merah dan menganalisis efektifitas aPDT-laser merah terhadap nilai densitas optik.. Metode analisis yang digunakan adalah uji pewarnaan XTT (2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulphophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide) dengan nilai optical density ( $\lambda=490$  nm) sebagai indikator jumlah sel yang masih aktif bermetabolisme. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin lama energi penyinaran dalam fotoinaktivasi semakin mempengaruhi penurunan nilai densitas optik. Uji serapan ekstrak daun Jarak telah diperoleh karakteristik optimum pada  $\lambda_1= 427$  nm  $\lambda_2= 539$  nm  $\lambda_3= 613$  nm dan  $\lambda_4= 669$  nm dan akan efektif bereperan sebagai fotosensitizer jika dikombinasikan dengan dengan sumber cahaya pada  $\lambda_1$  dan  $\lambda_4$ . Optimasi perlakuan PDT-Laser merah-Daun Jarak terhadap biofilm yakni pada biofilm 1 hari dengan penambahan oksigen optimal pada lama paparan 600 detik variasi laser+klorofil 0,828 sedangkan untuk biofilm 3 hari dengan penambahan oksigen variasi laser+klorofil diterapkan perlakuan penyinaran laser dengan E5 dan durasi lama paparan 600 detik 0,519.

**Kata Kunci:** *Staphylococcus epidermidis, Jatropha curcas L, Biofilm*

## ABSTRACT

*Photoinactivity is a photodynamic antimicrobial therapy (aPDT) which is part of (PDT) which aims to inhibit the growth of disease-causing pathogenic microbes in the human body. The photoinactivation developed in this study used a natural photosensitizer agent extracted from plants containing antimicrobial substances. This study aimed to identify the maximum wavelength of Jatropha leaf extract as a photosensitizer in aPDT-red laser and analyze the effectiveness of aPDT-red laser on optical density values. The analytical method used is XTT staining test (2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide) with optical density value ( $\lambda=490$  nm) as an indicator of the amount metabolically active cells. The results obtained indicate that the longer the irradiation energy in photoinactivation, the more it affects the decrease in the optical density value. The absorption test of Jatropha leaf extract has obtained optimum characteristics at  $\lambda_1= 427$  nm  $\lambda_2= 539$  nm  $\lambda_3= 613$  nm and  $\lambda_4= 669$  nm and will effectively act as a photosensitizer when combined with a light source at 1 and 4. Optimization of PDT-Laser red-Jatropha leaves treatment for biofilms, namely the biofilm for 1 day with the addition of optimal oxygen at an exposure length of 600 seconds with laser + chlorophyll variation of 0.828 while for 3-day biofilm with the addition of oxygen with laser + chlorophyll variation, laser irradiation treatment with E5 and duration was applied. exposure time 600 seconds 0.519.*

**Keywords:** *Staphylococcus epidermidis, Jatropha curcas L., Biofilms.*

## KATA PENGANTAR



Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

*Alhamdulillah Rabbil 'alamin*, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya. Tak lupa pula sholawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW beserta para keluarga, para sahabat dan para pengikutnya seluruh umat Islam. Berkat hidayah-Nya yang begitu besar sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “**Analisis Efektivitas Apdt Dengan Sumber Laser Merah Terhadap Perubahan Jumlah Sel Biofilm *Staphylococcus Epidermidis* Dengan Modifikasi Oksigen**” sebagai syarat untuk menyelesaikan studi sarjana di Departemen Fisika Program Studi Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini banyak mengalami kendala, namun berkat bimbingan, bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak sehingga kendala-kendala tersebut dapat diatasi. Penulis mengucapkan beribu-ribu terimakasih kepada kedua orang tua tercinta, **Engge (Alm)** dan **Indo Upe** yang selalu memberikan perhatian, kasih sayang, semangat serta dukungan selama penulis menyusun skripsi ini. Serta ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada saudara tersayang **Henriawan** dan terima kasih kepada paman dan tante tersayang **Supardi** dan **Erna Ningsi** dan yang selalu mendukung dan menjaga saya selama ini.

Penulis juga ingin menyampaikan ucapan terima kasih sebanyak-banyaknya kepada:

1. Ibu **Dr. Sri Dewi Astuty Ilyas, M.Si** selaku Pembimbing Utama dan Ibu **Dr.Ir. Bidayatul Arminah, M.T** selaku Pembimbing Pertama yang telah ikhlas dan sabar memberikan arahan serta masukan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

2. Bapak **Bannu, S.Si., M.Si** dan Ibu **Prof. Dr. Sri Suryani, DE** selaku tim penguji yang telah banyak memberikan saran serta masukan untuk kemajuan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak **Dr. Arifin, M.T** selaku Ketua Departemen serta **Bapak dan ibu Dosen Pengajar Departemen Fisika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin**, terima kasih atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan kepada penulis. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah dilakukan.
4. Bapak/Ibu **Staf Pegawai FMIPA UNHAS**, terutama **staf Departemen Fisika; Pak Syukur, Ibu Rana, Ibu Evi** yang selalu membantu penulis selama berada di kampus.
5. Sahabatku, **Bonte 3000** (Sappe, Flave, Kiki) terima kasih telah bersedia mendengar keluh kesah, selalu siap membantu serta selalu menemani penulis dari awal perkuliahan sampai akhir perkuliahan.
6. Teman-teman seperjuangan di organisasi, Hiper mawa Kom. Gilireng terkhusus **KARAJAE17** dan Himpunan Mahasiswa Fisika (**Himafi**) FMIPA Unhas. Terimakasih telah menemani dan membantu selama berproses dan memberikan banyak pengalaman serta bersama-sama mengukir kisah baru baik di luar lingkungan maupun di dalam lingkungan kampus.
7. Saudara-saudariku, **Fisika 2017** dan **Laboratorium Optik & Spektroskopi (Optik Tamvan & Cantik)** terima kasih telah membuat kenangan bersama, terima kasih atas semua semangat dan hiburan yang telah kita lewati bersama selama ini. Teman-Teman **Pondok Ananda Elektrik (April, wiwi dan Helma)** Terimakasih untuk suka dukanya ngekos bareng.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, namun selalu berkontribusi sehingga skripsi ini dapat terselaikan dengan baik.



## DAFTAR ISI

Dartar Isi.....	i
Daftar Gambar .....	ii
Daftar Tabel.....	iii
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
<b>II.1 Terapi Fotodinamik (PDT) .....</b>	<b>4</b>
<b>II.1.1 Kadar Oksigen Dalam Perlakuan Oksigenasi.....</b>	<b>6</b>
<b>II.2 Mekanisme Fotoinaktivitasi.....</b>	<b>6</b>
<b>II.34 Daun Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas L.</i>) .....</b>	<b>7</b>
<b>II.4 Sumber Cahaya.....</b>	<b>8</b>
<b>II.5 XTT Assay .....</b>	<b>9</b>
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>10</b>
<b>III.1 Waktu dan Tempat.....</b>	<b>10</b>
<b>III.2 Alat dan Bahan .....</b>	<b>10</b>
<b>III.2.1 Alat.....</b>	<b>10</b>
<b>III.2.2 Bahan .....</b>	<b>10</b>
<b>III.3 Prosedur Kerja .....</b>	<b>11</b>
<b>III.3.1 Ekstraksi Daun Jarak .....</b>	<b>11</b>
<b>III.3.2 Uji spektrum Uv-Vis, Uji fitokimia dan uji toksitas             dengan metode zona Bening.....</b>	<b>11</b>
<b>III.3.3 Pemilihan Panjang Gelombang Laser .....</b>	<b>12</b>
<b>III.4 Uji XTT.....</b>	<b>12</b>
<b>III.5 Bagan Alir Penelitian .....</b>	<b>13</b>
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>14</b>
<b>IV.1 Hasil Ekstraksi Daun Jarak Sebagai Fotosensitizer.....</b>	<b>14</b>
<b>IV.2 Karakteristik Serap Daun Jarak .....</b>	<b>14</b>

<b>IV.3 Nilai OD Hasil Fotoaktivasi .....</b>	<b>16</b>
<b>IV.4 Profil Efek Fotoaktivasi .....</b>	<b>23</b>
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
<b>V.1 Kesimpulan .....</b>	<b>26</b>
<b>V.2 Saran.....</b>	<b>26</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>27</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>30</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1 Mekanisme PDT.....</b>	<b>5</b>
<b>Gambar 2.2 Daun Jarak .....</b>	<b>7</b>
<b>Gambar 4.1 spektrum UV-Vis Ekstrak Daun Jarak .....</b>	<b>15</b>
<b>Gambar4.2 Biofilm 1 Hari Tanpa Penambahan Oksigen dan Dengan Penambahan Oksigen .....</b>	<b>19</b>
<b>Gambar 4.3 Biofilm 3 Hari Tanpa Penambahan Oksigen dan Dengan Penambahan Oksigen.....</b>	<b>22</b>
<b>Gambar 4.6 Histogram Tanpa Penambahan Oksigen .....</b>	<b>24</b>
<b>Gambar 4.7 Histogram Dengan Penambahan Oksigen.....</b>	<b>25</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1 Tabel Energi Penyinaran.....</b>	<b>17</b>
<b>Tabel 2 Data OD Pada Biofilm 1 Hari Dengan Variasi Energi Penyinaran dan Perakuan Okseginasi .....</b>	<b>17</b>
<b>Tabel 3 Data OD Pada Biofilm 3 Hari Dengan Variasi Energi Penyinaran dan Perakuan Okseginasi.....</b>	<b>20</b>

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penanganan masalah kesehatan terutama timbulnya penyakit infeksi yang diakibatkan oleh aktivitas mikroorganisme menjadi perhatian khususnya pada pengobatan. Secara konvensional, pengobatan penyakit infeksi hingga di terapi dengan penggunaan obat antibiotik/antimikroba. Pada beberapa kasus, jenis mikroba sangat susah dimusnahkan karena terapi antimikroba kebanyakan berspektrum sempit atau hanya dengan merusak bagian sel tertentu dari suatu mikroorganisme. *Staphylococcus epidermis* menyebabkan pembengkakan seperti jerawat, infeksi pada luka, infeksi saluran kemih dan infeksi ginjal. Penularan penyakit yang disebabkan oleh *staphylococcus epidemidis* dapat melalui kontak dengan peralatan yang terkontaminasi karena memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm di atas permukaan peralatan [1,2].

Penemuan terapi berbasis cahaya menjadi metode alternatif dalam penanganan penyakit infeksi yang disebut fototerapi. Terapi fotodinamik merupakan bentuk fototerapi yang mengkombinasikan fotosensitizer sebagai pengabsorpsi sinar jaringan dengan panjang gelombang yang sesuai kandungan oksigen yang cukup. Ketiganya bekerja secara simultan sehingga jika salah satu faktor tidak ada maka terapi tersebut tidak dapat diterapkan [2].

Penyakit infeksi juga diperparah oleh bentuk fenetik mikroba yang ketika membentuk biofilm. Biofilm merupakan bentuk pertahanan bakteri bertahan dari ancaman fisis, kimiawi dan biologis yang pada akhirnya bakteri bersifat patogen (menimbulkan penyakit) dan menyisakan sel persisten. Secara biokimia, biofilm bekerja dengan menolak aktivitas sistem imun dan menciptakan resistansi terhadap antibiotik. Resistensi akibat keberadaan biofilm menjadi penyebab utama kegagalan penggunaan antibiotik, karena pemakaian antibiotik jangka panjang dan tidak disiplin akan memberikan peluang bakteri lebih cepat berkembang [3,4].

Salah satu metode yang dikembangkan adalah sistem *photodynamic therapy* (PDT) atau khusus dalam penanganan mikroba dikenal dengan istilah

*antimicrobial photodynamic therapy* (aPDT). aPDT menerapkan prinsip fisika yaitu biofotonika yang merupakan interaksi foton cahaya terhadap molekul biologik. Biofotonika dalam aPDT memanfaatkan prinsip transmisi cahaya termasuk mampu menembus kedalaman biofilm di permukaan kulit. Proses terakhir dari aPDT adalah fotobiologi dimana senyawa ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang telah diproduksi mampu mematikan dan merusak sistem metabolisme sel bakteri karena diyakini bersifat reaktif dan sangat toksik [1]. Sifat toksisitas ROS terhadap bakteri patogen bekerja dengan cara menginaktivasi sel bakteri yang menurunkan proses metabolisme dalam pertumbuhannya.

Pada penelitian Astuty tahun 2018 menggunakan laser 450 nm (laser merah) dan 650 nm (laser biru) dengan fotosensitizer papaya dan bakteri *Candida Albicans* menunjukkan bahwa, nilai persen inaktivasi dari perlakuan aPDT dengan laser 450 nm (laser merah) inaktivasi optimum adalah 89,6% tanpa oksigenasi dan 94,8% dengan oksigenasi. Sedangkan dengan laser 650 nm (laser biru) diperoleh inaktivasi optimum sebesar 89,5% tanpa oksigenasi dan 92,3% dengan oksigenasi. [4].

Pada penelitian Astuti tahun 2019 efektivitas laser pada panjang gelombang 405 nm dengan menggunakan endogen sebagai fotosensitizer dan bakteri *Staphylococcus aureus* perbedaan yang signifikan dalam kelangsungan hidup bakteri sebesar 0,00 ( $P < 0,05$ ) pada waktu paparan laser 150 detik, 270 detik dan 240 detik. Waktu pemaparan laser 240 detik dengan densitas energi 55,02 J/cm<sup>2</sup> menghasilkan kelangsungan hidup bakteri terendah sebesar 5,89 log CFU/ml dengan pengurangan reduksi bakteri sebesar 55,22%, [6].

Pada penelitian Tuncan tahun 2019 memperlihatkan efektivitas pada LED merah dengan menggunakan metilen biru dan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aerus* menunjukkan bahwa penghambatan yang nyata yakni (45,4%). Menunjukkan bahwa jumlah sel yang melekat dan massa biofilm berkurang secara nyata setelah pengobatan aPDT. [6].

Berdasarkan dari penelitian di atas, maka peneliti ingin mengkaji efektivitas aPDT terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan sumber cahaya berupa laser merah dengan panjang gelombang 650

nm. Molekul fotosensitizer yang diaplikasikan dalam penelitian berasal dari ekstrak daun Jarak (*Jatropha curcas L.*) yang diisolasi hingga menghasilkan senyawa klorofil. Penelitian difokuskan pada perbedaan jumlah sel biofilm bakteri *S. epidermidis* yang masih hidup setelah diaplikasikan molekul fotosensitizer klorofil daun Jarak dan penyinaran dengan laser merah, untuk akurasi analisis, dan melihat nilai signifikansi semua perlakuan dan kelompok sampel yang menjadi target penelitian.

### **I.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana sifat antimikroba ekstrak daun Jarak (*Jatropha curcas L.*) sebagai fotosensitizer ?
2. Bagaimana efektivitas aPDT-laser merah-oksigenasi dengan penggunaan ekstrak daun jarak sebagai fotosensitizer terhadap sel biofilm *Staphylococcus epidermidis* ?

### **I.3 Tujuan penelitian**

1. Mengidentifikasi  $\lambda$  maksimum ekstrak daun jarak sebagai fotosensitizer dalam aPDT-laser merah?.
2. Menganalisis efektivitas aPDT-laser merah terhadap nilai perbandingan densitas optik terhadap sel biofilm *Staphylococcus epidermidis* yang masih bertahan hidup?

## **BAB II**

### **TINJAUN PUSTAKA**

#### **II.1. *Photodynamic Therapy* (PDT)**

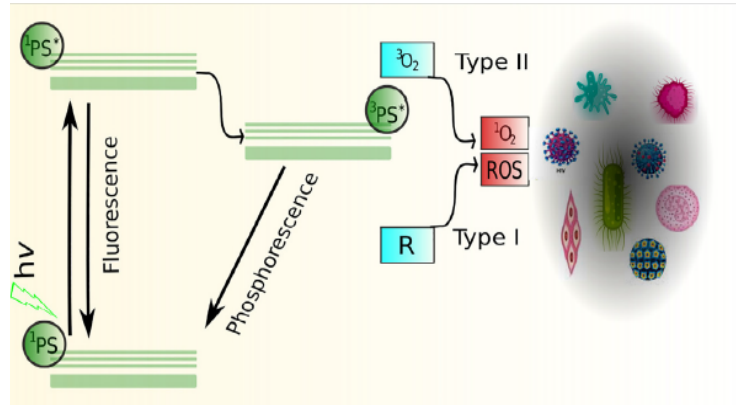
*Photodynamic Therapy* (PDT) adalah pengobatan medis yang memanfaatkan cahaya untuk mengaktifkan agen fotosensitizer dengan radiasi dari panjang gelombang yang konsisten dengan spektrum penyerapannya dengan adanya molekul oksigen. Paparan cahaya ke hasil fotosensitizer membentuk spesies oksigen, seperti oksigen *singlet* dan radikal bebas, menyebabkan kerusakan pada foton lokal dan kematian sel. PDT antimikroba juga dikenal sebagai inaktivitas fotodinamik. Terapi fotodinamik mewakili sebuah pengobatan alternatif antibakteri, anti jamur, dan antivirus untuk organisme yang resisten terhadap obat dan bakteri gram-positif sangat rentan terhadap aPDT [7, 8].

PDT mampu membuat sensitisasi sel bakteri, sehingga menunjukkan keberhasilan antimikroba aktivitas. Inaktivasi fotodinamik bakteri didasarkan pada premis bahwa fotosensitizer dapat terakumulasi jika melewati membran sitoplasma ke tingkat yang signifikan, yang adalah target penting untuk menginduksi kerusakan permanen pada bakteri setelah penyinaran. Namun, kemanjuran PDT tergantung pada beberapa faktor, seperti panjang gelombang dan interaksinya dengan fotosensitizer, daya keluaran, lama penyinaran waktu, diameter balok, mode operasi cahaya sumber (kontinu atau berdenyut) dan konvergensi balok (fokus atau tidak fokus) [16].

Sumber cahaya merah (630-700 nm) telah digunakan secara luas di PDT karena panjang gelombangnya yang relatif panjang, yang dapat secara efektif menembus jaringan biologis. Literatur ilmiah melaporkan bahwa interaksi antara sumber cahaya ini dan fotosensitizer yang menyerap pada panjang gelombang ini, seperti metilen biru (MB), *toluidine blue ortho* (TBO) dan malachite green (MG), dapat menghasilkan pembunuhan mikroba yang signifikan. PDT harus dilokalisasi ketika tanpa adanya cahaya, tidak ada aktivasi fotosensitizer dan tidak ada pembunuhan sel, fotosensitizer yang ideal harus ada toksisitas gelap rendah tidak berbahaya bagi sel target sampai perawatan ringan diterapkan. Oleh karena itu,



mengevaluasi fotosensitizer dalam kondisi eksperimental standar, dengan menggunakan molar yang sama [16].



**Gambar 2.1** Mekanisme PDT [8].

Pada **Gambar 2.1** Molekul menyerap energi foton dari keadaan dasar  $^1PS$  ke keadaan tereksitasi *singlet* terendah  $^1PS$ . Status  $^1PS$  bisa membuat transisi radiasi kembali ke  $^1PS$  pada skala waktu nanodetik. Itu juga dapat membuat intersistem tanpa radiasi menyeberang ke keadaan tereksitasi triplet terendah  $^3PS$ . Dari  $^3PS$  ada dua jalur yang mungkin: Dapat kembali ke  $^1PS$  secara langsung dengan memancarkan *phosphorescence* atau melepaskan energinya, yang ditransfer ke oksigen atau keadaan triplet lainnya [8].

Radikal bebas adalah molekul, atom, atau gugus yang memiliki 1 atau lebih elektron tidak berpasangan di kulit terluarnya, membuatnya sangat reaktif, dan radikal seperti radikal bebas turunan oksigen reaktif (spesies oksigen reaktif). Ada banyak jenis radikal bebas, tetapi yang paling melimpah dalam sistem biologis tubuh adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) [1].

Ketika sinar cahaya mengenai media seperti jaringan biomolekuler, cahaya biasanya diserap, dipantulkan, dibiaskan atau dihamburkan. Pemantulan terjadi pada permukaan antara dua penyangga sedangkan pembiasan cahaya melalui penyangga bervariasi sesuai dengan kerapatan optik kisi. Hamburan cahaya pada jaringan target mempengaruhi intensitas cahaya dan arah penyinaran pada target.

Penyerapan foton cahaya merupakan interaksi yang paling dominan dalam fotoaktivitas menurut hukum Lambert-Beer [24].

### **II.1.1 Kadar Oksigen Dalam Perlakuan Oksigenasi**

Oksigenasi merupakan proses penambahan oksigen ke dalam suatu sistem untuk meningkatkan konsentrasi oksigen di dalam sistem. Oksigen merupakan gas yang tidak berwarna dan tidak berbau yang sangat dibutuhkan dalam proses metabolisme suatu sel. Zona oksigen dalam PDT sangat diperlukan untuk aktivitas dan metabolisme sel mikroba. Antifungi hanya direspon oleh mikroba yang terdapat dalam zona oksigen, tetapi mikroba yang tertanam hingga di dasar biofilm tidak mampu dijangkau oleh aktivitas antifungi sehingga masih dapat bertahan hidup. Konsep mekanisme fotodinamik yakni, kebutuhan oksigen sangat diperlukan untuk menghasilkan sejumlah senyawa radikal melalui fotokimia. Molekul oksigen di sekitar jaringan umumnya berada pada tingkat *triplet*, sehingga ketika molekul fotosensitizer yang tereksitasi akan bereaksi dengan molekul oksigen di tingkat *triplet* [20].

Ketika sinar cahaya mengenai media seperti jaringan biomolekuler, cahaya diserap, dipantulkan, dibiaskan atau dihamburkan. Pemantulan terjadi pada permukaan antara dua penyangga sedangkan pembiasan cahaya melalui penyangga bervariasi sesuai dengan kerapatan optik kisi. Proses pembiasan dan pemantulan cahaya mengikuti Hukum Snell dan Hukum Fresnel, yang dapat diminimalkan dengan menerapkan cahaya tegak lurus terhadap target, sedangkan hamburan cahaya pada jaringan target mempengaruhi intensitas cahaya dan arah penyinaran pada target. Penyerapan foton cahaya merupakan interaksi yang paling dominan dalam fotoaktivitas menurut hukum Lambert-Beer [21].

## **II. 2 Mekanisme Fotoinaktivasi**

Fotoinaktivasi adalah metode penghambatan aktivitas metabolisme sel yang memanfaatkan interaksi cahaya dengan molekul fotosensitizer sehingga menyebabkan kematian sel bakteri. Hal ini dimanfaatkan untuk menghancurkan sel target dengan cara oksidasi yang menyebabkan lisis sel dan inaktivasi protein membran. *Photodynamic Inactivation* (PDI) memiliki tiga komponen utama, yaitu

cahaya, fotosensitizer serta oksigen. Fotosensitizer adalah suatu molekul yang bersifat peka terhadap cahaya. Interaksi antara cahaya dengan fotosensitizer terjadi jika adanya kesesuaian antara panjang gelombang sumber cahaya. Interaksi keduanya mampu menyebabkan elektron pada fotosensitizer tereksitasi sehingga menyebabkan ketidakstabilan. Elektron yang tidak stabil memiliki kecenderungan untuk kembali ke kondisi semula. Jika molekul fotosensitizer berinteraksi dengan oksigen menyebabkan terbentuknya ROS (*Reactive Oxygen Species*) [9].

Fotosensitizer dibagi menjadi 2 yaitu fotosensitizer endogen dan eksogen. Secara alamiah, bakteri mempunyai senyawa porfirin sebagai fotosensitizer endogen yang peka terhadap cahaya. Penyinaran cahaya dengan spektrum panjang gelombang yang sesuai dengan spektrum serap fotosensitizer porfirin serta dosis energi penyinaran yang tepat mampu menyebabkan fotoinaktivasi sel bakteri sedangkan fotosensitizer eksogen adalah molekul yang berupa bahan metal, organik atau logam yang ditambahkan fotosensitizer [9].

### II.3 Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*)

Jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) merupakan salah satu tanaman yang diunggulkan di Indonesia sebagai penghasil minyak untuk biodiesel [11]. Jarak pagar atau *Jatropha curcas L* merupakan tanaman herbal yang memiliki aktivitas antimikroba. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba ekstrak bagian tanaman jarak pagar terkait dengan adanya senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya [18]. Berdasarkan uji fitokimia penelitian tersebut diketahui bahwa dalam tanaman jarak mengandung *saponin*, *steroids*, *glycoside*, dan *tanin* yang berbeda dari setiap bagian tanamannya dan kandungan zat-zat tersebutlah yang membuat *Jatropha curcas L.* mempunyai fungsi sebagai antimikroba [19].



**Gambar 2.2** Daun Jarak

Tanaman jarak (*Jatropha Curcas L.*) telah banyak digunakan masyarakat sebagai obat tradisional terutama pada daunnya. Secara tradisional, tanaman ini digunakan sebagai obat demam, obat kulit, obat sakit gigi, obat sariawan, obat luka, obat rematik, obat batuk, perut kembung dan banyak khasiat lainnya [14]. Daun tanaman jarak digunakan sebagai obat infeksi kulit, bijinya digunakan untuk sembelit, mengobati kanker serviks, dan infeksi jamur. Selain sebagai obat tradisional, Daun jarak digunakan untuk histamin pencegahan keracunan. Pada daun jarak terdapat alkaloid yang dapat mempengaruhi atau menghambat pertumbuhan antimikroba [14].

Karakteristik daun ditentukan oleh perkembangan daun (umur daun, posisi daun dan pola penyebaran daun) yang dapat mempengaruhi kemampuan fotosintesis tanaman. Karakteristik daun tersebut akan mempengaruhi efisiensi pemanfaatan cahaya oleh daun. Cahaya yang diterima pada permukaan daun terdiri dari empat komponen, yaitu cahaya langsung, cahaya difus, cahaya refleksi, dan cahaya transisi. Cahaya langsung banyak diperoleh oleh daun yang berada pada lapisan kanopi atas (yang tidak ternaungi) sedangkan daun-daun bagian bawah memperoleh cahaya tidak langsung dalam bentuk cahaya difus, cahaya yang direfleksikan dan ditransmisikan oleh daun lain [13]. Untuk menentukan total klorofil daun jarak dapat dilakukan pada persamaan berikut:

$$\left(\frac{mg}{L}\right) = (20,2 \times A_{645}) + (8,02 \times A_{663}) \quad (1)$$

#### II. 4 Sumber Cahaya

Salah satu sumber cahaya yang banyak dikembangkan dalam fotoaktivasi adalah laser. Laser merupakan singkatan dari kata *Light Amplification By Stimulated Emission Of Radiation*. Yang berarti menghasilkan sumber cahaya dengan intensitas yang besar dan fase kohoren. Dasar teori laser mula-mula dicetuskan oleh *Albert Einstein* (1917-1960). Sinar laser merupakan sumber cahaya yang diemisi sebagai berkas cahaya yang monokromatis yang masing-masing satu gelombang dalam satu fase bersama-sama dengan berkas cahaya yang lainnya yang berdekatan (cahaya kohoren) dan *parallel*. Sinar laser dapat difokuskan pada suatu titik yang berdiameter beberapa mikron saja [12].

Salah satu parameter fisis yang harus diperhatikan dalam pemanfaatan sistem fotoinaktivasi agar terjadi efek absorpsi yang maksimal adalah kesesuaian panjang gelombang antara fotosensitizer dengan sumber cahaya yang akan digunakan. Kesesuaian ini didasarkan pada tingkat absorpsivitas maksimal dari fotosensitizer untuk memilih panjang gelombang cahaya yang tepat. Dalam teori gelombang, energi berbanding terbalik dengan panjang gelombang dan panjang gelombang yang tinggi memiliki daya penetrasi yang kuat. Molekul yang menyerap cahaya biru akan mengalami transisi elektronik hingga ke tingkat eksitasi S2 sedangkan molekul yang menyerap cahaya merah hanya dapat mencapai eksitasi elektronik hingga ke tingkat eksitasi S1. Panjang gelombang yang lebih tinggi memiliki jarak jangkauan yang lebih panjang sehingga sifat penetrasinya ke dalam jaringan lebih dalam [20]. Analisis persen inaktivasi menggunakan nilai OD semua kelompok perlakuan dari hasil fotoinaktivasi, dapat ditentukan dengan konsentrasi inaktivasi menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ inaktivasi} = \left| \frac{OD_{\text{kontrol}} - OD_{\text{perlakuan}}}{OD_{\text{kontrol}}} \right| \times 100 \quad (2)$$

## II.5 XTT Assay

XTT ((2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide) merupakan senyawa tetrazolium yang digunakan untuk mendeteksi sel yang hidup. XTT bermuatan negatif dan tidak mudah menembus sel. Biasanya digunakan dengan *aeakseptor* elektron menengah yang dapat mentransfer elektron dari sitoplasma atau membran plasma untuk memfasilitasi pengurangan tetrazolium ke dalam produk formazan berwarna. XTT dikembangkan dengan memperkenalkan muatan negatif dan positif dan gugus hidrosi ke cincin fenil garam tetrazolium atau lebih baik dengan gugus sulfonat yang ditambahkan secara langsung ke cincin fenil dengan formazan yang sesuai dan larut dalam air [15].