

SKRIPSI

**ANALISIS PENGARUH DAYA LASER HIJAU DALAM
FOTOINAKTIVASI TERHADAP TINGKAT KEMATIAN SEL BIOFILM
ASOSIASI *Candida albicans* DAN *Staphylococcus epidermidis***

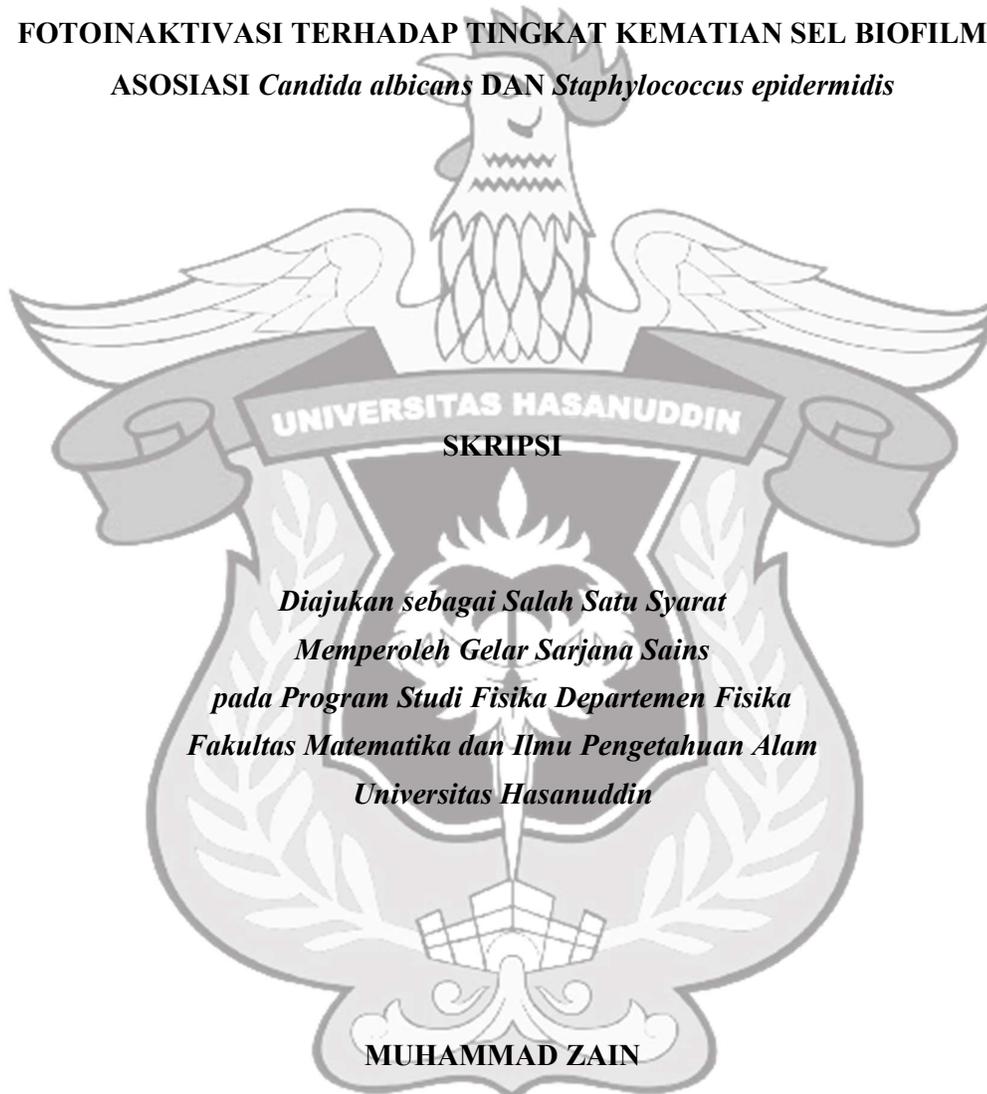
MUHAMMAD ZAIN

H021171314



**DEPARTEMEN FISIKA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**ANALISIS PENGARUH DAYA LASER HIJAU DALAM
FOTOINAKTIVASI TERHADAP TINGKAT KEMATIAN SEL BIOFILM
ASOSIASI *Candida albicans* DAN *Staphylococcus epidermidis***



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

H021 17 1314

**DEPARTEMEN FISIKA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

ANALISIS PENGARUH DAYA LASER HIJAU DALAM
FOTOINAKTIVASI TERHADAP TINGKAT KEMATIAN SEL BIOFILM
ASOSIASI *Candida albicans* DAN *Staphylococcus epidermidis*

Disusun dan diajukan oleh:

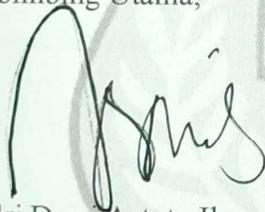
MUIHAMMAD ZAIN

H021 17 1314

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 16 Maret 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

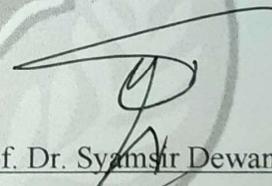
Pembimbing Utama,



Dr. Sri Dewi Astuty Ilyas, S.Si, M.Si

NIP. 19750513 199903 2 001

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr. Syamsir Dewang, M.Eng.Sc

NIP. 19630111 199002 1 001

Ketua Program Studi,



Dr. Arifin, M.T.

NIP. 19670520 199403 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Zain
NIM : H021 17 1314
Program Studi : Fisika
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**ANALISIS PENGARUH DAYA LASER HIJAU DALAM
FOTOINAKTIVASI TERHADAP TINGKAT KEMATIAN SEL BIOFILM
ASOSIASI *Candida albicans* DAN *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, 16 Maret 2022

Yang Menyatakan,



Muhammad Zain

ABSTRAK

Photodynamic Therapy (PDT) merupakan pengobatan terapi yang dapat digunakan untuk membunuh mikroba patogen seperti *Candida albicans* dan *Staphylococcus epidermidis* melalui mekanisme fotoinaktivasi. Mekanisme fotoinaktivasi memanfaatkan proses aktivasi molekul fotosensitizer oleh cahaya sehingga terjadi proses eksitasi dan dapat memproduksi beberapa senyawa *Reactive Oxygen Singlet* (ROS). Energi penyinaran bergantung pada daya keluaran sumber cahaya selama periode waktu tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek fotoinaktivasi pada biofilm gabungan *C. albicans* dan *S. epidermidis* terhadap penurunan nilai OD dan pembentukan nilai MDA setelah paparan 60 – 300 detik dengan dua daya keluaran laser yang berbeda. Instrumen sumber cahaya dirancang menggunakan mikrokontroler dan laser hijau yang dilengkapi dengan unit tampilan daya keluaran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan Fotoinaktivasi dengan laser hijau dengan daya laser P1 (280,13 mW) mampu menurunkan nilai OD sampel biofilm gabungan dari nilai 1,908 hingga 0,782 (biofilm 1 hari) dan dari nilai 1,607 hingga 0,460 (biofilm 3 hari). Sementara untuk daya laser P2 (305,28 mw) mampu menurunkan nilai OD dari nilai 1,924 hingga 0,895 (biofilm 1 hari) dan dari nilai 1,245 hingga 0,420 (biofilm 3 hari). Hasil uji malondialdehid (MDA) menunjukkan nilai tertinggi pada kelompok DL5 adalah 1,470 nmol/mL. (perlakuan P1) dan 1,582 nmol/mL (Perlakuan P2).

Kata Kunci: *Photodynamic Therapy* (PDT); Fotoinaktivasi; *Reactive Oxygen Singlet* (ROS).

ABSTRACT

Photodynamic Therapy (PDT) is a therapeutic treatment that can be used to kill pathogenic microbes such as *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis* through a photoinactivation mechanism. The photoinactivation mechanism utilizes the activation process of photosensitizer molecules by light so that an excitation process occurs and can produce several *Reactive Oxygen Singlet (ROS)* compounds. The irradiation energy depends on the output power of the light source over a certain period of time. The aim of this study was to compare the effect of photoinactivation on combined biofilms of *C. albicans* and *S. epidermidis* on decreasing OD values and establishing MDA values after exposure of 60 – 300 seconds with two different laser output powers. The light source instrument is designed using a microcontroller and a green laser equipped with an output power display unit. The results showed that photoinactivation treatment with a green laser with P1 laser power (280.13 mW) was able to reduce the OD value of the combined biofilm samples from 1.908 to 0.782 (1 day biofilm) and from 1.607 to 0.460 (3 days biofilm). Meanwhile, the P2 laser power (305.28 mw) was able to reduce the OD value from 1.924 to 0.895 (1 day biofilm) and from 1.245 to 0.420 (3 days biofilm). The results of the *malondialdehyde (MDA)* test showed that the highest value in the DL5 group was 1,470 nmol/mL. (Treatment P1) and 1.582 nmol/mL (Treatment P2).

Keywords: *Photodynamic Therapy (PDT); Photoinactivation; Reactive Oxygen Singlet (ROS).*

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah Yang Maha Pemberi Petunjuk lagi Maha Pemberi Manfaat, Yang Maha Mengetahui lagi Maha Luas Karunia-Nya. Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada baginda kita, Muhammad Shallallahu Alaihi Wa Sallam, perkataan, perilaku dan diamnya menjadi patokan berperilaku dan beribadah umat islam setelah kitab suci Al-Qur'an.

Alhamdulillah, setelah melalui berbagai rintangan dan tantangan penulis akhirnya mampu menyelesaikan skripsi ini yang penulis sadari masih belum sempurna dan masih sangat banyak kekurangan di dalamnya. Akan tetapi penulis memiliki harapan besar semoga skripsi ini bisa menjadi pelajaran bagi penulis pribadi maupun yang membacanya, sekaligus memberikan manfaat dari segi substansi yang tertuang di dalamnya.

Rasa terima kasih khusus penulis sampaikan kepada Evita Ardhiya Ramadhani yang selalu menjadi alasan serta motivasi saya untuk tetap hidup, menyelasiakan studi dan memperbaiki diri untuk menjadi lebih baik lagi meski sekarang aku harus mencari alasan dan motivasi lain untuk itu sekarang. Terima kasih pula untuk Muhammad Iqbal Rivai sebagai saingan utama dalam meraih gelar sarjana. Semoga Allah senantiasa membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada kedua orang tersebut. Penulis juga meminta maaf atas segala kesalahan yang penulis lakukan.

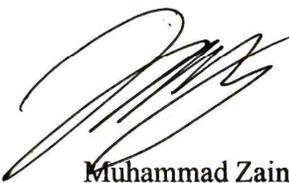
Dengan segala kerendahan hati, penulis juga ingin menyampaikan ucapan banyak terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
3. Ketua Departemen Fisika, **Prof. Dr. Arifin, M.T**, 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.

4. Ibu **Dr. Sri Dewi Astuti Ilyas., M.Si.** selaku dosen pembimbing utama selama penulis berproses di bangku perkuliahan. Terima kasih banyak atas ilmu dan waktunya untuk membimbing, memotivasi, dan memberikan arahan dalam menyelesaikan skripsi. Terima kasih juga atas kesabaran dalam menghadapi Penulis. Maafkan atas segala bentuk kekurangan dan kesalahan penulis selama proses penyusunan skripsi.
5. **Prof. Dr. Syamsir Dewang., M.Sc** selaku dosen pembimbing pertama. Terima kasih atas waktu yang diluangkan serta masukan yang membangun dalam menyelesaikan skripsi.
6. Bapak **Bannu, S.Si, M.Si** dan **Eko Juarlin, S.Si, M.Si** selaku dosen penguji. Terima kasih atas waktu yang diluangkan serta kritik dan saran yang membangun dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Bapak/Ibu **Staf Pegawai FMIPA Unhas**, terutama **Staf Departemen Fisika; Pak Syukur, Pak Ahmad, Ibu Evi dan Kak Rana** yang selalu membantu proses administrasi di departemen.
8. Yang paling penting dan yang paling terakhir, penulis menyampaikan ucapan terima kasih pada diri sendiri yang mampu bertahan dan bangkit setelah permasalahan yang dihadapi. Yang mampu kembali meski ada bagian yang hilang dalam diri.

Terakhir, dengan segala hormat dan kerendahan hati, penulis mengucapkan banyak terima kasih dan mengharap kritik dan saran yang membangun. Apabila terdapat kesalahan dan kekeliruan dalam skripsi ini, maka sepenuhnya berasal dari penulis.

Makassar, 16 Maret 2022



Muhammad Zain

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 <i>Photodynamic Therapy</i> (PDT).....	4
II.2 Interaksi Cahaya Dengan Jaringan	5
II.3 Jendela Optik dalam Jaringan Biologi	7
II.4 Diagram Jablonski dan Pembuatan Senyawa Beracun	8
II.5 Prosedur dan Dosimetri dalam PDT	11
II.5.1 Prosedur PDT	11
II.5.2 Dosimetri Laser dalam PDT.....	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	13
III.1 Waktu dan Tepat	13
III.2 Alat dan Bahan	13
III.3 Prosedur kerja.....	14
III.3.1 Mendesain perangkat sumber penyinaran.....	14
III.3.2 Karakterisasi Klorofil	14
III.3.3 Pembuatan Kurva Baku Uji MDA.....	14

III.3.4 Perhitungan Energi Penyinaran	15
III.3.5 Perlakuan Fotoinaktivasi.....	16
III.3.6 Uji XTT dan MDA	17
III.3.4 Bagan Alir Peneleitian.....	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
IV.1 Karakteristik Spektrum UV-Vis Fotosensitizer	19
IV.2 Perhitungan Energi Penyinaran.....	19
IV.3. Uji Perlakuan Fotoinaktivasi.....	21
IV.3.1 Uji XTT setelah Fotoinaktivasi	21
IV.3.2 Uji MDA Hasil Perlakuan Fotoinaktivasi	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	33
V.1 Kesimpulan.....	33
V.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Keunggulan PDT dibandingkan antibiotik.....	4
Gambar 2.2	Tinjauan berbagai durasi penyinaran dan paparan terhadap jenis interaksi laser dan jaringan.....	6
Gambar 2.3	Grafik koefisien absorbansi dari melanin dan hemoglobin terhadap spektrum cahaya.....	7
Gambar 2.4	Grafik koefisien absorbansi dari kulit, dinding aorta dan kornea terhadap spektrum cahaya.....	8
Gambar 2.5	Diagram Jablonski	9
Gambar 2.6	Modifikasi diagram Jablonski untuk aplikasi PDT.....	10
Gambar 2.7	Prosedur <i>photodynamic therapy</i> untuk penanganan.....	11
Gambar 3.1	Diagram blok rangkaian laser.....	13
Gambar 4.1	Spektrum absorbansi ekstrak daun pepaya	19
Gambar 4.2	Stabilitas daya keluaran laser	20
Gambar 4.3	Kurva perubahan nilai OD sampel biofilm 1 hari hasil perlakuan fotoinaktivasi biofilm gabungan (a) daya laser P1 (b) daya laser P2.....	22
Gambar 4.4	Kurva perubahan nilai OD sampel biofilm 3 hari hasil perlakuan fotoinaktivasi biofilm gabungan (a) daya laser P1 (b) daya laser P2.....	24
Gambar 4.5	Tingkat inaktivasi pada setiap kelompok perlakuan untuk sampel biofilm 1 hari untuk (a) daya laser P1 (b) daya laser P2.	25
Gambar 4.6	Tingkat inaktivasi sampel biofilm 3H gabungan perlakuan fotoinaktivasi biofilm gabungan (a) daya laser P1 (b) daya laser 2.....	27
Gambar 4.7	Kurva kalibrasi MDA.....	29
Gambar 4.8	Profil kadar MDA hasil perlakuan fotoinaktivasi (a) menggunakan daya laser P1 (b) menggunakan daya laser P2...	31

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Kelompok perlakuan PDT.....	16
Tabel 4.1	Energi penyinaran laser hijau.....	20
Tabel 4.2	Nilai OD untuk setiap kelompok perlakuan pada sampel biofilm 1 hari.....	22
Tabel 4.3	Nilai OD untuk setiap kelompok perlakuan pada sampel biofilm 3 hari.....	23
Tabel 4.4	Tingkat inaktivasi pada setiap kelompok perlakuan untuk sampel biofilm 1 hari	25
Tabel 4.5	Tingkat inaktivasi pada setiap kelompok perlakuan untuk sampel biofilm 3 hari.....	26
Tabel 4.6	Nilai absorbansi larutan TEP untuk kalibrasi MDA.....	28
Tabel 4.7	Nilai absorbansi uji MDA.....	29
Tabel 4.8	Data perhitungan nilai MDA hasil perlakuan fotoinaktivasi...	30

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Photodynamic therapy (PDT) merupakan mekanisme terapi yang dapat digunakan untuk berbagai tujuan, salah satunya adalah membunuh mikroba patogen melalui proses fotoinaktivasi atau menghambat pertumbuhan sel mikroba [1]. Mekanisme fotoinaktivasi memerlukan sumber cahaya, molekul *photosensitizer* (PS) dan senyawa oksigen yang saling terintergrasi menghasilkan sejumlah senyawa radikal atau ROS untuk merusak sistem metabolisme sel mikroba patogen [1,2]. PS dalam istilah Indonesia disebut fotosensitizer merupakan senyawa yang berbentuk molekul yang berperan dalam menyerap energi foton cahaya. PS teraktivasi setelah menyerap cahaya dengan panjang gelombang tertentu dan mengalami transisi elektronik hingga ke tingkat triplet serta berinteraksi dengan molekul oksigen menghasilkan senyawa beracun dan reaktif yang disebut *reactive oxygen species* (ROS). Toksisitas dan reaktivitas senyawa ROS menyebabkan kerusakan membran sel, menghambat sistem pembelahan sel dan memutus rantai DNA sel mikroba. Membran sel yang rusak dapat membuat fotosensitizer masuk ke dalam sel, dan merusak organel seperti lisosom, mitokondria, serta nukleus [3-5].

Keberhasilan fotoinaktivasi ditentukan oleh jenis dan konsentrasi fotosensitizer serta daya keluaran dan durasi paparan cahaya. Spektrum absorbansi maksimum dari molekul fotosensitizer menjadi acuan dalam memilih panjang gelombang cahaya yang tepat untuk mengoptimasi tingkat penyerapan. Jumlah energi foton cahaya yang diserap oleh molekul PS akan menentukan tingkat eksitasi hingga ke tingkat triplet, dimana keberadaan atau *lifetime* molekul PS pada tingkat triplet berpeluang terjadinya reaksi kimia dengan molekul oksigen untuk membentuk senyawa ROS [3-5]. Banyak jenis PS yang telah dikembangkan untuk fotoinaktivasi salah satunya adalah klorofil. Hal ini dikarenakan klorofil memiliki sifat sebagai senyawa kimia murni, rentang spektrum absorbansi maksimum berada pada 400-800 nm, *quantum yield* yang tinggi, tidak beracun dalam gelap, stabil dan

mudah larut dan diproduksi. Selain itu, kelebihan klorofil yang bersumber dari tanaman obat mengandung zat antimikroba sehingga sangat potensial diaplikasikan dalam fotoinaktivasi [4,5]. Salah satu tanaman obat dan terbukti memiliki zat aktif antimikroba dengan tingkat kadar klorofil relatif banyak adalah daun pepaya (*Carica papaya* L.). Daun pepaya mengandung kandungan kimia alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid yang bersifat sebagai antibakteri dan antifungi, mengandung enzim papain yang sangat efektif mengurai protein dan asam nukleat yang merupakan salah satu komponen pembentuk membran sel fungi [6,7].

Meningkatnya kemampuan resistansi mikroorganisme patogen terhadap pengobatan antibakteri maupun antifungi dikarenakan kehadiran lapisan pelindung yang disebut matriks biofilm, membuat sistem fotoinaktivasi menjadi pengobatan yang menjanjikan. Pada beberapa mikroorganisme, perubahan bentuk fenotif dari planktonik (sel bebas) menjadi sel terikat (biofilm) sangat rentan karena beberapa faktor antara lain: adanya polutan/logam/radikal dalam tubuh, penggunaan antibiotik yang berkepanjangan serta penurunan sistem imun tubuh.

Fotoinaktivasi telah banyak diujicobakan pada berbagai macam mikroorganisme, diantaranya adalah *Candida albicans*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Kebanyakan dari mikroba patogen bersifat oportunistik yaitu menyerang tubuh ketika sistem imun melemah, sehingga bila kondisi seseorang dalam keadaan sakit akan mempengaruhi imun tubuhnya dan mengakibatkan mikroba yang sebelumnya secara komensal hidup normal berubah menjadi patogen atau menimbulkan penyakit [8-10].

Sumber cahaya yang ideal harus memberikan daya keluaran yang tinggi di panjang gelombang yang diperlukan untuk aktivasi fotosensitizer. Laser, LED atau lampu logam halida yang koheren yang paling sering digunakan untuk fotoinaktivasi. Penggunaan sumber cahaya tanpa filter dengan emisi dalam kisaran ultraviolet harus diminimalkan, karena spektrum absorbansinya dapat menimbulkan efek mutagen. Demikian pula, emisi dalam kisaran inframerah dapat menimbulkan pemanasan tak terkendali pada jaringan atau sel kultur. Intensitas sumber cahaya yang cocok digunakan dalam fotoinaktivasi terhadap mikroba pada kisaran 10 - 100 mW [11].

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Astuty dkk pada tahun 2019, mengenai efikasi fotoinaktivasi biofilm *C. albicans* menggunakan fotosensitizer klorofil daun pepaya serta laser dioda dengan panjang gelombang 445 nm dan 650 nm dengan intensitas masing-masing laser adalah 37,9 mW/cm² dan 30,6 mW/cm² memberikan efek lebih baik 25% (laser biru) dan 32% (laser merah) pada kelompok perlakuan laser dengan penambahan klorofil [3]. Penelitian lainnya oleh Jing Ma dkk tahun 2019, mengenai efek antifungi PDT dengan kurkumin pada biofilm *Candida albicans* secara *in vitro* menggunakan laser dengan panjang gelombang 455 nm dengan intensitas 22,0 mW/cm² terhadap tiga strain biofilm *C. albicans* dengan tingkat hambatan masing-masing sebesar 90.87%, 66.44% dan 86.74% [8].

Pada penelitian ini dilakukan evaluasi energi penyinaran cahaya laser hijau kombinasi daun pepaya (*Carica papaya l.*) pada mekanisme fotoinaktivasi biofilm gabungan *Candida albicans* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan metode uji kadar *malondialdehyde* (MDA) dan XTT assay.

I.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh daya keluaran laser hijau terhadap nilai densitas optik (OD) sampel biofilm gabungan *Candida albicans* dan *Staphylococcus epidermidis* hasil fotoinaktivasi?
2. Bagaimana pengaruh lama paparan laser terhadap kadar MDA sel biofilm gabungan *Candida albicans* dan *Staphylococcus epidermidis* setelah fotoinaktivasi sebagai indikator pembentukan senyawa radikal?

I.3 Tujuan penelitian

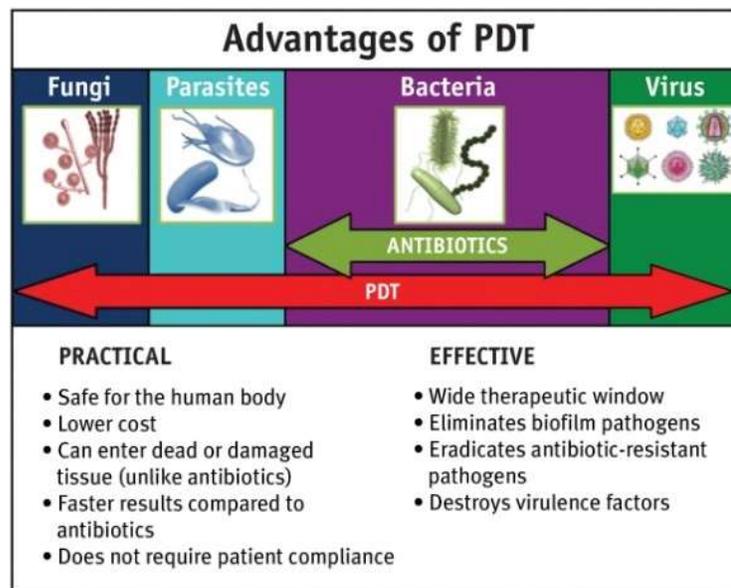
1. Menganalisis penurunan nilai OD sampel biofilm gabungan *Candida albicans* dan *Staphylococcus epidermidis* hasil fotoinaktivasi dengan laser hijau kombinasi ekstrak daun pepaya.
2. Menganalisis jumlah senyawa ROS yang terbentuk selama fotoinaktivasi beberapa variasi lama paparan terhadap sel biofilm gabungan *Candida albicans* dan *Staphylococcus epidermidis* berdasarkan kadar MDA.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 *Photodynamic Therapy* (PDT)

Photodynamic therapy (PDT) merupakan terapi modern *non-invasive* yang awalnya digunakan untuk pengobatan tumor dan kanker. Namun, seiring dengan peningkatan resistansi terhadap obat-obatan untuk penanganan mikroba patogen membuat PDT dikembangkan untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen seperti infeksi. Pengembangan ini membuat PDT memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan antibiotik untuk penanganan mikroba patogen seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1 [2, 12].



Gambar 2.1 Keunggulan PDT dibandingkan antibiotik [12].

PDT dapat mengatasi berbagai jenis macam mikroba patogen seperti fungi, parasit, bakteri hingga virus, sementara antibiotik hanya mampu menangani mikroba jenis bakteri dan untuk penanganan jenis mikroba patogen lainnya membutuhkan penanganan yang spesifik. Terapi PDT untuk penanganan mikroba sangatlah efektif untuk mengatasi patogen yang telah terbungkus biofilm, patogen

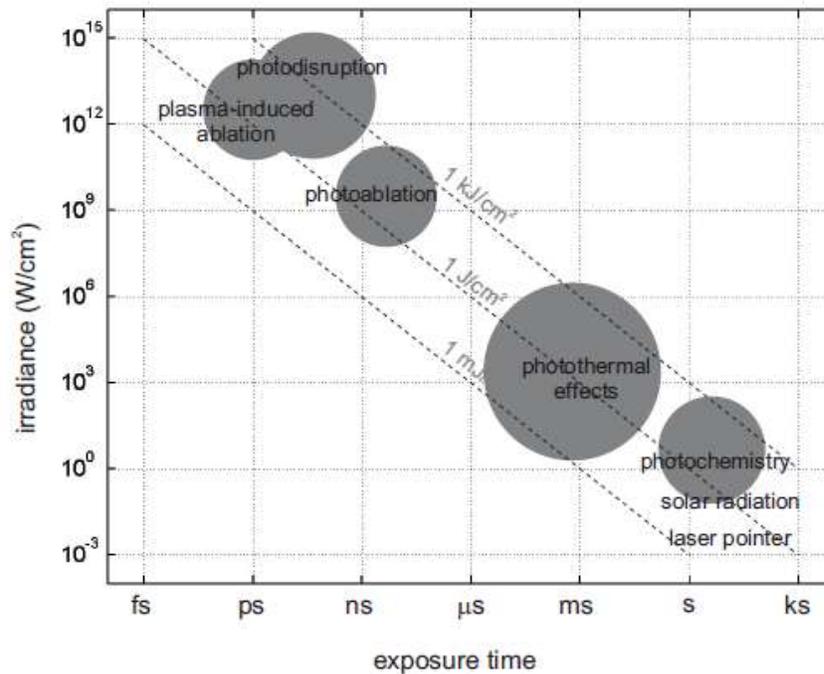
yang resistan terhadap antibiotik dan faktor virulensi yang dibuat oleh mikroba. Selain efektif, terapi PDT memiliki kelebihan dibandingkan antibiotik, diantaranya adalah: sangat aman untuk manusia, biaya pelaksanaan yang murah, memiliki kemampuan penetrasi kedalam jaringan yang lebih baik, penanganan terapi lebih cepat dan tidak perlu menyesuaikan dengan kebutuhan khusus dari pasien [12].

Tujuan dari terapi ini adalah untuk merusak sel atau jaringan yang menjadi penyebab penyakit dengan senyawa beracun yang dihasilkan melalui mekanisme PDT [2,12]. Mekanisme PDT dalam merusak sel atau jaringan menggunakan interaksi antara komponen PS, cahaya dan oksigen. Sel atau jaringan yang menjadi target terapi diberikan PS, kemudian PS disinari menggunakan cahaya spesifik yang sesuai dengan spektrum serapan molekul PS.

Energi dari foton cahaya yang diserap oleh molekul PS memicu serangkaian reaksi fotokimia yang mengarah pada pembentukan senyawa ROS seperti oksigen singlet ($^1\text{O}_2$), radikal superoksida ($\text{O}_2^{\bullet-}$), radikal hidroksil (HO^{\bullet}) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Senyawa-senyawa ROS yang dibentuk akan berinteraksi dengan sel atau jaringan target dan akan memicu reaksi biokimia, yang mana reaksi ini akan merusak dan membunuh sel atau jaringan target [13].

II.2 Interaksi Cahaya Dengan Jaringan

Interaksi cahaya dengan sel atau jaringan dapat memicu mekanisme yang berbeda-beda bergantung pada durasi paparan dan intensitas cahaya, diantaranya adalah fotodisrupsi, fotoablasi, induksi plasma ablasi, fototermal dan fotokimia. Variasi interaksi cahaya tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.2 [14].



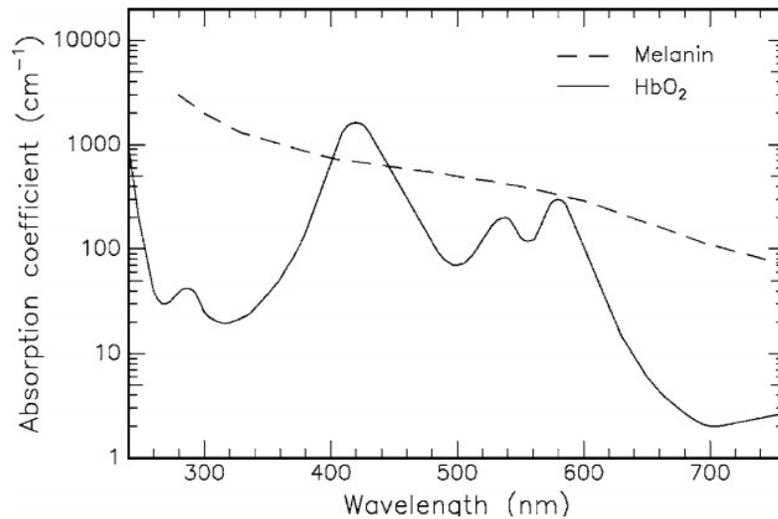
Gambar 2.2 Tinjauan berbagai durasi penyinaran dan paparan terhadap jenis interaksi laser dan jaringan [14].

Pada diagram terdapat bagian-bagian yang dilingkari warna abu-abu menunjukkan jenis-jenis interaksi yang dapat terjadi ketika berkas laser berinteraksi dengan jaringan. Jenis-jenis interaksi tersebut didasarkan pada besarnya nilai *irradiance* atau intensitas cahaya yang diserap terhadap durasi paparan. Pada PDT interaksi yang diharapkan terjadi hanya berupa fotokimia dengan *irradiance* dibawah 10³ W/cm² dengan durasi 1-10³ detik. Interaksi selanjutnya adalah fototermal yang mana interaksi ini terjadi disaat *irradiance* berada pada kisaran 1-10⁶ W/cm² dengan durasi yang cukup cepat antara 10⁻⁶-1 detik [14].

Selanjutnya interaksi fotoablasi dengan *irradiance* yang cukup tinggi berada pada kisaran 10⁹ W/cm² dengan durasi yang sangat cepat dengan hanya dalam hitungan 10⁻⁹ detik. Dan dua interaksi terakhir adalah fotodistrupsi dan plasma induksi ablasi yang mana kedua interaksi ini terjadi ketika *irradiance* yang tinggi berada pada kisaran 10¹²-10¹⁶ W/cm² dengan durasi penyinaran yang sangat singkat berada pada kisaran 10¹²-10⁻⁹ detik [14].

II.3 Jendela Optik dalam Jaringan Biologi

Ada wilayah spektrum tertentu yang menjadi perhatian dalam optik biomedis, spektrum ini bernama jendela optik dalam jaringan. Dalam biomedis, dua senyawa penting pada tubuh manusia adalah melanin dan oksihemoglobin (HbO_2). Melanin adalah pigmen dasar kulit dan merupakan kromofor epidermis yang paling penting sementara oksihemoglobin merupakan protein hemoglobin yang membawa oksigen di dalam darah. Jendela optik dari kedua senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 2.3 [15].

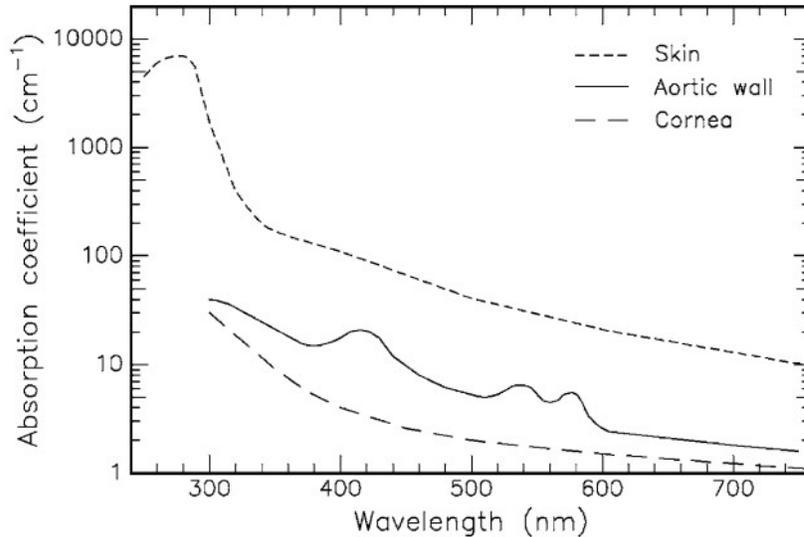


Gambar 2.3 Grafik koefisien absorpsi dari melanin dan hemoglobin terhadap spektrum cahaya [15].

Koefisien penyerapan dari melanin secara monoton meningkat dari spektrum cahaya tampak hingga sinar UV. Sementara oksihemoglobin menunjukkan puncak penyerapan di sekitar panjang gelombang 280nm, 420nm, 540nm, dan 580nm, dan kemudian menunjukkan *cut-off* sekitar 600nm [15].

Dalam tubuh manusia, melanin dapat ditemukan pada jaringan kulit sementara oksihemoglobin dapat ditemukan pada sistem peredaran darah yang diantaranya pembuluh darah aorta, sementara kornea merupakan jaringan

transparan yang ada dalam tubuh manusia. Spektrum penyerapan dari ketiga jaringan tersebut dapat dilihat pada gambar 2.4 [15].

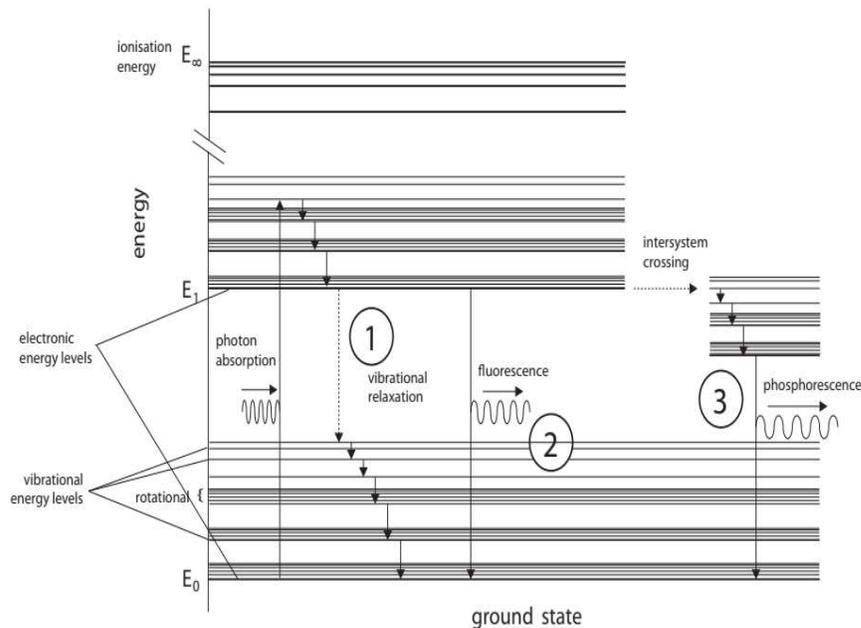


Gambar 2.4 Grafik koefisien absorpsi dari kulit, dinding aorta dan kornea terhadap spektrum cahaya [15].

Bisa dilihat jika kulit memiliki koefisien tertinggi dan juga secara monoton meningkat dari wilayah cahaya tampak menuju sinar UV, Sedangkan spektrum penyerapan dinding aorta dan hemoglobin memiliki puncak yang mirip. Hal ini dikarenakan oksihemoglobin berada dalam aorta. Sementara itu, kornea hampir transparan pada wilayah cahaya tampak [15].

II.4 Diagram Jablonski dan Pembuatan Senyawa Beracun

Diagram Jablonski pada dasarnya adalah diagram energi yang disusun secara vertikal. Tingkat energi dapat dinyatakan secara kuantitatif maupun skematis, tetapi sebagian besar diagram ini menggunakan tingkat energi secara skematis. Diagram Jablonski dapat menjelaskan perubahan energi yang diakibatkan interaksi antara cahaya dengan jaringan sesuai dengan gambar 2.5 [16].



Gambar 2.5 Diagram Jablonski [14].

Energi foton yang diserap oleh molekul dengan jumlah tertentu ditransfer ke elektron yang ada dalam molekul dan membuat elektron menjadi kelebihan energi. Keadaan elektron yang kelebihan energi membuat elektron tereksitasi dari keadaan dasar atau *ground state* ke keadaan energi yang lebih tinggi (E_1-E_∞) [14].

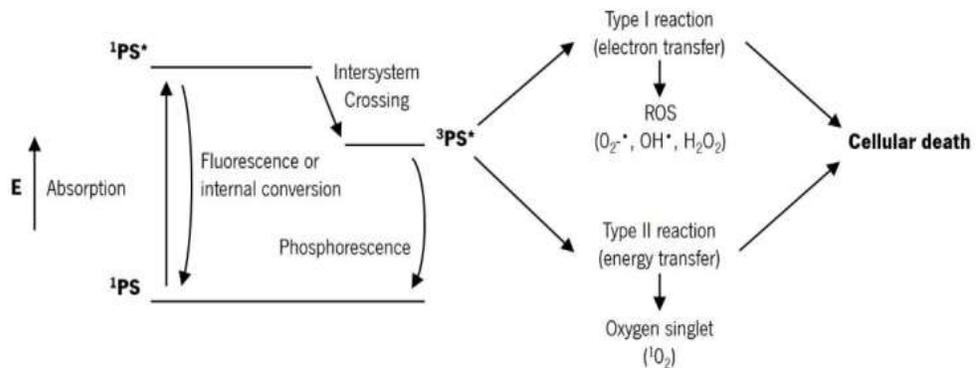
Setelah elektron tereksitasi, elektron akan melepaskan energi untuk kembali ke keadaan *ground state*. Ada tiga cara elektron melepaskan energi, yang pertama dengan cara relaksasi vibrasi. Relaksasi vibrasi adalah di mana energi foton ke disimpan didalam elektron dikonversi menjadi getaran sebagai energi kinetik. Energi kinetik ini dapat tetap berada di dalam molekul yang sama, atau dapat ditransfer ke molekul lain di sekitar molekul yang tereksitasi [16].

Cara yang kedua adalah fluoresensi. Fluoresensi merupakan proses pemancaran pelepasan energi dalam bentuk foton dari elektron tereksitasi singlet (elektron yang tereksitasi memiliki multiplisitas spin yang berpasangan dengan elektron yang lainnya pada E_0) untuk kembali ke keadaan dasar. Untuk molekul tertentu, Fluoresensi paling sering terjadi antara keadaan elektron tereksitasi tingkat pertama (E_1) dan keadaan dasar (E_0) karena pada energi yang lebih tinggi

kemungkinan besar energi akan hilang melalui relaksasi vibrasi. Energi foton yang dipancarkan dalam fluoresensi selalu lebih kecil daripada energi foton yang mengeksitasi. Perbedaan ini karena sebagian energi hilang dalam relaksasi vibrasi [15].

Cara yang terakhir adalah dengan melakukan fosforesensi. Fosforesensi adalah pelepasan energi yang berlebih dalam bentuk foton dari elektron yang tereksitasi yang memiliki multiplisitas spin yang sama dengan pasangan elektronnya pada E_0 (keadaan triplet) melalui proses lintasan antar sistem [16].

Dalam PDT, molekul fotosensitizer diharapkan dapat menghasilkan senyawa ROS atau senyawa oksigen singlet. Senyawa ROS dapat dihasilkan melalui transfer elektron dari molekul fotosensitizer ke molekul oksigen yang berada di sekitar fotosensitizer sementara senyawa oksigen singlet dapat dihasilkan melalui transfer energi elektron yang berlebih ke oksigen disekitar fotosensitizer. Transfer elektron dan transfer energi dari elektron fotosensitizer dapat dilihat melalui diagram Jablonski yang sudah dimodifikasi untuk PDT pada gambar 2.6. [13].



Gambar 2.6 Modifikasi diagram Jablonski untuk aplikasi PDT [13].

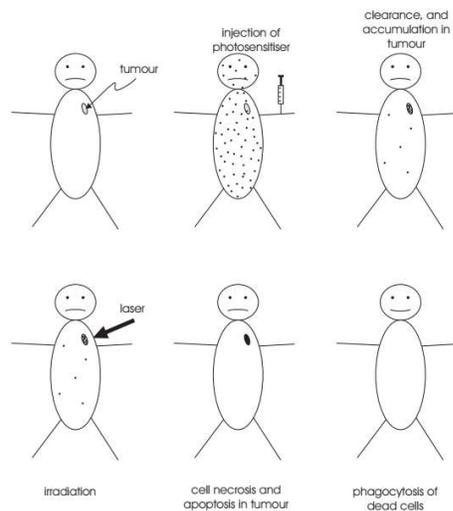
Berdasarkan gambar 2.6, pembentukan senyawa ROS dapat terjadi pada reaksi tipe I dan pembentukan senyawa oksigen singlet dapat terjadi melalui reaksi tipe II. Pada reaksi tipe I, setelah elektron dari molekul PS tereksitasi secara triplet, elektron dapat berpindah ke molekul molekul oksigen yang berada disekitar fotosensitizer dan menghasilkan senyawa ROS berupa radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$), radikal hidroksil (HO^{\bullet}) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Sementara reaksi tipe II, energi yang

berlebih pada elektron yang tereksitasi secara triplet dapat melepaskan ke senyawa oksigen yang ada disekitar PS dan membuat oksigen tereksitasi secara singlet. Selanjutnya, senyawa ROS dan senyawa oksigen singlet dapat membuat kematian sel [13, 17].

II.5 Prosedur dan Dosimetri dalam PDT

II.5.1 Prosedur PDT

Ada tiga komponen utama yang terlibat dan bersinergi dalam mekanisme PDT, yaitu fotosensitizer yang tidak beracun dalam gelap, sumber cahaya dengan Panjang gelombang yang bersesuaian dengan karakteristik fotosensitizer serta konsentrasi oksigen yang cukup disekitar jaringan. Berdasarkan penjelasan diagram Jablonski pada gambar 2.5 dan gambar 2.5, tahapan siklus PDT selama penyinaran melalui tiga proses, yaitu fotofisika, fotokimia dan fotobiologi. Gambaran selengkapnya mekanisme PDT untuk terapi tumor dijelaskan pada gambar 2.7.



Gambar 2.7 Prosedur *photodynamic therapy* untuk penanganan kanker [14].

Fotosensitizer disuntikan atau diminum (untuk objek jaringan dalam tubuh) atau dioleskan (untuk objek jaringan di atas kulit). Fotosensitizer yang diasumsikan selektif terhadap jaringan yang tidak normal selanjutnya akan terakumulasi pada jaringan target sedangkan fotosensitizer yang melekat pada jaringan non-target

akan bersih dengan air atau aliran darah, sehingga jenis molekul fotosensitizer harus memiliki sifat selektif dan mudah larut dalam air. Setelah fotosensitizer terakumulasi, jaringan tersebut disinari dengan cahaya untuk menghasilkan spesies beracun. Spesies ini akan merusak organel-organel sel hingga merusak DNA jaringan selnya yang sangat reaktif, dan dengan pengulangan penyinaran (perlakuan PDT) sel target akan mati dan mengalami fagositosis, pada akhirnya sistem imun akan meregenerasi sel yang telah mati menjadi baru [14].

II.5.2 Dosimetri Laser dalam PDT

Dalam PDT, kematian sel yang bergantung kepada produksi ROS. Laju produksi ROS dapat dipengaruhi dari energi penyinaran yang diberikan oleh cahaya kepada molekul fotosensitizer. Semakin tinggi energi penyinaran yang diberikan maka akan semakin mudah elektron dari molekul fotosensitizer untuk tereksitasi secara triplet dan melepaskan energi berlebih melalui fosforensi atau melalui mekanisme pembentukan ROS [13-17].

Energi penyinaran yang dapat dihitung adalah:

$$\phi = I \cdot t \quad (2.1)$$

Dengan: ϕ merupakan energi penyinaran (J/cm^2), I merupakan intensitas (W/cm^2), serta t merupakan lama paparan (s).