

SKRIPSI

**ANALISIS REDUKSI VIABILITAS BAKTERI *Streptococcus mutans*
HASIL FOTOINAKTIVASI LASER DIODE KOMBINASI KLOOROFIL
DAUN MENGGKUDU (*Morinda citrifolia L.*) DENGAN METODE XTT
ASSAY**

Disusun dan diajukan oleh

FIKHRI ASTINA TASMARA

H021 17 1303



**DEPARTEMEN FISIKA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**ANALISIS REDUKSI VIABILITAS BAKTERI *Streptococcus mutans*
HASIL FOTOINAKTIVASI LASER DIODE KOMBINASI KLOROFIL
DAUN MENGGKUDU (*Morinda citrifolia L.*) DENGAN METODE XTT
ASSAY**

SKRIPSI

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

FIKHRI ASTINA TASMARA

H021171303

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

2021

LEMBAR PENGESAHAN

ANALISIS REDUKSI VIABILITAS BAKTERI *Streptococcus mutans*
HASIL FOTOINAKTIVASI LASER DIODE KOMBINASI KLOROFIL
DAUN MENGGKUDU (*Morinda citrifolia L.*) DENGAN METODE XTT
ASSAY

Disusun dan diajukan oleh:

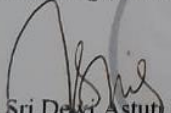
FIKHRI ASTINA TASMARA

H021 17 1303

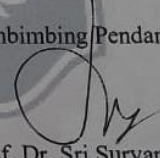
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Fisika Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal 09 Maret 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui


Pembimbing Utama,


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

Pembimbing Pendamping,


Prof. Dr. Sri Suryani, DEA
NIP. 19580508 198312 2 001

Ketua Program Studi,


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

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fikhri Astina Tasmara
NIM : H021171303
Program Studi : Fisika
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**Analisis Reduksi Viabilitas Bakteri *Streptococcus mutans* Hasil
Fotoinaktivasi Laser Diode Kombinasi Klorofil Daun Mengkudu
(*Morinda citrifolia* L.) dengan Metode XTT Assay**

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, 09 Maret 2021



; Menyatakan,

Fikhri Astina Tamara

ABSTRAK

Penghambatan pertumbuhan mikroba patogen *Streptococcus mutans* dengan mekanisme fisika telah dikembangkan melalui metode *antimicrobial Photodynamic Therapy* (aPDT). Mekanisme kerja dari fotoinaktivasi bergantung pada fotosensitizer (PS) dan cahaya tampak yang menyamai spektrum penyerapan PS. Fotosensitizer yang terlokalisasi pada jaringan/sel tertentu akan diaktivasi oleh cahaya dengan panjang gelombang yang sesuai dan akan meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat memicu kerusakan pada lipid, DNA, serta kematian sel pada mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis reduksi viabilitas bakteri *Streptococcus mutans* setelah perlakuan fotoinaktivasi dengan fotosensitizer daun mengkudu yang dilanjutkan dengan penyinaran menggunakan laser biru 450 nm dengan berbagai lama waktu penyinaran. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa efek reduksi minimal dari fotoinaktivasi ialah 35,88% dengan lama waktu penyinaran satu menit dan efek reduksi meningkat signifikan sebesar 50,23% dengan lama waktu penyinaran lima menit. Berdasarkan hasil yang diperoleh, lama penyinaran berbanding lurus dengan peningkatan presentasi penghambatan mekanisme aPDT terhadap *Streptococcus mutans*.

Kata Kunci: fotodinamik terapi, daun mengkudu, fotoinaktivasi, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The inhibition of pathogenic microbial *Streptococcus mutans* growth by physical mechanisms has been developed through the method of antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT). The mechanism of photoinactivation depends on the photosensitizer (PS) and visible light which equals to the PS absorption spectrum. The photosensitizers that are localized at a certain tissues / cells will be activated by light with the appropriate wavelength and will increase the production of Reactive Oxygen Species (ROS) which can cause damage to the lipids, DNA, and cell death in microorganisms. This study aims to analyze the reduction in viability of *Streptococcus mutans* after photoinactivation treatment with noni leaf photosensitizer followed by irradiation using a 450 nm blue laser with various lengths of exposure time. The results obtained showed that the minimal reduction effect of photoinactivation was 35.88% with a one-minute irradiation time and the reduction effect was significantly increased by 50.23% with a five-minute irradiation time. Based on the results obtained, the duration of exposure is directly proportional to the increase in the presentation of the inhibition of the aPDT mechanism against *Streptococcus mutans*.

Keywords: *photodynamic therapy, noni leaf, photoinactivation, Streptococcus mutans.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “**Analisis Reduksi Viabilitas Bakteri *Streptococcus mutans* Hasil Fotoinaktivasi Laser Diode Kombinasi Klorofil Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dengan Metode XTT Assay**” yang merupakan syarat dalam menyelesaikan studi pada Departemen Fisika Program Studi Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Dalam penyelesaian skripsi penulis telah mengalami berbagai hambatan dan menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, hal ini terjadi karena keterbatasan pengetahuan yang dimiliki oleh penulis. Namun atas kehendak-Nya hambatan tersebut berhasil dilalui oleh penulis sehingga penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan. Dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan banyak terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Keluarga tercinta, terkhusus kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda **Alm. Jasman Naharuddin** dan Ibunda **Sulastri** yang selalu memberikan kasih sayang, perhatian, semangat, dan dukungan baik secara moral maupun secara materi kepada penulis, serta ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada kakak terkasih **Gemala Hardinasinta (cinggu)** yang telah memberikan hiburan, menemani dan mendukung penulis hingga sekarang, serta menjadi teman berkelahi bagi penulis. Semoga Allah senantiasa memberi kesehatan dan meridhai untuk penulis senantiasa membahagiakan dan membanggakan beliau.
2. **Dr. Sri Dewi Astuty Ilyas, S. Si, M. Si** selaku Dosen Penasehat Akademik sekaligus Pembimbing Utama dan **Prof. Dr. Sri Suryani, DEA** selaku Dosen Pembimbing Pertama yang telah banyak membimbing dan meluangkan waktu, tenaga, serta pemikirannya untuk penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

3. Bapak **Bannu, S. Si., M. Si** dan Bapak **Eko Juarlin, S. Si, M. Si** selaku Tim Penguji yang telah banyak meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan ilmu, saran, dan diskusi dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. **Prof. Dr. Arifin, MT** selaku Ketua Departemen serta **Bapak dan Ibu Dosen Pengajar Departemen Fisika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin**, terima kasih atas ilmu dan bimbingannya selama ini. Semoga hasil ajaran Bapak/Ibu selalu memberikan manfaat bagi setiap orang.
5. Bapak/Ibu **Staf Pegawai FMIPA UNHAS**, terutama **Staf Departemen Fisika; Pak Syukur, Ibu Evi dan Ibu Rana** yang selalu membantu penulis selama berada di kampus.
6. Karibku, Asosiasi Wanita (**Uci, Rahmah, Asni, Ola, Owel, Cinday**) terima kasih banyak atas segala rangkulan, genggamannya, tawa, motivasi dan pemakluman terhadap sikapku selama ini.
7. Para pendengarku (**Syifa Maulidah, Zahra, Fadil, Trisna, Evita**) terima kasih karena telah repot mendengarkan dan menanggapi cerita dan keluh kesah yang tak ada habisnya dari diriku ini.
8. Lembagaku, **Himpunan Mahasiswa Fisika (Himafi) FMIPA Unhas** terima kasih telah membentuk karakter **keras, kuat, cerdas dan berani** di dalam diri saya, serta memperkenalkan dan mengajarkan banyak hal baru sejak saya menjadi mahasiswa baru hingga saat ini.
9. Saudara tak sedaraku, **Himafi 2017** terima kasih kepada **80 orang hebat** yang selalu ada baik suka maupun duka, segala supportnya, kebersamaannya, dan segalanya yang tidak bisa disebutkan satu – persatu. Saya sangat bersyukur menjadi salah satu bagian dari kalian. Semoga tetap **Teguh dalam Keyakinan, Kukuh dalam Kebersamaan**.
10. Teman-teman seperjuangan **Fisika angkatan 2017** dan **Laboratorium Optik & Spektroskopi** (Optik Cantik & Tamvan) yang tidak sempat kudebutkan satu – persatu namanya, banyak cerita telah dilalui bersama semoga menjadi kenangan indah untuk kita semua. Bersama-sama dari maba, hingga sekarang satu persatu telah menyelesaikan masa studinya. Semoga kita semua sukses dimasa mendatang dan silaturahmi diantara kita tetap terjalin.

11. **Kanda – kanda Himafi 2015** dan **Kanda – kanda Himafi 2016** yang telah banyak memberikan arahan dan masukan selama saya menjadi mahasiswa, baik akademik maupun non-akademik.
12. Adik – adik yang tak sedarah, **Himafi 2018** (Dena, Nunu, Milen, Yesi, Wibu, Azlan, Syahrul, Zefanya, Iis, Bonca dan adik – adik yang belum sempat disebutkan namanya); **Himafi 2019**, terima kasih atas dukungan dan motivasi yang diberikan.
13. Penghuni grup **SukaSibuk** yang telah bersama selama kurang lebih 7 tahun dalam lingkaran pertemanan.
14. Teman-teman KKN-ku, Zona Biringkanaya 3 (**Nurul, Ira, Fitri, Erika, Nanda**) yang selalu ada ketika dibutuhkan dan selalu memberikan tawa.
15. Para pelipur lara dan penggugur stress, terkhusus (**Off, Gun, Tay, New, Singto, Krist**) dan rekan lain yang belum sempat saya sebutkan namanya.
16. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan kontribusi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Makassar, 09 Maret 2021

Fikhri Astina Tasmara

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK	v
<i>ABSTRACT</i>	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
I. PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Karies Gigi	4
II.2 <i>Streptococcus mutans</i> (<i>S. mutans</i>)	4
II.3 Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT)	4
II.4 Fotosensitizer Klorofil Daun Mengkudu (<i>Morinda citrifolia L.</i>)	6
III. METODOLOGI PENELITIAN	8
III.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian	8
III.2 Alat dan Bahan	8
III.3 Prosedur Kerja	9
III.4 Bagan Alir Penelitian	11

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
IV.1 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Terhadap Bakteri <i>S.mutans</i>	12
IV.2 Profil Serapan Ekstrak Terhadap Laser Biru 415 nm	15
IV.3 Hasil Perlakuan Fotoinaktivasi	16
V. PENUTUP	20
V.1 Kesimpulan	20
V.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema Proses Fotodinamik terapi	5
Gambar 4.1 Uji Toksisitas Ekstrak Klorofil Terhadap Antibiotik dan Kontrol Negatif	12
Gambar 4.2 Uji Toksisitas Ekstrak Klorofil Berbagai Konsentrasi Terhadap Kultur Bakteri <i>S.mutans</i>	13
Gambar 4.3 Grafik Spektrum Absorbansi Maksimum Klorofil pada Konsentrasi Ekstrak 2 mg/ml	15
Gambar 4.4 Grafik Penurunan Nilai OD 450 pada Bakteri <i>S.mutans</i> Setelah Perlakuan Fotoinaktivasi	16
Gambar 4.5 Grafik Persen Inhibisi Kelompok Perlakuan (L+P+) Terhadap Lama Waktu Penyinaran	18

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kelompok Perlakuan Sampel	10
Tabel 4.1 Diameter Zona Bening Ekstrak Daun Mengkudu	14

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Streptococcus mutans (*S. mutans*) adalah bakteri anaerob yang terdapat di rongga mulut dan merupakan penyebab utama kerusakan gigi pada manusia. *S. mutans* dapat merusak enamel gigi melalui fermentasi sukrosa dan produksi asam laktat. Bakteri *Streptococcus* pada permukaan plak gigi dapat menyusun substansi dasar yang kuat untuk ikatan bakteri kariogenik lainnya [1].

Upaya untuk mengurangi jumlah bakteri *S. mutans* pada rongga mulut telah banyak dilakukan, diantaranya seperti menyikat gigi dan berkumur dengan antiseptik. Namun, penggunaan obat kumur secara terus – menerus memiliki efek samping seperti rasa pahit di mulut dan pewarnaan pada permukaan gigi [1]. Adanya efek samping dari antibiotik mendorong dikembangkannya strategi pengobatan baru yang memungkinkan pengurangan bakteri dan menghindari bakteri bersifat patogen [2]. Penghambatan pertumbuhan mikroba patogen melalui mekanisme fisika juga telah dikembangkan melalui metode fotodinamik yang disebut *antimicrobial Photodynamic Therapy* (aPDT) atau fotoinaktivasi antimikroba [3].

Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT), adalah perawatan klinis non-invasif dan sangat selektif untuk menghilangkan mikroorganisme di dalam rongga mulut. aPDT bergantung pada tiga komponen: fotosensitizer (PS), cahaya tampak yang menyamai spektrum penyerapan PS, dan oksigen monokuler endogen. Fotosensitizer yang terlokalisasi pada jaringan/sel tertentu akan diaktivasi oleh cahaya dengan panjang gelombang yang sesuai dan akan meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS melalui proses fotokimia dapat memicu kerusakan pada lipid, DNA, serta kematian sel pada mikroorganisme [4,5].

Penelitian – penelitian sebelumnya telah menggunakan fotosensitizer Kurkumin yang dikombinasikan dengan laser 445 nm dan *Klorofilin-Phycocyanin* (CHL-PC) dengan laser 635nm untuk penanganan bakteri *S. mutans* pada rongga mulut [2,4]. Perlakuan fotoinaktivasi juga telah digunakan pada bakteri

Candida albicans dengan nilai reduksi maksimum 32% (dengan klorofil) dan 25% (tanpa klorofil) [6]. Penggunaan laser yang dikombinasikan dengan ekstrak klorofil daun pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki efektivitas sebesar 65% pada bakteri *Candida albicans* [7]. Penelitian lainnya pada bakteri *Candida albicans* menghasilkan nilai optimal inaktivasi sebesar 89,6% (tanpa oksigenasi) dan 94,8% (dengan oksigenasi) setelah penyinaran dengan laser 450 nm [8]. Perlakuan aPDT pada bakteri *S.aureus* dengan menggunakan ekstrak Kurkumin sebagai fotosensitizer, meningkatkan presentasi kematian bakteri sebanyak $(91,49 \pm 0,01)\%$ [9].

Agen fotosensitizer yang telah diaktivasi oleh cahaya akan memproduksi senyawa ROS maupun senyawa radikal melalui reaksi kimia dengan molekul oksigen sel target. Senyawa ROS diyakini bersifat reaktif dan toksik sehingga mampu mematikan sel mikroba patogen melalui penghancuran metabolisme sel dan pemutusan rantai DNA sel [2,4]. Klorofil (CHL) adalah pigmen fotosintesis yang jika diaktivasi dengan cahaya 400-600 nm dapat meningkatkan produksi ROS terutama oksigen singlet [10]. Klorofil banyak terdapat pada tumbuhan hijau, salah satunya pada daun mengkudu yang dikenal sebagai obat tradisional dimana kandungan klorofil pada daun mengkudu telah terbukti sebagai antioksidan, anti inflamasi dan menurunkan tekanan darah [3,10].

Manfaat dari penelitian ini adalah menemukan karakteristik daun mengkudu berdasarkan sifat serapannya terhadap cahaya serta menentukan persentasi potensi daun mengkudu sebagai agen fotosensitizer organik. Penelitian ini difokuskan pada uji viabilitas atau uji jumlah sel bakteri *Streptococcus mutans* yang masih bertahan hidup setelah diberikan perlakuan aPDT, sedangkan klorofil yang digunakan sebagai fotosensitizer diperoleh dari ekstrak daun mengkudu. Efektivitas aPDT dalam penelitian ini didasarkan pada dua kategori yaitu berdasarkan durasi penyinaran dengan laser serta pada perbandingan kelompok yang menggunakan klorofil dengan yang tidak menggunakan klorofil.

I.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana perubahan nilai densitas optik (OD) terhadap viabilitas sel dengan metode XTT assay?
2. Bagaimana efek toksisitas fotoinaktivasi terhadap lama waktu penyinaran dan terhadap kelompok perlakuan dengan atau tanpa klorofil?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi perubahan nilai densitas optik (OD) sebagai indikator sel hidup atau viabilitas sel dengan metode XTT assay.
2. Menganalisis efek toksisitas melalui perhitungan persentase fotoinaktivasi bakteri terhadap lama waktu penyinaran dan terhadap kelompok perlakuan dengan atau tanpa klorofil.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Karies Gigi

Karies gigi merupakan salah satu penyakit kronis paling umum di dunia saat ini, yang berdampak sebesar 60-90% anak-anak sekolah dan hampir 100% dari orang dewasa dapat mengalaminya [11]. Penyakit ini menyerang jaringan keras gigi yang ditandai dengan rusaknya enamel (email) dan dentin pada gigi [12]. Kerusakan pada email dan dentin gigi terjadi karena interaksi antara karbohidrat terfermentasi dengan bakteri penghasil asam, seperti *Streptococcus (S.) mutans* yang tersusun menjadi biofilm [11].

II.2 *Streptococcus mutans* (S. mutans)

Streptococcus mutans adalah mikroba patogen paling utama ditemukan dalam biofilm yang melukai *veneer* gigi (warna, bentuk, dan posisi gigi). Patogenisitas bakteri ini dipengaruhi oleh kondisi inangnya dan ditingkatkan oleh pembentukan biofilm [13]. Biofilm adalah kumpulan bakteri yang tidak bergerak bebas dan hanya dapat hidup melekat pada substrat, dimana bakteri ini mengekskresi substansi polimer ekstraseluler (ESP) yang bertujuan sebagai resistensi terhadap agen anti biofilm [14]. *S. mutans* biasanya berada pada biofilm yang kompleks. Bakteri ini memproduksi glukosa dalam jumlah besar yang membantu dalam proses adesi [15]. Pada penelitian ini, bakteri yang digunakan diukur menggunakan standar kekeruhan bakteri McFarland yang didapatkan melalui pengenceran bakteri hingga setara dengan nilai absorbansi sebesar 0,191 [16].

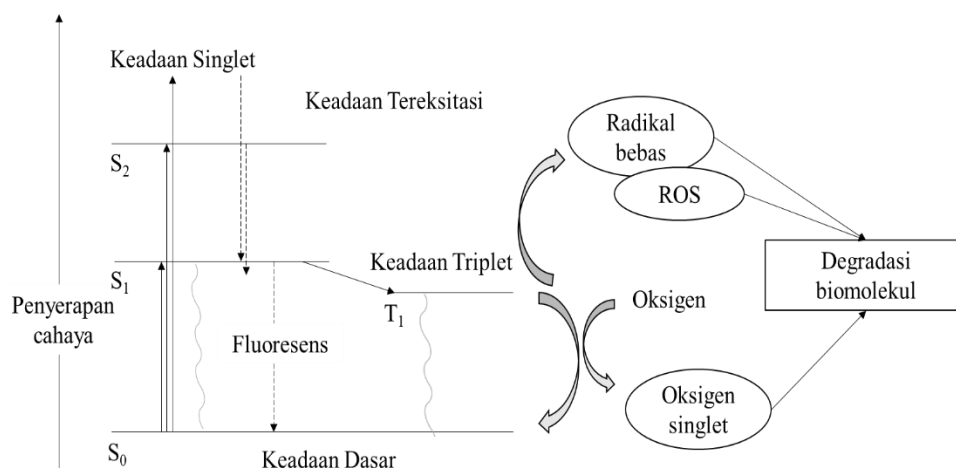
II.3 *Antimicrobial Photodynamic Therapy* (aPDT)

Beberapa metode telah dilakukan sebagai upaya untuk menghilangkan bakteri dan pencegahan terhadap efeknya, di antaranya adalah system perangkat anti bakteri dan bahan restorasi, etsa asam, disinfektan rongga, serta penggunaan laser dan ozon. Biasanya, disinfektan yang digunakan berupa *chlorhexidine*

(CHX) *digluconate*, *disodium ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) *dihydrate*, *sodium hypochlorite* (NaOCl), *hydrogen peroxide*, dan *iodine* digunakan untuk menghilangkan bakteri yang tertinggal dalam rongga mulut [11].

Penggunaan disinfeksi fotoaktif sebagai metode penghapusan bakteri pada rongga mulut merupakan teknik yang sangat populer digunakan belakangan ini. Metode ini dikenal dengan nama *antimicrobial photodynamic therapy* (aPDT) [11]. Secara sederhana, aPDT digunakan untuk memerantas bakteri yang terdapat dalam media kultur. Ini perlu untuk menentukan target mikroorganisme dengan salah satu jenis fotosensitizer yang akan diradiasi dengan panjang gelombang tertentu. Pada kasus ini target utama dari aPDT adalah bakteri patogen periodontal, termasuk bakteri *S.mutans* [15, 17].

PDT melibatkan penyampaian cahaya tampak pada panjang gelombang tertentu untuk mengaktifkan fotosensitizer (PS) tidak beracun yang melibatkan oksigen disekitarnya. Fotosensitizer tidak beracun ini menyerap foton-foton cahaya dengan panjang gelombang tertentu. Pengaktifan fotosensitizer oleh cahaya dan proses reaksi kimia dengan oksigen, akan memicu terbentuknya radikal bebas atau ROS seperti *hydroxyl radicals* ($\text{OH}\cdot$), *hydrogen peroxide* (H_2O_2) dan *superoxide* (O^{2-}). *Reaktif oksigen spesies* (ROS) memiliki sifat yang sangat beracun dan reaktif akan menyebabkan kerusakan hingga kematian pada sel dengan menyerang membran lipid, protein, asam nukleus dan komponen sel lainnya [14].



Gambar 2.1 Skema proses fotodinamik terapi [18]

Interaksi yang terjadi antar molekul dalam hal ini fotosensitizer dengan cahaya pada dasarnya merupakan reaksi kimia yang terbentuk setelah molekul menyerap energi foton dan melewati proses fotofisika. Berikut merupakan skema proses fotofisika pembentukan senyawa ROS [3].

Gambar 2.1 menjelaskan bahwa molekul yang berinteraksi dengan cahaya pada panjang gelombang tertentu akan tereksitasi dari *ground state* ke *singlet state*. Pada kondisi *singlet state* cenderung tidak stabil karena molekul memiliki kelebihan energi dan berusaha menstabilkan diri melalui proses *vibration relaxation* (VR), *internal conversion* (IC), dan atau *intersystem crossing* (ICS) ke tingkat *triplet state* sebelum kembali ke keadaan semula yaitu ke tingkat energi dasar. Dalam proses kembali ke *ground state*, molekul dapat menghasilkan emisi fluoresen dan fosforesen. Pada kondisi *triplet state*, molekul memiliki cukup waktu untuk berinteraksi dengan molekul lain seperti molekul oksigen yang terdapat disekitar sel target. Pengurangan energi di *tingkat triplet* melalui reaksi kimia dengan molekul oksigen dapat terjadi dalam dua cara yaitu transfer energi dan transfer elektron. Transfer elektron disebut sebagai reaksi tipe – I, dan dapat bereaksi langsung dengan substrat untuk membentuk radikal bebas. Radikal ini selanjutnya dapat bergabung dengan oksigen untuk membentuk hidrogen dioksida atau anion superoksida. Senyawa radikal tersebut akan bereaksi dengan biomolekul dan molekul oksigen lainnya untuk menghasilkan hidrogen peroksida atau ROS, yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan kematian sel. Reaksi tipe – II melibatkan transfer energi dari fotosensitizer triplet ke molekul oksigen triplet untuk menghasilkan oksigen keadaan tereksitasi singlet, yang merupakan spesies yang sangat reaktif karena kemampuan oksidasi biomolekul seperti protein, asam nukleat, dan lipid yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan kematian [3,18].

II.4 Fotosensitizer Klorofil Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Klorofil berasal dari bahasa Yunani, yaitu *chorlos* yang berarti hijau kekuningan dan *phyllon* yang artinya daun. Klorofil merupakan pigmen fotosintesis yang terdapat pada tumbuhan hijau, alga multiseluler, beberapa Protista uniseluler, dan bakteri sulfur ungu. Zat ini menyerap panjang gelombang

biru-ungu dan merah, kemudian memantulkan sinar pada panjang gelombang hijau sehingga tanaman yang mengandung pigmen ini cenderung berwarna hijau [19].

Pada umumnya, klorofil dimanfaatkan sebagai suplemen makanan, pewarna alami, serta fotosensitizer karena dapat meningkatkan produksi ROS serta produksi oksigen singlet [6,19]. Klorofil dan keturunannya mempunyai nilai koefisien ekstingsi molar yang besar pada daerah 400nm – 600 nm. Hal ini menunjukkan bahwa klorofil dan senyawa turunannya sangat baik digunakan sebagai fotosensitizer karena dapat menyerap panjang gelombang sinar tampak [19].

Kandungan klorofil yang terdapat pada tumbuhan hijau, terutama tumbuhan yang sudah digunakan sebagai obat tradisional diyakini memiliki tingkat toksisitas dan antioksidan yang tinggi. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional ialah daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) diketahui memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia, diantaranya sebagai antitrombolitik, antioksidan, analgesik, anti inflamasi dan juga dapat menurunkan tekanan darah serta vasodilatasi pembuluh darah. Tanaman mengkudu diklasifikasikan ke dalam Filum *Angiospermae*, subfilum *Dycotiledones*, divisi *Lignosae*, famili *Rubiaceae*, genus *Morinda*, dan spesies *Morinda citrifolia*. L [20].