

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Permasalahan utama yang dialami di daerah tropis adalah penyakit infeksi. Masalah ini ditimbulkan oleh mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh, berkembang biak dan menimbulkan penyakit. Terdapat empat kelompok besar hama penyakit, yaitu bakteri, jamur, virus, dan parasit (Brooks *et al*, 2012). Bakteri masuk ke dalam tubuh melalui tempat selaput lendir bertemu dengan kulit, yaitu saluran pernafasan, gastrointestinal (terutama mulut), alat kelamin, dan saluran kemih (Brooks *et al*, 2012). Sekitar 1 dari 10 orang yang masuk di rumah sakit berhadapan dengan kasus nosokomial. Infeksi ini timbul sekurang-kurangnya dalam waktu 3 x 24 jam sejak mulai dirawat. Bakteri yang sering menyebabkan infeksi nosokomial antara lain adalah *Staphylococcus aureus*. Mikroba ini menular melalui makanan, obat, alat kesehatan, atau kontak langsung tangan medis, paramedis, atau personel rumah sakit lainnya (Konoralma, 2019). *Staphylococcus* berasal dari kata *staphylo* yang berarti kelompok buah anggur dan *coccus* yang berarti bulat. *Staphylococcus* tergolong bakteri gram positif. Bakteri ini apabila diamati dibawah mikroskop memiliki bentuk bulat serta bergerombol seperti buah anggur. Bakteri ini juga mencakup mikroba tanah dan dapat ditemui di seluruh dunia.

Solusi yang selama ini diambil untuk mengurangi infeksi, pihak rumah sakit memiliki fasilitas untuk melakukan sterilisasi. Sterilisasi adalah proses menghancurkan semua bentuk mikrobakteri pada permukaan termasuk spora-spora (Neville, 2020). Pada proses sterilisasi, spora bakteri merupakan organisme yang paling resisten diantara semua organisme hidup. Efektifitas sterilisasi tergantung pada jumlah dan jenis mikroorganisme, jumlah dan jenis kontaminasi oleh zat lain, serta ada tidaknya tempat-tempat perlindungan mikroorganisme pada alat (misalkan dengan alat yang bergigi) (Adji, 2007). Sterilisasi harus dilakukan untuk alat-alat kedokteran gigi atau alat lain yang ada kontak langsung dengan darah atau jaringan pada tubuh. Metode sterilisasi yang biasa digunakan

salah satunya adalah sterilisasi panas kering (*dry heat*) (Sunarjo, 2007). Kelemahan dari metode sterilisasi panas kering adalah waktu yang diperlukan tergolong lama, penetrasi materi lambat dan tidak merata, membutuhkan oven dan sumber listrik secara terus menerus, instrumen yang memiliki bahan non-logam seperti plastik dan karet tidak dapat disterilisasi dengan panas kering dan memiliki harga yang mahal (Tietjen *et al*, 2016). Metode lain yang sering digunakan untuk sterilisasi alat adalah autoklaf. Autoklaf menggunakan uap bersuhu dan bertekanan tinggi. Kekurangan dari autoklaf adalah harus menggunakan air mendidih karena uapnya yang memenuhi kompartemen autoklaf dan terdesak keluar dari klep pengaman. Autoklaf memerlukan sumber panas yang terus menerus. Autoklaf membutuhkan peralatan yang butuh perawatan terus menerus (Fardiaz, 1992).

Bakteri *S. aureus* memiliki kecenderungan untuk membentuk biofilm pada peralatan medis. Biofilm merupakan kumpulan dari sel-sel mikroba yang melekat secara ireversibel pada suatu permukaan dan terbungkus dalam matriks *extracellular polymeric substances* (EPS) yang dihasilkannya sendiri serta memperlihatkan adanya perubahan fenotip seperti perubahan tingkat pertumbuhan dan perubahan transkripsi gen dari sel planktonik atau sel bebasnya (Donlan, 2002). Adanya biofilm mengakibatkan bakteri mampu bertahan dari ancaman fisis, kimiawi, atau biologis. Biofilm bekerja dengan menolak aktivitas sistem imun dan menciptakan resistensi terhadap antibiotik (Stephens & Sumner, 2002). Permasalahan resistensi akibat biofilm membutuhkan penanganan yang lebih tepat, salah satunya dengan metode *Photodynamic Inactivation* (PDI).

Photodynamic Inactivation (PDI) memiliki tiga komponen utama, yakni cahaya, fotosensitizer serta oksigen (Rusdi *et al*, 2002). Proses fotoinaktivasi bakteri diawali dengan proses fotosensitisasi. Pada fotoinaktivasi cahaya akan diserap oleh porfirin selanjutnya mengaktifasi terjadinya reaksi kimia yang menghasilkan berbagai spesies oksigen reaktif bergantung pada jenis dan kuantitas dari porfirin yang berperan sebagai molekul pengabsorpsi cahaya (Nitzan *et al*, 2004). Fotoinaktivasi merupakan bagian dari terapi fotodinamik,

dikenal sebagai a-PDT (antimikroba-terapi fotodinamik), bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba patogen yang menyebabkan infeksi dalam tubuh manusia terapi fotodinamik antimikroba (a-PDT) dianggap sebagai sarana yang menjanjikan (Vatansever *et al*, 2013).

Mekanisme fotosensitisasi melibatkan proses fotofisika, fotokimia dan fotobiologi (Astuti *et al*, 2011) Pada proses fotofisika terjadi penyerapan cahaya oleh elektron di dalam molekul dan mengalami perubahan keadaan energi. Porphirin (molekul yang peka terhadap cahaya) mampu menyerap foton dari sumber cahaya yang spektrum serapnya sesuai hingga tereksitasi dari tingkat vibrasi dasar dalam keadaan singlet (S_0) menuju tingkat yang lebih tinggi (S_1, S_2, S_3 , dll). Ketika proses perubahan tingkat vibrasi tersebut energi molekul berkurang atau hilang menjadi energi panas (kalor) karena antar reaksinya dengan molekul-molekul lain. Interaksi antara cahaya dengan fotosensitiser terjadi jika adanya kesesuaian antara panjang gelombang serap fotosensitiser dan panjang gelombang sumber cahaya. Interaksi antara keduanya mampu menyebabkan elektron pada fotosensitiser tereksitasi dan menjadi tidak stabil. Elektron yang tidak stabil memiliki kecenderungan untuk kembali ke kondisi semula. Jika molekul fotosensitiser berinteraksi dengan oksigen menyebabkan terbentuknya ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang mampu memicu kematian sel bakteri. Secara alamiah, bakteri mempunyai porfirin sebagai fotosensitiser endogen yang peka terhadap cahaya.

Penelitian Papageorgiou *et al* (2000) menunjukkan bahwa penyinaran oleh cahaya dengan spektrum panjang gelombang yang sesuai dengan spektrum serap fotosensitiser porfirin serta dosis energi penyinaran yang tepat mampu menyebabkan fotoinaktivasi sel bakteri. Laser dioda merah digunakan karena pada penelitian yang dilakukan oleh (Astuti, 2020) dapat diketahui bahwa dengan panjang gelombang ($658 \pm 0,05$) nm digabungkan dengan eksogen biru mampu untuk menginaktivasi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Molekul ozon merupakan bagian terkecil dari atmosfer bumi (hanya 0,03% dari seluruh total volume pada atmosfer) (Slamet, 2010). Sinar ultraviolet dari pancaran matahari mampu menguraikan gas oksigen (O_2) di udara bebas. Molekul oksigen jadi terurai menjadi dua buah atom oksigen (O^*), proses ini dinamakan photolysis. Kemudian atom oksigen tersebut akan bertumbukan secara alami dengan molekul gas oksigen yang ada disekitarnya, sehingga terbentuknya ozon (O_3) (McConnell & Jin, 2008). Penambahan ozon dilakukan untuk meningkatkan kerusakan pada bakteri karena ozon mempunyai kemampuan membunuh bakteri, virus dan jamur, memperbaiki sirkulasi jaringan, mempercepat epitelisasi jaringan, dan merangsang regenerasi sel (Maslennikov *et al*, 2008) yang bisa mendifusi biofilm di sitoplasma sehingga biofilm mengalami pengikisan. Ozon mampu memberikan reaksi kontinyu sehingga menghasilkan oksigen reaktif dengan memproduksi H_2O_2 (Tanasattha, 2019). Konsentrasi ozon efektif yaitu pada konsentrasi 0,010 mg/L dengan waktu alir 60s dan presentasi reduksi bakteri sebesar (37,78±2,38) %. Kombinasi antara ozon dan fotodinamik memberikan potensi reduksi lebih besar terhadap biofilm *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi ozon 0,010 mg/L, dosis energi laser 28,45 J/cm² dan efektivitas (71,96±4,15) % dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain dengan dosis yang sama besar (Anwar, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Astuti *et al* (2019) menggunakan laser dioda pada panjang gelombang 399,81 ± 15,11 nm dengan ozon output 400mg/h menunjukkan bahwa waktu paparan memiliki pengaruh pada tingkat reduksi bakteri. Perlakuan kombinasi laser dioda dengan ozon mampu memberi tingkat reduksi paling tinggi selama 40 detik pada rentang 20-60 detik karena terbentuknya H_2O_2 dan rapat energi optimal pada waktu tersebut.

Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa kombinasi sumber cahaya laser dioda merah dengan ozon memiliki potensi mereduksi bakteri lebih besar dibandingkan dengan penggunaan laser dioda atau ozon saja. Sehingga, penelitian ini menggunakan laser dioda merah dan kombinasi aktivasi ozon.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah penambahan ozon pada fotodinamik inaktivasi dengan laser dioda merah dapat mereduksi bakteri ?
2. Pada rapat energi laser dioda merah berapa yang optimal untuk mereduksi biofilm bakteri *S. aureus* ?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Perlakuan terhadap bakteri dengan menggunakan laser dioda merah dengan ozon dan tanpa aktivasi ozon. Dengan variasi waktu paparan 10 detik, 20 detik, 30 detik, dan 40 detik.
2. Panjang gelombang dari laser dioda merah adalah $663,85 \pm 0,022$ nm.
3. Metode yang digunakan adalah menghitung nilai OD dengan ELISA *reader* lalu mengkonversi dari nilai OD ke CFU/mL.
4. Jarak pemaparan berjarak 1 cm sesuai dari dimensi dari alat tersedia.
5. Fotosensitisier yang digunakan adalah fotosensitisier endogen (porfirin)

1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh penambahan ozon untuk pemaparan laser dioda merah terhadap presentase reduksi bakteri
2. Mengetahui nilai kerapatan energi terbaik untuk mereduksi biofilm dengan penambahan ozon.

1.5 Manfaat Masalah

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah terkait penelitian pengembangan aplikasi ozon untuk inaktivasi biofilm *Staphylococcus aureus* menggunakan laser dioda merah.

2. Manfaat praktis

Penelitian ini diharapkan mampu dimanfaatkan praktisi untuk sterilisasi peralatan medis