

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Hasil Penelitian Terdahulu

Beberapa penelitian yang telah dilakukan berkaitan dengan penggunaan biru metilen sebagai fotosensitizer pada metode PDI dapat dilihat pada tabel 2.1 Ambrósio *et al.*, (2020) menunjukkan nanopartikel BSA (Bovine Serum Albumin) bermuatan biru metilen (BSA-BM) secara signifikan dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan pembentukan biofilm, karena sifat fotosensitizer dari biru metilen. Ketika terpapar cahaya, BSA-BM menghasilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang efektif dalam merusak sel-sel jamur.

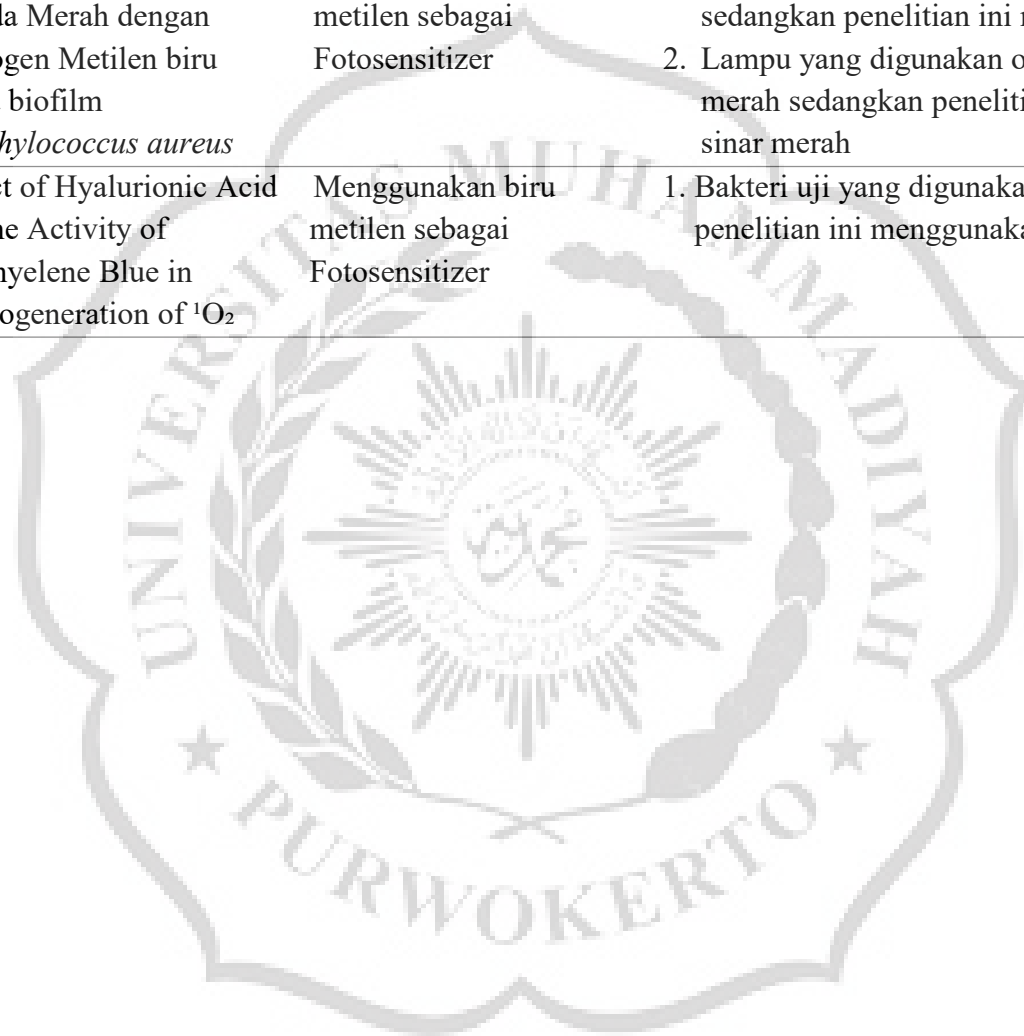
Law *et al.*, (2023) menunjukkan bahwa kurkumin dan biru metilen memiliki potensi yang efektif sebagai fotosensitizer dalam terapi fotodinamik untuk melawan infeksi bakteri dan SARS-CoV-2, dengan menghasilkan ROS yang merusak patogen tanpa menyebabkan resistensi.

Tokubo *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa PDI menggunakan kombinasi eritrosin dan biru metilen menunjukkan hasil yang lebih baik, karena adanya kombinasi fotosensitizer yang dapat meningkatkan efektivitas antibakteri dan meningkatkan spektrum aksi antimikroba. Pada penelitian yang dilakukan oleh Astuti (2020), menunjukkan bahwa konsentrasi pada biru metilen yang digunakan 5 $\mu$ , dapat menghasilkan oksigen singlet dan ROS (*Reactive Oxygen Species*) saat terpapar cahaya, berkontribusi pada inaktivasi bakteri. Sedangkan penelitian Kardumyan *et al.*, (2024) menunjukkan bahwa biru metilen dapat meningkatkan aktivitas fotokatalitik dalam fotogenerasi oksigen singlet.

Tabel 2. 1 Penelitian terdahulu Terkait Penggunaan PDI untuk Antibakteri

Nama	Judul	Persamaan	Perbedaan
(Ambrósio et al., 2020)	BSA nanoparticles loaded-methylene blue for photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT): effect on both growth and biofilm formation byCandida albicans	Menggunakan biru metilen sebagai fotosensitizer	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bakteri uji yang digunakan adalah <i>Candida albicans</i>, sedangkan penelitian ini menggunakan <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)</li> <li>2. Lampu yang digunakan adalah sinar laser dengan panjang gelombang 660 nm, sedangkan penelitian ini menggunakan LED atau sinar merah</li> </ol>
(Law et al., 2023)	Photodynamic Action of Curcumin and Methylene Blue against Bacteria and SARS-Cov-2-A Review	Menggunakan biru metilen sebagai fotosensitizer	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bakteri yang digunakan adalah <i>staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, sedangkan penelitian ini menggunakan <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)</li> <li>2. Fotosensitizer yang digunakan adalah kurkumin dan biru metilen, sedangkan pada penelitian ini hanya menggunakan biru metilen</li> </ol>
(Tokubo et al., 2018)	Antimicrobial effect of the fotodynamic therapy using erythrosine / methylene blue combination mutans vipfilm	Menggunakan biru metilen sebagai Fotosensitizer	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bakteri uji yang digunakan adalah <i>Streptococcus mutans</i>, sedangkan penelitian ini menggunakan <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)</li> <li>2. Fotosensitizer yang digunakan adalah eritrosin dan biru metilen, sedangkan pada penelitian ini hanya menggunakan biru metilen</li> <li>3. Lampu yang digunakan oleh peneliti yaitu halogen filamen tungsten sedangkan pada penelitian ini menggunakan LED atau sinar merah</li> </ol>

<b>(Astuti, 2020)</b>	Efek Fotodinamik Laser Dioda Merah dengan Eksogen Metilen biru pada biofilm <i>Staphylococcus aureus</i>	Menggunakan biru metilen sebagai Fotosensitizer	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bakteri uji yang digunakan <i>Staphylococcus aureus</i> sedangkan penelitian ini menggunakan MRSA</li> <li>2. Lampu yang digunakan oleh peneliti adalah laser dioda merah sedangkan penelitian ini menggunakan LED atau sinar merah</li> </ol>
<b>(Kardumyan et al., 2024)</b>	Effect of Hyalurionic Acid on the Activity of Methylene Blue in Photogeneration of <sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Menggunakan biru metilen sebagai Fotosensitizer	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bakteri uji yang digunakan <i>Staphylococcus aureus</i> sedangkan penelitian ini menggunakan MRSA</li> </ol>



## B. Landasan Teori

### 1. Antibiotik

Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk mencegah dan mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Pada antibiotik juga banyak digunakan di masyarakat, penggunaannya yang tidak tepat sering terjadi, yang dapat menyebabkan pemicu resistensi terhadap obat. Antibiotik merupakan suatu senyawa yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan oleh manusia atau hewan untuk mengobati infeksi akibat bakteri patogen (Shavira *et al.*, 2022)

Pada antibiotik dapat bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri melalui mekanisme utama, yaitu menghambat pembentukan dinding sel, menghambat sintesis protein, mengganggu permeabilitas membran sel, asam nukleat dan metabolisme bakteri (Yao *et al.*, 2023). Secara umum, antibiotik dapat diklasifikasikan berdasarkan target aktifnya, yaitu dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri, seperti golongan Beta-laktam (penisilin, sefalosporin, karbapenam dan monobaktam) serta glikopeptida. Berikutnya dapat menghambat sintesis protein dengan menyerang ribosom bakteri, seperti aminoglikosida, akrolida, tetrasiklin, dan kloramfenikol; serta dapat mengganggu sintesis dan replikasi DNA bakteri, yang dilakukan oleh antibiotik seperti kuinolon dan metronidazol (Anggita *et al.*, 2022).

### 2. Metode *Photodynamic Inactivation* (PDI)

PDI merupakan metode terapi yang digunakan dengan kombinasi fotosensitizer, di mana terdapat cahaya dengan panjang gelombang tertentu, dan mendapatkan oksigen untuk menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS yang dihasilkan dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada struktur mikro-organisme, seperti membran sel (Sulek *et al.*, 2020). Teknik ini merupakan salah satu metode pengendalian mikroba melalui interaksi antara fotosensitizer, cahaya, oksigen yang menghasilkan ROS untuk merusak mikroba. Awalnya *photodynamic therapy* digunakan untuk pengobatan tumor dan kanker, namun selanjutnya dikembangkan untuk terapi antimikroba, pengendalian biofilm dan bidang medis lainnya (Indrawati *et al.*, 2021)

PDI bekerja dengan tiga komponen utama: fotosensitizer, cahaya dan oksigen. Ketika fotosensitizer terpapar cahaya dengan panjang gelombang tertentu, akan menyerap dan menjadi aktif dan menghasilkan spesies oksigen reaktif seperti singlet oksigen, superoksida, dan radikal hidroksil. ROS dapat menyerang membran sel, protein, dan DNA mikroba, menyebabkan kerusakan yang fatal seperti kehilangan fungsi vitalnya dan mati secara efektif (Indrawati *et al.*, 2021). Pada metode PDI ini memiliki keunggulan yaitu, pada fotosensitizer dapat diarahkan langsung ke sel atau jaringan tertentu, sedangkan cahaya tampak dapat terfokus secara spesifik pada area tertentu (Liang *et al.*, 2016)

a. Komponen utama PDI

1) Fotosensitizer

Pada Fotosensitizer bisa didefinisikan sebagai senyawa kimia yang memiliki sifat khas yang mampu menyerap energi cahaya pada panjang gelombang tertentu, serta menghasilkan ROS. Fotosensitizer ini tidak bersifat toksik terhadap sel mamalia, tidak bersifat mutagenik, stabil, dan dapat menunjukkan selektivitas terhadap sel target (Indrawati *et al.*, 2021). Fotosensitizer dapat menghasilkan reaksi kimia ketika terpapar sinar ultraviolet atau cahaya tampak. Yang dimana salah satu contoh fotosensitizer alami seperti ribovlafin, yaitu senyawa turunan vitamin B2 yang dapat merusak sel-sel mikroba, seperti bakteri resisten antibiotik. Pada proses ini melibatkan pembentukan ROS yang bisa menghancurkan komponen seluler, sehingga dapat efektif dalam inaktivasi patogen (Zhu *et al.*, 2024).

Fotosensitizer seperti porfirin digunakan untuk mengobati kanker serta infeksi bakteri yang dimana dapat memicu reaksi oksidatif yang merusak sel target (Sulek *et al.*, 2020).

## 2) Sumber Cahaya

Pada Cahaya merupakan gelombang elektromagnetik, yang dimana memiliki tingkat energi berbanding terbalik dengan panjang gelombangnya. Perkembangan dengan terapi cahaya berfokus pada penanganan yang disebabkan oleh infeksi, terutama yang menonaktifkan mikroba yang resisten. Terdapat tiga jenis cahaya yang sering di teliti untuk antimikroba yang meliputi iradasi ultraviolet, cahaya biru, dan terapi fotodinamika (Majiya *et al.*, 2018)

Adapun cahaya yang dapat digunakan pada PDI meliputi, *Light Amplification by Stimulasi Emission of Radition* (Laser), *Light Emitting Diode* (LED), dan seperti jenis lampu lainnya seperti lampu pijar, lampu neon, lampu busur xenon, lampu busur natrium, lampu halogen, dan lampu halida logam. Namun, di antara sumber cahaya tersebut, *Light Emitting Diode* (LED) biasa digunakan pada metode PDI. Karena LED memiliki beberapa keunggulan antara lain, harga yang terjangkau, portabilitas yang tinggi, kemampuan memancarkan cahaya yang hampir seluruh spektrum terlihat, serta kesesuaian yang digunakan didaerah dengan aksien listrik yang terbatas atau tanpa perawatan medis yang canggih. Selain itu LED juga memiliki potensi radiasi yang lebih rendah (M. M. Kim & Darafsheh, 2020)

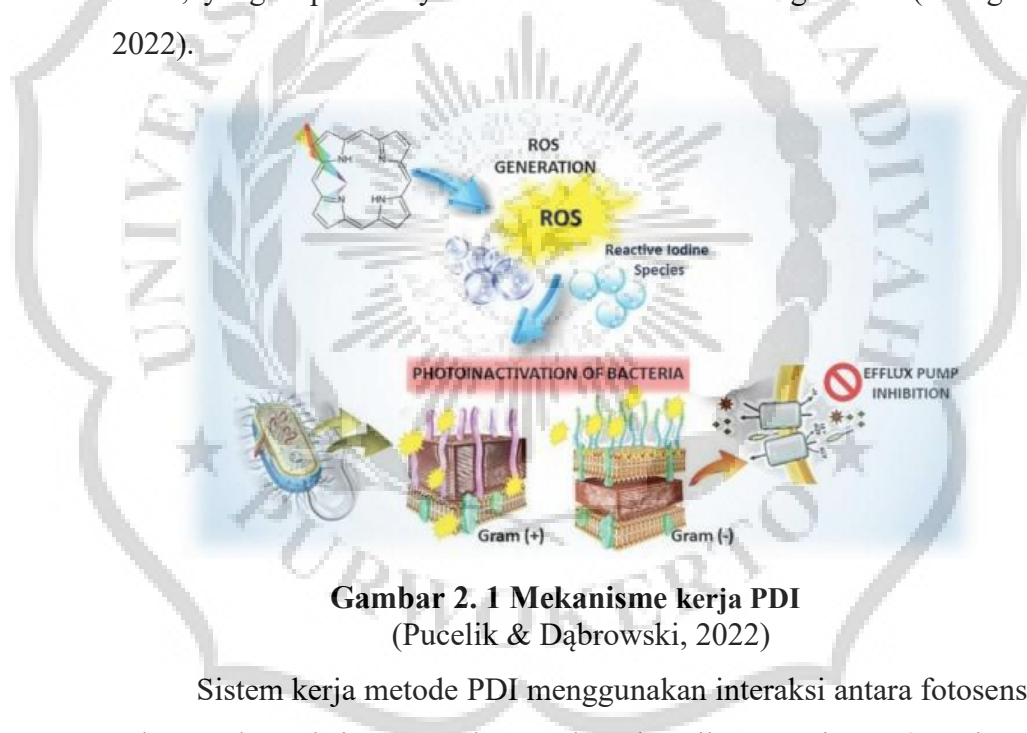
## 3) Oksigen Molekuler

Oksigen molekuler ( $O_2$ ) merupakan bentuk dari dasar oksigen yang di mana terdiri dari dua atom oksigen yang terikat satu sama lain. Pada terapi fotodinamik, oksigen molekuler mempunyai peran penting dalam reaksi fitokimia yang menghasilkan ROS. Oksigen ini dapat berada dalam keadaan energi ( $^3O_2$ ) dan berinteraksi dengan radikal yang terbentuk selama proses fotodinamik, yang bisa menghasilkan produk teroksidasi seperti superoksida dan radikal hidroksil. Selain itu, oksigen dapat berfungsi sebagai akseptor elektron dalam reaksi tipe II, dimana

energi dari fotosensitizer yang tereksitasi ditransfer langsung ke oksigen molekuler, mengubahnya menjadi oksigen singlet ( $^1\text{O}_2$ ). Oksigen siglet ini sangat reaktif dan dapat merusak biomolekuler target (Indrawati *et al.*, 2021)

### 3. Mekanisme Kerja PDI

*Photodynamic Inactivation* (PDI) merupakan metode sterilisasi yang dikenal sebagai pengaktifan fotodinamik (PDI) menggunakan fotosensitizer, cahaya, dan oksigen untuk menghasilkan ROS yang sangat toksik terhadap mikroorganisme. Mekanisme PDI terdiri dari aktivasi fotosensitizer oleh cahaya, yang menghasilkan pembentukan singlet oksigen ( $^1\text{O}_2$ ) serta ROS seperti radikal hidroksil. Spesies ini memiliki kemampuan untuk merusak berbagai struktur seluler, termasuk membran, protein, dan DNA, yang dapat menyebabkan kematian mikroorganisme (Sheng *et al.*, 2022).



**Gambar 2. 1 Mekanisme kerja PDI**  
(Pucelik & Dąbrowski, 2022)

Sistem kerja metode PDI menggunakan interaksi antara fotosensitizer, cahaya, dan oksigen untuk membunuh mikroorganisme (Gambar 2.1). Proses ini dilakukan oleh senyawa fotosensitizer, yang bersifat non-toksik ketika mengalami aktivasi setelah terpapar radiasi cahaya. Setelah fotosensitizer menyerap foton, ia akan beralih ke keadaan tereksitasi dan berinteraksi dengan oksigen sekitarnya, dan menghasilkan ROS, termasuk oksigen singlet dan radikal bebas. Ketika ROS yang dihasilkan dapat memicu kerusakan pada komponen seluler mikroba, seperti membran sel,

protein dan DNA yang akhirnya perujung pada kematian sel (Pucelik & Dąbrowski, 2022)

#### 4. Biru Metilen

Biru metilen merupakan senyawa pewarna fenotiazin yang telah lama digunakan di bidang medis, sebelumnya sebagai antiseptik dan agen bakteri. Seiring perkembangan teknologi, BM dikenal sebagai salah satu fotosensitizer yang paling efektif dalam terapi fotodinamik (PDT) dan metode Photodynamic Inactivation (PDI). Struktur aromatik planar yang memungkinkan cahaya pada panjang gelombang sekitar 600 nm dan mentransfer energi oksigen di sekitarnya untuk menghasilkan spesies ROS, seperti singletoksigen ( $^1O_2$ ) dan radikal bebas, adalah dasar kemampuan fotosensitizer (Sheng *et al.*, 2022)

Beberapa studi menunjukkan efektivitas PDI berbasis BM dalam mengaktivasi biofilm bakteri, salah satu keunggulan BM adalah harganya yang relatif murah dan kemampuannya untuk mengatasi berbagai jenis bakteri, termasuk bakteri yang membentuk biofilm yang sulit diobati dengan antibiotik (Law *et al.*, 2023).

#### 5. Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

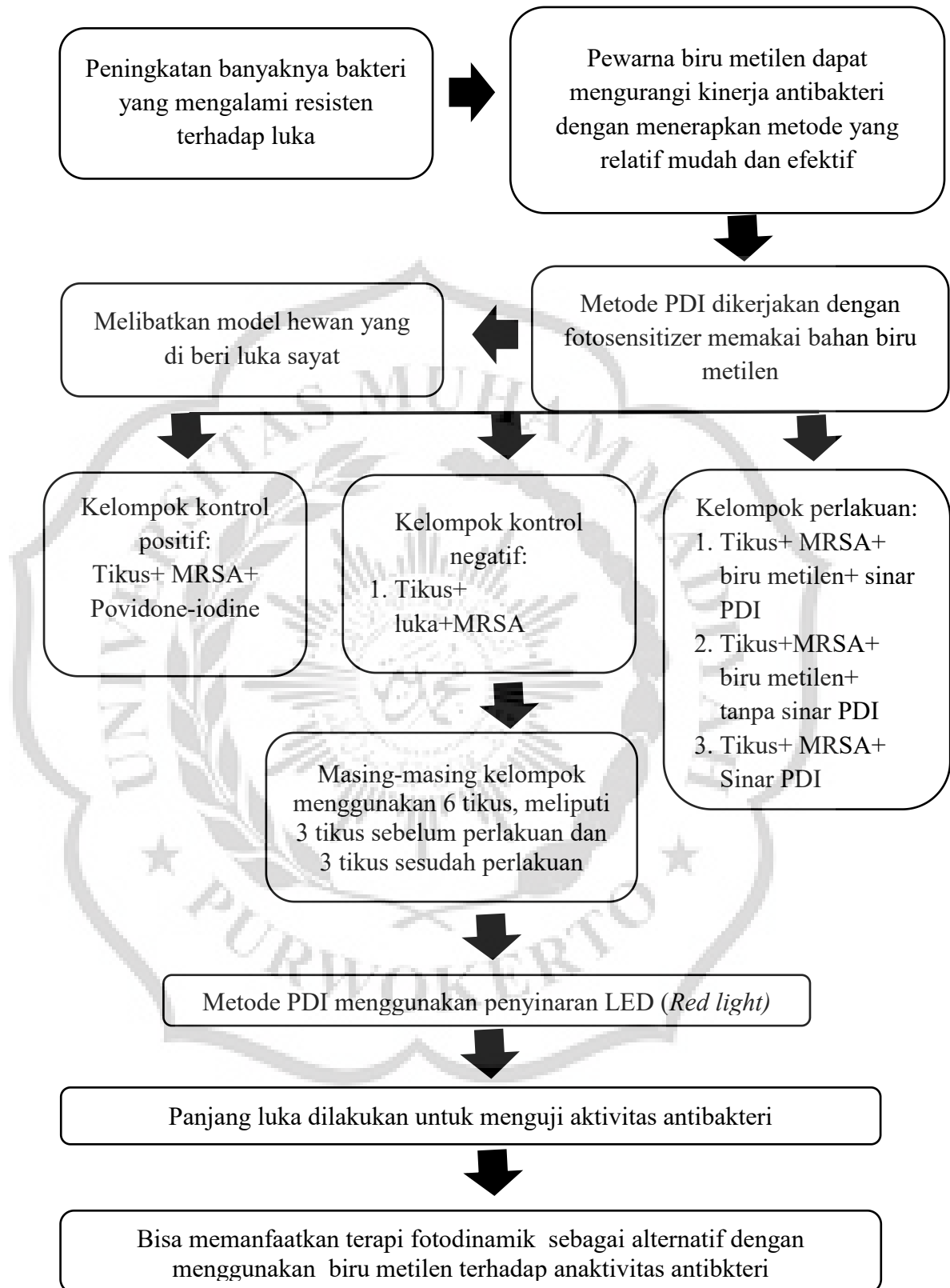
Pada Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang banyak di temukan dalam tubuh manusia, terutama di kulit. Beberapa strain *Staphylococcus aureus* telah mengalami resistensi terhadap metisilin, salah satu jenis antibiotik  $\beta$ -lactam. Strain bakteri ini di kenal sebagai *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA memiliki kemampuan untuk bertahan terhadap antibiotik  $\beta$ -lactam seperti metisislin karena adanya gen *mecA* yang mengkode *PenicillinBinding Protein 2a* (*BPA2a*), sebuah protein dengan afinitas rendah terhadap antibiotik beta-laktam, sehingga bakteri tetap dapat membentuk dinding sel meskipun terpapar antibiotik (Rahman *et al.*, 2023). Taksonomi MRSA (Kourtis *et al.*, 2019)

Domain : Bacteria  
Phylum : Firmicutes  
Class : Bacilli  
Order : Bacillales  
Family : Staphylococcaceae  
Genus : *Staphylococcus*  
Species : *Staphylococcus aureus*  
Strain : *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

## 6. Penggunaan Hewan Uji

Penggunaan hewan uji yang digunakan adalah tikus wistar, karena tikus sering digunakan di bidang penelitian, seperti farmakologi. Penerapan model luka tikus dalam penelitian memiliki relevansi tinggi, karena tikus merupakan model hewan yang sering digunakan dalam studi pengobatan luka. Tikus memiliki kesamaan fisiologis dalam proses penyembuhan luka dengan manusia, sehingga dapat memberikan gambaran yang akurat mengenai efektivitas terapi PDI dalam pengobatan luka yang terinfeksi bakteri. Penelitian oleh (Tarigan *et al.*,2023), mengungkapkan bahwa model tikus memberikan hasil yang sangat mirip dengan kondisi penyembuhan luka pada manusia, sehingga hasil dari penelitian ini dapat diharapkan untuk diterjemahkan ke dalam pengobatan klinis. Selain itu, siklus hidup tikus yang singkat dan mudah dikendalikan dalam lingkungan, sehingga memudahkan untuk melihat proses penyembuhan luka. Selain itu, respons biologis tikus terhadap infeksi bakteri dan proses regenerasi jaringan mirip dengan mekanisme yang terjadi pada manusia. Oleh karena itu, penggunaan tikus sebagai hewan uji dalam penelitian ini dianggap untuk menunjukkan efektivitas terapi sebelum dilakukan uji klinis pada manusia.

### C. Kerangka Konsep



**Gambar 2. 2Kerangka Konsep**

#### **D. Hipotesis**

Kombinasi terapi cahaya *Red Light* dan biru metilen dapat mempercepat proses penyembuhan luka sayat pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)

