

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Penelitian Terdahulu

Penelitian yang dilakukan oleh Stukavec (2008) berjudul “*Comparison of Photodynamic Therapy with Phthalocyanine and Ptofrin in Human Colorectal Carcinoma*” melakukan penelitian yang menunjukkan kemanjuran PDT dengan *phthalocyanine* untuk pengobatan *carcinoma colorectal* yang dilakukan pada tikus. *Phthalocyanine* menjadi fotosensitizer generasi kedua yang paling banyak dipelajari. Senyawa ini menyerap di wilayah panjang gelombang minimal 400-600 nm, sehingga potensiasi sensitivitas kulit terhadap sinar matahari dapat dihindari.

Penelitian yang lain yang berjudul “*Industrial applications of phthalocyanine*” oleh Gregory (2000) *phthalocyanine* yang dapat menyerap inframerah memiliki banyak kegunaan dalam bidang teknologi termasuk terapi fotodinamik, penyimpanan data optik, dan layar tenaga surya.

Penelitian “*Improved efficiency of organic light-emitting diodes using CoPc buffer layer*” oleh Kao *et al* (2005) menyebutkan bahwa *cobalt (II) phthalocyanine* dapat meningkatkan pergantian (turn-on) tegangan, *luminance*, dan kerapatan arus OLED (*Organic Light Emitting Diode*). Di ukur dengan menggunakan CV dan UV-VIS, terjadi peningkatan pergeseran serapan merah yang diamati pada spektrum EL dengan ketebalan lapisan *cobalt (II) phthalocyanine*, yang mungkin disebabkan oleh penyerapan emisi cahaya oleh film *cobalt (II) phthalocyanine* atau efek *microcavity*.

Pada penelitian terdahulu menyatakan bahwa senyawa *phthalocyanine* dan turunan nya *cobalt (II) phthalocyanine* memiliki tujuan dan kegunaan dalam bidang teknologi yang beragam. Penelitian kali ini akan melihat potensi dan kegunaan lebih lanjut dari *cobalt (II) phthalocyanine* sebagai senyawa fotosensitizer yang digunakan dalam *Photodynamic Therapy* (PDT).

B. Kanker

Kanker juga dinamakan neoplasia malignan adalah sebuah kelompok yang terdiri atas lebih dari 100 jenis penyakit berbeda yang ditandai oleh kerusakan DNA (asam deoksiribonukleat) sehingga tumbuh kembang sel tidak berlangsung normal. Sel yang malignan memiliki dua buah ciri khas, yaitu: pertama, sel-sel malignan tidak mampu lagi membelah serta melakukan difernisasi dengan cara yang normal, dan kedua, sel-sel malignan memiliki kemampuan menginvasi jaringan sekitarnya serta bermetastasis ke tempat yang jauh (Kowalak *et al.*, 2013).

Identifikasi keberadaan kanker didasarkan pada jaringan asalnya, tempat dimana tumor itu tumbuh. Dipergunakan istilah 'oma' pada jaringan yang terserang kanker. Dengan memakai akhiran oma, terbentuklah istilah karsinoma, limfoma, sarcoma, sesuai dengan jaringan yang terserang. Karsinoma adalah kanker yang mengenai jaringan epitel, termasuk sel-sel kulit ovarium, payudara, serviks, kolon, pankreas, dan esofagus. Limfoma adalah kanker jaringan limfe yang meliputi kapiler limfe, lakteal, limpa, dan pembuluh limfa. Sarcoma adalah kanker jaringan ikat, termasuk sel-sel otot dan tulang.

Dengan demikian, menurut jenis jaringan yang diserang terdapat 4 jenis utama kanker, yaitu:

1. Karsinoma: yang menyerang jaringan epitel.
2. Sarcoma: yang mengenai jaringan ikat/*connecting tissue* seperti otot dan tulang.
3. Limfoma: yang mengenai jaringan limpa.
4. Leukimia: yang berkaitan dengan jaringan darah/*bone marrow* (sumsum tulang).

Secara umum faktor-faktor yang dianggap sebagai penyebab kanker adalah penyebab kimiawi, penyebab genetik (biomolekuler), nutrisi, hormonal (biokemikal), fisik (*biophysical*), dan virus (bioorganisma).

Beberapa konsep dasar tentang mekanisme kausa terjadinya kanker telah banyak diajukan. Diantara nya adalah teori *Doll's nature, nurture and luck* dalam teori *promotion initiation*.

1. *Doll's nature, nurture and luck*

Nature yang dimaksud adalah bawaan genetika dari individu semenjak lahir, misalnya orang kulit putih lebih berkemungkinan menderita kanker kulit daripada kulit berwarna. *Nurture* berkaitan dengan apa yang dilakukan sejak lahir dan *luck* berkaitan dengan nasib atau faktor kemungkinan. Gabungan ketiga faktor inilah yang menentukan terjadinya kanker. Antara *nature* dan *nurture*, faktor *nurture* kelihatan menonjol pada kanker tertentu dan sebaliknya faktor *nurture* menonjol pada aspek lain terjadinya kanker. Misalnya dari riwayat keluarga wanita yang memiliki anggota keluarga penderita kanker payudara maka risikonya 2-3 kali lebih tinggi daripada wanita yang tidak memiliki anggota keluarga penderita kanker payudara.

2. Teori *Promotion dan Initiation*

Permulaan terjadinya kanker dimulai dengan adanya zat bersifat *initiation*. Yang merangsang perubahan sel. Untuk terjadinya kanker *initiation* perlu disusul dengan zat *promotion* yang mempunyai efek *reversible* terhadap perubahan sel sehingga diperlukan perangsangan yang lama dan berkesinambungan. *Initiaty* agen biasanya berupa unsur kimia, fisik atau biologis yang berkemampuan beraksi langsung dan mengubah struktur dasar dari komponen genetik/DNA sel. Keadaan selanjutnya diikuti dengan tahap promosi. Proses ini ditandai dengan berkembangnya neoplasma dengan terbentuknya formasi tumor. Proses ini berlangsung lama, minggu sampai tahunan seperti kanker payudara (Bustan, 2007).

Pengobatan kanker digunakan dalam bentuk preparat tunggal atau kombinasi (yang dinamakan terapi multimodal) menurut tipe, stadium,

lokalisasi tumor, dan kemampuan merespon serta keterbatasan yang ditimbulkan oleh status klinis pasien. Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan beberapa cara:

1. Pembedahan, tindakan utama dalam penanganan kanker yang secara tipikal dikombinasikan dengan bentuk-bentuk terapi yang lain. Pembedahan dapat dikerjakan untuk menegakkan diagnosis penyakit, memulai terapi primer atau untuk menghasilkan kesembuhan paliatif dan kadang-kadang dilakukan pula untuk tindakan profilaksis.
2. Terapi radiasi, meliputi penggunaan radiasi energi tinggi untuk penanganan kanker. Bertujuan untuk menghancurkan sel kanker yang sedang membelah, sementara sel-sel normal diharapkan hanya mengalami sedikit kerusakan. Terapi radiasi memiliki efek lokal dan sistemik yang merugikan karena tindakan ini mempengaruhi sel-sel normal dan malignan.
3. Kemoterapi, meliputi pemberian obat-obat antineoplastik yang dapat menimbulkan regresi tumor dan menghalangi metastasis. Bermanfaat untuk mengontrol penyakit yang masih tersisa dan sebagai terapi tambahan pada tindakan pembedahan atau radiasi. Kemoterapi memiliki efek merugikan yang menyebabkan perubahan sepiintas dalam jaringan normal, khususnya jaringan dengan sel-sel yang berproliferasi (Kowalak *et al.*, 2013).

C. Photodynamic Therapy (PDT)

Photodynamic therapy adalah pengobatan baru yang digunakan terutama untuk terapi antikanker yang tergantung pada retensi fotosensitizer (PS) pada sel kanker dan radiasi tumor dengan cahaya tampak. Setelah aktivasi, fotosensitizer menghasilkan spesies oksigen reaktif (singlet oksigen $^1\text{O}_2$ dan radikal bebas seperti OH, HO₂, dan O₂⁻) yang mampu merusak membran, DNA dan struktur seluler lainnya, yang berarti bahwa PDT dapat menjadi alternatif terapi yang berguna untuk pengobatan tumor yang resisten terhadap obat (Sobolev *et al.*, 2000).

Keunggulan *photodynamic therapy* untuk terapi kanker adalah sebagai berikut:

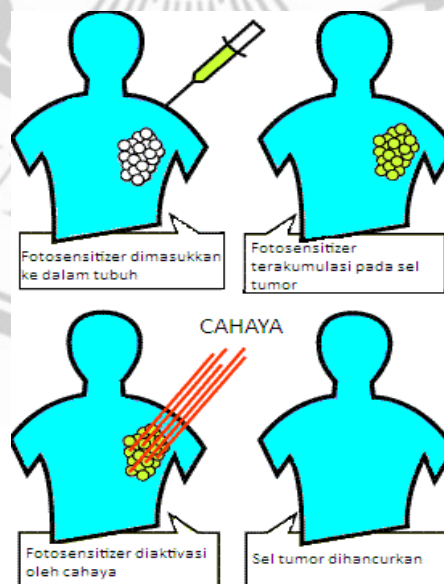
1. Memiliki selektivitas ganda (obat dan cahaya), sementara obat atau terapi cahaya saja tidak berpengaruh.
2. Dapat diberikan sebelum, sesudah, atau secara adjuvant dengan terapi standar lain, termasuk operasi, radiasi, kemoterapi tanpa kontraindikasi yang diketahui.
3. Ada penyembuhan yang sangat baik dari jaringan inang yang normal, dengan pelestarian struktur kolagen.
4. Dapat diulang tanpa menyebabkan resistensi tumor atau hipersensitivitas jaringan normal (Wilson, 2002).

Terapi fotodinamik pada dasarnya melibatkan tiga bahan nontoksik yaitu *visible harmless light*, nontoksik fotosensitizer, dan oksigen. Prinsip bahwa fotosensitizer (yaitu substansi *photoactivatable*) berikatan dengan sel target dan diaktifkan oleh cahaya panjang gelombang yang cocok. Setelah aktivasi fotosensitizer melalui paparan cahaya dari panjang gelombang tertentu, oksigen singlet dan agen reaktif yang diproduksi sangat beracun bagi sel dan bakteri tertentu. Fotosensitizer ini umumnya dipaparkan pada bagian tertentu yang telah ditargetkan. Cahaya yang mengaktifkan fotosensitizer harus dari panjang gelombang tertentu dengan intensitas yang relatif tinggi (Takasaki *et al.*, 2009).

PDT membutuhkan sumber cahaya yang mengaktifkan fotosensitizer melalui paparan *low power-visible light* pada panjang gelombang tertentu. Jaringan manusia efisien mentransmisikan cahaya merah (*red light*), dan aktivasi panjang gelombang yang lama dari fotosensitizer menyebabkan penetrasi cahaya yang lebih dalam. Akibatnya, sebagian besar fotosensitizer diaktifkan melalui *red light* antara 630 dan 700 nm, sesuai dengan kedalaman penetrasi cahaya yaitu 0,5 cm (pada 630 nm) 1,5 cm (pada ~ 700 nm) (Konopka dan Goslinski, 2007). Sebuah fotosensitizer yang ideal haruslah memiliki sifat-sifat tertentu, di antaranya merupakan bahan kimia murni dan dengan komposisi tertentu

yang telah diketahui, memiliki hasil kuantum tinggi untuk produksi oksigen tunggal (*singlet oxygen*), memiliki penyerapan dengan kehilangan koefisien kepunahan (ϵ) yang tinggi pada panjang gelombang yang lebih panjang (merah) yaitu antara 700-800 nm, memiliki reaktivitas fotokimia yang sangat baik, memiliki toksisitas minimal, hanya menjadi racun saat terpapar cahaya, memiliki retensi lebih pada jaringan target, harus cepat dikeluarkan dari tubuh, dapat disintesis dari prekursor yang tersedia serta stabil dan mudah larut dalam cairan jaringan tubuh dan mampu diformulasi, harus murah, dan tersedia secara komersial (Yoon *et al.*, 2013).

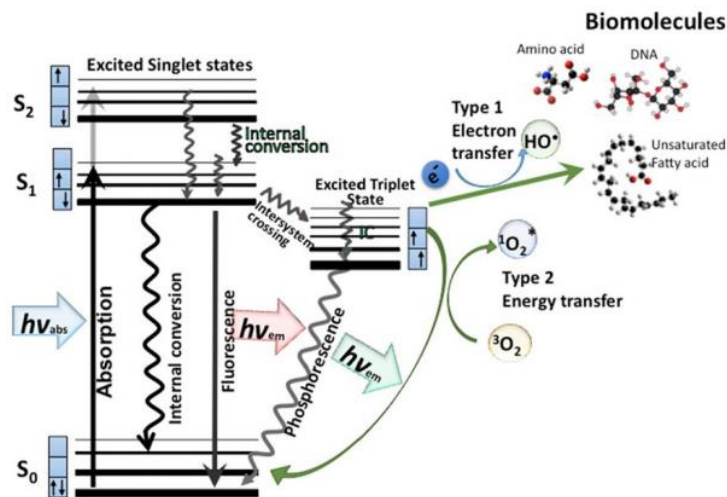
Mekanisme kerja terapi fotodinamik dimulai pada saat fotosensitizer diambil oleh mikroorganisme kemudian diberi paparan cahaya dengan panjang gelombang yang sesuai sehingga tercipta keadaan aktif tereksitasi. Kemudian, fotosensitizer mentransfer energi dari cahaya ke molekul oksigen untuk menghasilkan oksigen singlet dan radikal bebas yang bersifat sitotoksik terhadap sel (Soukos dan Goodson, 2000). Proses ilustrasi PDT dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Ilustrasi tahapan proses PDT (dimodifikasi dari <http://www.photochembgsu.com/applications/therapy.html>)

D. Mekanisme Fotofisika dan Fotokimia PDT

Absorpsi foton oleh fotosensitizer menyebabkan fotosensitizer mengalami satu atau lebih transisi dan biasanya muncul dalam keadaan eksitasi triplet dan kondisi ini menghasilkan reaksi oksidasi reduksi satu electron (fotokimia tipe I) menghasilkan komponen radikal bebas yang dapat bereaksi dengan oksigen untuk menghasilkan radikal peroksida. Fotosensitizer dalam keadaan triplet dapat mentransfer energi ke oksigen dalam keadaan dasar (fotokimia tipe II), menghasilkan singlet. Umumnya fotosensitizer untuk PDT merupakan penghasil oksigen singlet yang efisien dalam system kimia sederhana, dengan demikian diasumsikan fotokimia tipe II adalah mekanisme dominan untuk PDT dalam sel dan jaringan (Dougherty et al., 1998). Oksigen singlet adalah sepsies yang berumur pendek (*nanosecond*) dan dapat kehilangan energy dengan cara memancarkan cahaya (fluoresensi). Oksigen singlet yang tereksitasi mengalami proses yang dikenal sebagai *intersystem crossing* dimana spin dari elektron yang teraktivasi berbalik untuk membentuk keadaan triplet yang lebih lama. Dan berputar secara paralel bersama elektron. sehingga fotosensitizer akan bergerak dari status triplet ke status singlet menghasilkan oksigen singlet (Castano et al., 2004). Mekanisme fotofisika dan fotokimia PDT dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Mekanisme fotofisika dan fotokimia PDT pada diagram Jablonski

(Abrahamse dan Hamblin, 2016)

E. Fotosensitizer dan *cobalt (II) phthalocyanine*.

Fotosensitizer adalah senyawa kimia dengan properti khusus menyerap energi cahaya dengan panjang gelombang spesifik. Penyerapan energi ini memungkinkan reaksi tertentu dalam tubuh sebagai konsekuensi. Panjang gelombang spesifik yang menyerap adalah lebih baik dari cahaya merah yang merupakan karakteristik untuk puncak penyerapan fotosensitizer. Cahaya merah lebih disukai karena menembus jaringan lebih baik daripada cahaya biru, energi yang lebih rendah membuatnya aman bagi sel.

Karakteristik yang diperlukan fotosensitizer adalah senyawa tunggal, absorbansi meningkat di wilayah merah cahaya tampak (untuk mengoptimalkan penetrasi jaringan) dan meningkatkan penyerapan molar koefisien yang menimbulkan lebih baiknya fotosensitizer di jaringan yang lebih dalam sehingga lebih banyak kerusakan tumor, memberikan hasil kuantum yang tinggi pembentukan triplet dan radikal bebas, generasi spesies oksigen sitotoksik yang baik, menunjukkan peningkatan selektivitas untuk jaringan ganas melalui jaringan normal, memiliki interval waktu singkat antara pemberian obat dan akumulasi maksimalnya dalam hiperpoliferasi jaringan, tidak menunjukkan toksisitas gelap (tidak beracun dalam keadaan gelap), memiliki sifat agregasi, muatan ionik, kelarutan, partisi antara air, dan lipid (Santosa dan Leenawaty, 2008).

Sebagian besar fotosensitizer yang digunakan dalam terapi kanker didasarkan pada struktur tetrapirrol makrosiklik, mirip dengan porfirin yang terkandung dalam hemoglobin. Fotosensitizer yang ideal harus menjadi senyawa murni tunggal untuk memungkinkan analisis kontrol kualitas dengan biaya produksi rendah dan stabilitas penyimpanan yang baik. Harus memiliki puncak serapan yang tinggi antara 600 dan 800 nm (merah ke merah tua) (Agostinis *et al.*, 2011). Struktur porfirin dapat dilihat pada Gambar 2.3.

Phthalocyanine memiliki sifat fisik dan kimia yang luar biasa yang memungkinkan banyak unsur untuk dimasukkan dalam struktur

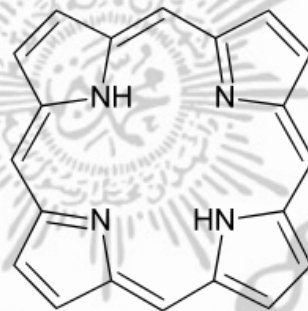
dibandingkan dengan photosensitizer lainnya. Fleksibilitas bahan kimianya memungkinkan untuk melampirkan substituen yang berbeda di posisi porifer dan memungkinkan untuk memiliki banyak kegunaan. *Phthalocyanine* memiliki 16 posisi dimana substitusi dapat terjadi dan ini sangat mempengaruhi sifat kimianya. Turunan *phthalocyanine* sekarang digunakan dalam terapi fotodinamik kanker karena menunjukkan daya serap yang kuat dalam cahaya merah dengan panjang gelombang 600-800 nm (Nyamu *et al.*, 2018). Struktur *phthalocyanine* dapat dilihat pada Gambar 2.4.

Phthalocyanine umumnya terkait dengan porfirin karena kesamaan antara strukturnya. *Phthalocyanine* memiliki empat unit isoindole yang dihubungkan oleh atom nitrogen dalam posisi azo, sedangkan porfirin terdiri dari empat unit *pyrrole* terikat oleh atom karbon. *Phthalocyanine*, dibandingkan dengan porfirin, memiliki konjugasi yang lebih besar (karena struktur cincin), menyebabkan penyerapan radiasi dari panjang gelombang yang lebih panjang dari porfirin. *Phthalocyanine* menyajikan kerangka planar, dan mereka bisa memiliki kelompok hidrofobik yang melekat pada posisi di cincin N. Struktur ini menyajikan kemungkinan tinggi menginduksi pembentukan agregat dengan struktur molekulnya, sifat ini adalah karakter agregasi hidrofobik yang merupakan hasil dari skeleton *phthalocyanine* kecenderungan ini untuk melindungi dirinya sendiri dengan menghindari kontak dengan molekul air. Karakteristik hidrofobik dan hidrofilik adalah salah satu sifat yang penting. *Phthalocyanine* berfungsi sebagai salah satu molekul fotosensitizer generasi kedua terbaik yang digunakan terutama dalam proses fotodinamik. Hasil yang menjanjikan telah diperoleh menggunakan *phthalocyanine* sebagai senyawa aktif fotosensitizer. Generasi kedua fotosensitizer yang sangat berwarna dan lipofilik, dengan sifat fisikokimia dan fotobiologi yang sangat baik dan efek samping yang minimal atau tanpa efek samping (Tedesco *et al.*, 2016).

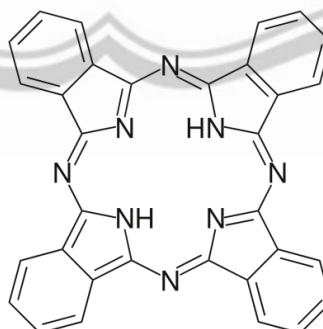
Salah satu turunan dari senyawa *phthalocyanine* adalah *cobalt (II) phthalocyanine* yang memiliki puncak penyerapan terkuat sekitar wilayah

680 nm. Puncak penyerapan terkuat ditetapkan di Q band. Penyerapan Q band dari turunan logam larut *phthalocyanine* ini bergeser 50-80 nm ke panjang gelombang yang lebih panjang dibandingkan dengan *phthalocyanine* yang tidak tersubstitusi logam yang muncul sekitar 600 nm. Pergeseran maxima absorpsi tergantung pada perubahan dalam distribusi elektron dalam *macrocycle phthalocyanine* oleh substituen (Sakamoto dan Eiko, 2009).

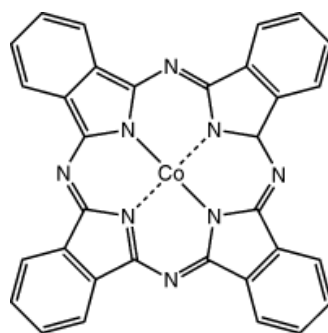
Cobalt (II) phthalocyanine ($C_{32}H_{16}N_8Co$) memiliki berat molekul 571.47 g/mol, dengan bentuk fisik bubuk halus, berwarna biru violet, dapat larut dengan air 0,5%. *Cobalt (II) phthalocyanine* dapat diaplikasikan sebagai pigmen, persiapan pewarnaan PPN dan pewarna phthalogen, oksidasi katalis, dan lain-lain (Narayan, 2010). Struktur *cobalt (II) phthalocyanine* dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.3. Struktur Porphirin



Gambar 2.4. Struktur Phthalocyanine



Gambar 2.5. Struktur *cobalt (II) phthalocyanine*

F. Karakteristik Fisikokimia

1. Absorptivitas Molar (ϵ)

Absorptivitas merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan uji. Absorptivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi. Absorptivitas molar (koefisien peluruhan) memiliki satuan $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$. Konsentrasi dari suatu larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer dengan Persamaan 1 sebagai berikut:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

(1)

Yang mana :

A = Absorban

ϵ = absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

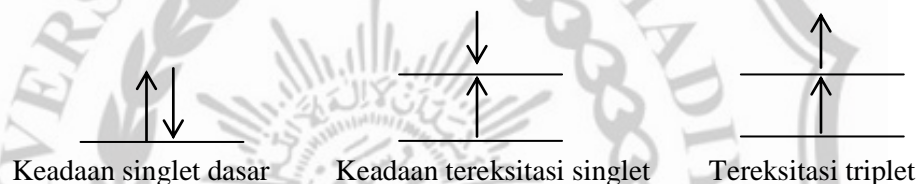
c = konsentrasi

Satuan absorptivitas ditentukan oleh satuan-satuan b dan c. Jika satuan c molar (M) maka absorptivitas disebut absorptivitas molar disimbolkan dengan ϵ . Jika c dinyatakan dengan persen berat/volume (g/100 mL)

maka absorptivitas dapat ditulis dengan $E_{1cm}^{1\%}$ dan juga seringkali ditulis $A_{1cm}^{1\%}$ (Gandjar dan Rohman, 2007).

2. *Quantum yield* oksigen singlet (Φ_{Δ})

Oksigen singlet adalah molekul yang sangat elektrofilik, nonradikal, dan ribuan kali lebih reaktif dibanding oksigen triplet. Perbedaannya dengan oksigen triplet digambarkan pada susunan elektronnya. Oksigen triplet mempunyai dua elektron terluar pada dua orbital terpisah. Sementara oksigen singlet, elektron terluarnya mempunyai spin berlawanan dan berpasangan (Raharjo, 2004). Perbedaan keadaan oksigen singlet dengan keadaan oksigen triplet dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Perbedaan Oksigen Singlet dan Oksigen Triplet (Gandjar dan Rohman, 2007)

3. Stabilitas Senyawa Fotosensitizer

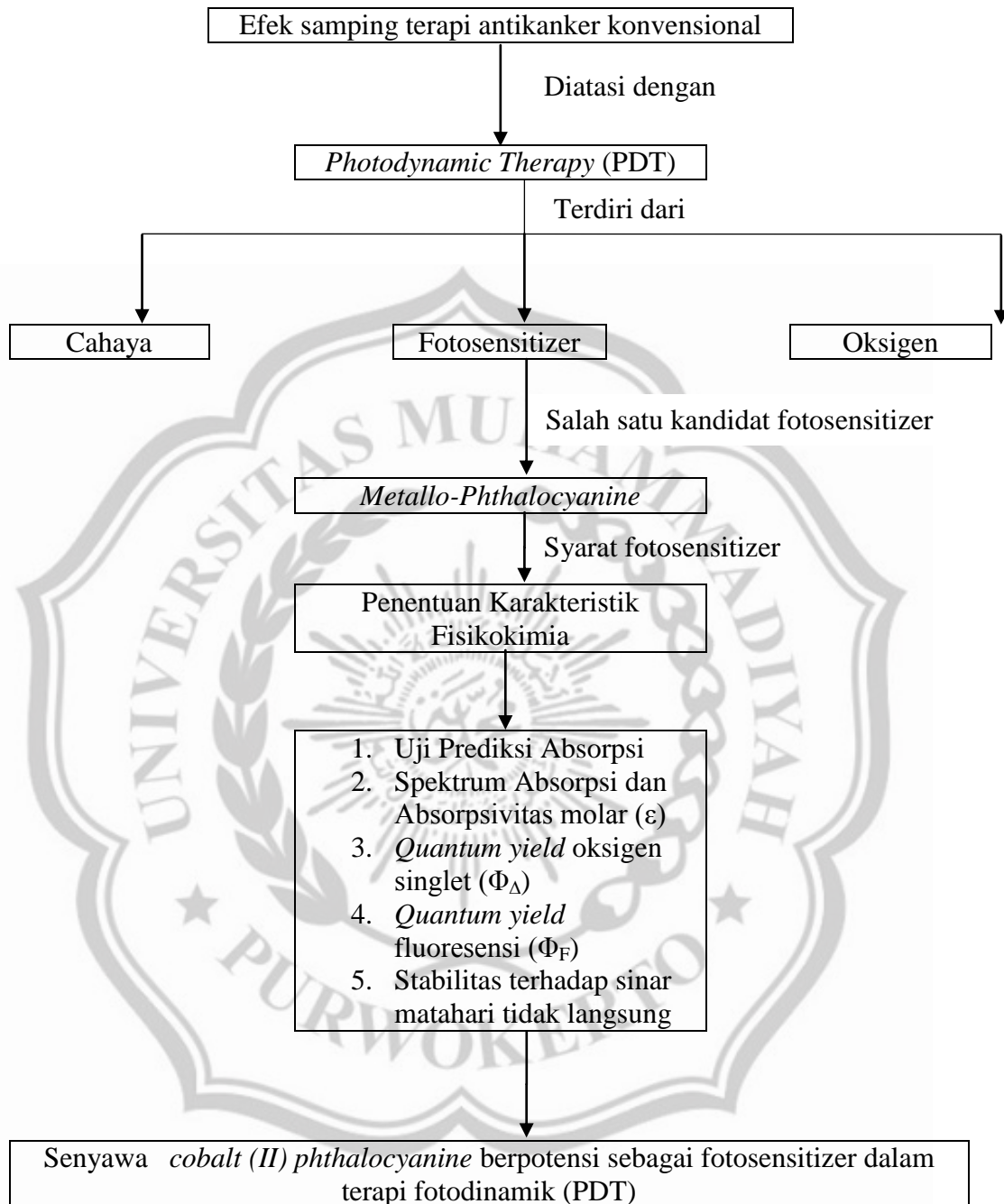
Senyawa yang memiliki kemampuan fotosensitizer cenderung tidak stabil pada cahaya atau mudah mengalami fotodegradasi. Pasien yang diberikan terapi PDT umumnya harus tetap berada dalam kegelapan untuk jangka waktu yang lama setelah pengobatan sehingga fotosensitizer dapat diekskresikan dari tubuh. Fotodegradasi atau kerusakan yang diakibatkan oleh cahaya yang dipaparkan pada senyawa fotosensitizer dapat memberikan pengaruh terhadap efektifitasnya. Senyawa uji diberi paparan cahaya selama 5 jam dengan selang waktu pengukuran tiap 30 menit dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-tampak dan dilihat stabilitas senyawa dari kurva

hubungan antara absorbansi dengan waktu penyimpanan (Christiana, 2008)

4. *Quantum yield* Fluoresensi (Φ_F)

Pada fluoresensi terjadi pemancaran kembali sinar oleh molekul yang telah menyerap energi sinar terjadi dalam waktu yang sangat singkat setelah penyerapan (10^{-8} detik). Jika penyinaran kemudian dihentikan, pemancaran kembali oleh molekul tersebut juga berhenti. Fluoresensi berasal dari transisi antara tingkat-tingkat energi elektronik singlet dalam suatu molekul (Gandjar, 2007). *Quantum yield* fluoresensi adalah rasio jumlah foton yang dipancarkan oleh (S_1) untuk sejumlah foton yang diserap oleh (S_0). *Quantum yield* fluoresensi senyawa dapat ditentukan dengan membandingkan area di bawah spektrum fluoresensi dari senyawa referensi yang hasil kuantum fluoresensinya sudah diketahui (Wardle, 2009).

G. Kerangka Konsep



H. Hipotesis

Maiya (2000) menyatakan bahwa struktur tetrapirrol makrosiklik (pengembangan cincin benzene) akan menguatkan absorpsi pada panjang gelombang (λ) yang lebih besar dan dengan adanya penambahan kation logam akan dapat meningkatkan *intersystem crossing* sehingga pembentukan singlet oksigen semakin efisien. Maka dapat ditarik hipotesis bahwa senyawa *phthalocyanine* dengan struktur dasar tetrapirrol makrosiklik yang mengandung logam Co dapat meningkatkan *intersystem crossing* sehingga mengalami peningkatan aktifitas sebagai fotosensitizer.

