

Potensi Induksi Medan Magnet Eksternal untuk Efektivitas Fotoinaktivasi Bakteri Patogen

Nike Dwi G. D.^{*}, Suryani Dyah Astuti^{*}, Moh. Yasin^{*}

^{*}Program Studi Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

Email : grevika@gmail.com

Abstrak

Pengaruh medan magnet dalam sistem biologis mengakibatkan konversi keadaan energi singlet ke triplet dengan interaksi *hyperfine*. Dengan menginduksikan kuat medan magnet dalam fotoinaktivasi dapat mempercepat proses *intersystem crossing* sehingga mampu menghasilkan banyak spesies oksigen reaktif. Untuk mengetahui potensi kuat medan magnet dalam fotoinaktivasi dilakukan penyinaran cahaya biru dengan variasi kuat medan magnet $B < 1\text{mT}$ yang dihasilkan oleh kumparan Helmholtz. Hasil pengamatan diperoleh berupa data penurunan jumlah koloni bakteri untuk menunjukkan banyaknya produksi oksigen reaktif yang dihasilkan. Hasil analisis data menunjukkan adanya perbedaan bermakna dari koloni kontrol dengan koloni dari masing-masing perlakuan dengan penurunan jumlah koloni semakin besar selaras dengan bertambahnya kuat medan magnet.

Kata kunci: medan magnet, interaksi *hyperfine*, *intersystem crossing*, fotoinaktivasi, spesies oksigen reaktif.

PENDAHULUAN

Mengontrol pertumbuhan koloni bakteri patogen yang resistan terhadap antibiotik, misal *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan tantangan besar dalam dunia medis. Fotoinaktivasi atau *photodynamic inactivation* (PDI) telah memberikan kemajuan pesat dalam pengobatan alternatif dan selektif untuk terapi antimikroba. Fotoinaktivasi merupakan salah satu bagian dari terapi fotodinamik yang menggunakan cahaya dan molekul photosensitizer mengalami proses fotosensitasi untuk menghasilkan suatu radikal bebas yaitu spesies oksigen reaktif yang berfungsi untuk menonaktifkan sel mikroba.

Keberhasilan terapi fotoinaktivasi ditandai oleh banyaknya spesies oksigen reaktif yang dihasilkan dengan memenuhi pemilihan panjang gelombang dan dosis energi yang sesuai dengan spektrum serap molekul photosensitizer (Papageorgiou et al, 2000). Nitzan et al (2004) melaporkan sebagian besar molekul photosensitizer dapat diperoleh di dalam sel bakteri, misal bakteri Gram (+) *Staphylococcus aureus* yaitu molekul porphyrin endogen dengan jenis *coproporphyrin III* yang memiliki spektrum serap di wilayah panjang gelombang cahaya biru. Penelitian ini pun diperkuat dengan hasil analisis absorpsi molekul porphyrin berada di wilayah cahaya biru dengan menggunakan spektrum UV- tampak (Lan et al, 2006). Lipovsky et al (2009) melaporkan hasil fotoinaktivasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan penyinaran lampu halogen 415 nm dan rapat energi 120 J/cm^2 selama 20 menit menghasilkan 90% penurunan koloni bakteri. Disertasi Astuti (2011) melaporkan pula hasil penurunan jumlah koloni sebesar 75% dengan penyinaran LED biru 430 nm dan dosis energi 75% dari rapat energi 135 J/cm^2 .

Dalam mekanisme fotosensitasi terdapat fenomena fisis yaitu interaksi cahaya dengan *photosensitizer* dalam proses fotofisika (Grossweiner, 2005). Proses fotofisika terjadi di wilayah level elektron dari molekul *photosensitizer* dimana tiap molekul memiliki elektron dengan spin berpasangan di level keadaan singlet. Pada saat penyinaran cahaya, peristiwa pertama yang berlangsung adalah molekul menyerap foton cahaya. Sebagian besar molekul organik yang menyerap cahaya ini akan naik ke keadaan eksitasi tertentu, yaitu eksitasi singlet. Proses perubahan level energi ini disebut dengan *internal conversion* (ic). Pada level keadaan eksitasi singlet, molekul bersifat tidak stabil, sehingga ada kemungkinan untuk kembali ke keadaan dasar. Ada pula kemungkinan dapat bereksitasi ke level keadaan triplet. Proses ini disebut dengan *intersystem crossing*

(*isc*). Ciri dari terjadinya proses ini adalah pembalikan salah satu spin dari pasangan spin elektron. Level keadaan eksitasi triplet bersifat reaktif, sehingga dapat berinteraksi dengan molekul disekitarnya misal lipid atau oksigen, sehingga menghasilkan berbagai spesies oksigen reaktif.

Namun, untuk proses *isc* tidak mudah, karena transisi level keadaan eksitasi singlet ke level triplet dilarang. Bagaimanapun, level keadaan triplet sangat berperan penting di dalam mekanisme fotosensitasi, karena hanya di wilayah ini, berbagai spesies oksigen reaktif dapat diperoleh. Untuk itu, dibutuhkan tambahan energi lain seperti menginduksikan kuat medan magnet dalam proses fotosensitasi. Penelusuran pengaruh medan magnet dalam sistem biologis telah diselidiki, salah satunya adalah efek pasangan radikal bebas. Pengaruh medan magnet dalam sel biologis menyebabkan interaksi *hyperfine* sehingga spin elektron molekul

METODE

Penyinaran Cahaya Biru

Penyinaran cahaya biru diberikan oleh 200 LED biru 430 nm yang dipasang pada sebuah papan dengan luas 20cm×20cm. Dosis penyinaran digunakan 75% dari rapat energi 135 J/cm² yang diatur oleh mikrokontroler tipe AVR 8535 dan jarak penyinaran diatur 5 cm dari sampel.

Perlakuan Medan Magnet

Pemaparan induksi medan magnet diberikan oleh kumparan Helmholtz (diameter dalam 15 cm, diameter luar 19 cm, jumlah lilitan 350) dengan pengaturan Power Supply DC (Arus 6 Ampere, voltase 110 Volt dan frekuensi 50/60 Hz). Variasi perlakuan medan magnet diberikan yaitu 0,12 mT; 0,15 mT; 0,2 mT; 0,24 mT yang diukur menggunakan Teslameter analog LEYBOLD- HERAUS 530 7S.

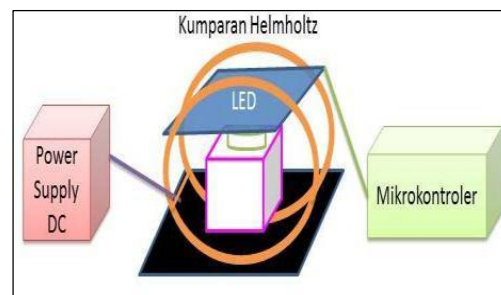
Kultur Bakteri dan porphyrin

Bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Unair dalam agar miring. Metode yang digunakan dalam penghitungan jumlah koloni adalah *total plate counting* (TPC) dengan nilai OD_{660nm} = 0,46 diukur dengan menggunakan spektrofotometer dan tahap pengenceran=10⁻⁴ dari koloni bakteri. Media

bakteri dalam pengenceran digunakan vortex selama 1 menit.

Experimental

Persiapan set up alat ditunjukkan dalam Gambar 1 dan diradiasi sinar-UV agar steril. Penyinaran dan induksi medan magnet dipaparkan dalam sampel bakteri (cair) yang ditempatkan dalam cawan petri (diameter 6 cm) sebagai perlakuan dan sampel bakteri lain tanpa dilakukan penyinaran dan medan magnet sebagai kontrol. Penghitungan jumlah koloni bakteri dilakukan setelah didiamkan selama 24 jam. Untuk memaksimalkan hasil data, selama perlakuan dilakukan di tempat gelap dan dikondisikan pada suhu ruang.

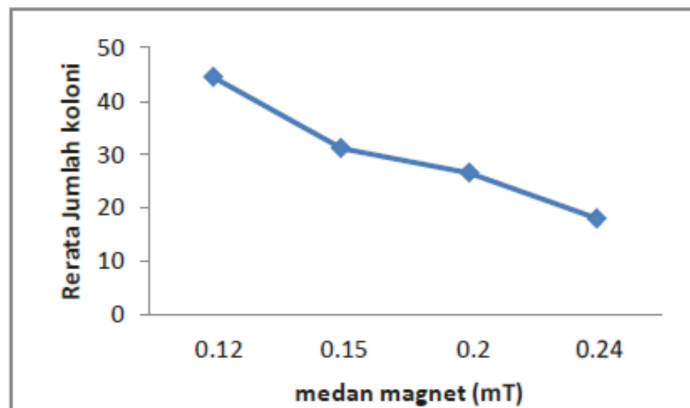


Gambar 1. Set Up Eksperimen

Data digambarkan dalam grafik rerata penurunan jumlah koloni bakteri terhadap masing-masing perlakuan kuat medan magnet. Data pengamatan dianalisis menggunakan uji *independent sample test* untuk mengetahui perbedaan antara koloni kontrol dengan koloni masing-masing perlakuan. Standar signifikansi diatur $\alpha=0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil data pengamatan, diperoleh penurunan jumlah koloni selaras dengan bertambahnya kuat medan magnet (ditunjukkan Gambar 2).



Gambar 2. Grafik Penurunan koloni bakteri terhadap variasi kuat medan magnet

Banyaknya penurunan jumlah koloni menunjukkan besar konsentrasi spesies oksigen reaktif yang dihasilkan. Spesies oksigen reaktif dalam fotosensitasi diperoleh dari proses fotokimia dengan dua jalur yaitu jalur I adalah foto-oksidasi antara molekul dalam sel atau jaringan dengan photosensitizer triplet menghasilkan oksigen radikal sedangkan jalur II adalah interaksi transfer energi photosensitizer triplet dengan molekul oksigen menghasilkan oksigen singlet (Grossweiner, 2005).

Tabel 1. Analisis Penurunan jumlah koloni

Kel. perlakuan	N	(%)penurunan bakteri		Uji t	
		Rerata	SD	Sig. (p)	kesimpulan
0,12 mT	10	49.83	7.397	0.031	terdapat perbedaan bermakna
0,15 mT	10	64.93	8.66	0.062	
0,2 mT	10	70.12	5.874	0.028	
0,24 mT	10	80.72	2.424	0.008	
Total	50	66.4	2.33449	-	

Perbedaan jumlah koloni antara kontrol dengan setiap perlakuan dilakukan analisis statistik *independent sample test* menggunakan SPSS. Hasil data analisis terangkum dalam Tabel I. Hasil keluaran data

menunjukkan prosentase penurunan untuk masing-masing perlakuan terdistribusi normal dan hasil *Levene's test for equality variances* (uji homogenitas) menunjukkan untuk perlakuan 0,12 mT; 0,2 mT dan 0,24 mT memiliki signifikansi $(p) < 0,05$ menyatakan bahwa kelompok varians antara setiap perlakuan dan kontrol tidak sama besar sehingga keluaran independent sample test ditunjukkan oleh *Equal variances not assumed*, sedangkan perlakuan 0,15 mT memperoleh signifikansi $(p) > 0,05$ menunjukkan kelompok varian perlakuan dan kontrol sama besar sehingga keluaran independent sample test ditunjukkan oleh *Equal variances assumed*. Hasil keluaran *independent sample test* dari masing-masing perlakuan memiliki signifikansi yang sama yaitu $(p) = 0,000$ lebih kecil dari 0,05 sehingga diperoleh kesimpulan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada setiap perlakuan yang dilakukan.

Pada Tabel 1 juga menunjukkan bahwa kombinasi penyinaran LED biru dosis energi 75% dan induksi kuat medan magnet menghasilkan prosentase penurunan jumlah koloni terbesar 80,72% dengan simpangan baku 2,424 pada perlakuan medan magnet 0,24 mT. Dari hasil analisis diperoleh kesimpulan bahwa induksi medan magnet dapat berpotensi membantu menurunkan jumlah koloni dalam terapi fotoinaktivasi bakteri.

Penurunan koloni bakteri yang banyak ditunjukkan oleh banyaknya spesies oksigen reaktif yang dihasilkan. Dalam hasil data yang diperoleh, menunjukkan banyaknya penurunan jumlah koloni selaras dengan bertambahnya kuat medan magnet. Pengaruh medan magnet dalam sistem biologis dan kimia mendorong Interaksi hyperfine sehingga menyebabkan konversi singlet ke triplet melalui pembagian beberapa tingkat energi dari pengurangan dan penambahan energi dari medan magnet (Demtroder, 2010).

Konversi singlet ke triplet sebenarnya dilarang oleh aturan kaidah seleksi namun akibat pengaruh medan magnet menyebabkan *spin orbit coupling* meningkat sehingga terjadi pembagian energi. Interaksi hyperfine relevan terjadi pada kuat medan magnet minimal 1-10 mT atau lebih besar dari ini (Engstrom, 2006). Namun terdapat probabilitas induksi medan magnet dengan besar $< 1\text{mT}$ dapat mengaplikasikan mekanisme spin relaksasi akibat modulasi anisotropik interaksi hyperfine, modulasi isotropik interaksi hyperfine dan modulasi interaksi spin-rotasi (Fedin et al, 2003). Günaydin-Sen et al (2011) melaporkan bahwa pengaruh medan magnet dapat memperkecil celah tingkat energi singlet ke triplet dalam proses fotokimia. Jika celah tingkat energi singlet–triplet kecil memungkinkan *lifetime intersystem crossing* semakin cepat sehingga semakin cepat menghasilkan spesies oksigen reaktif.

KESIMPULAN

Pemaparan induksi kuat medan magnet dalam fotoinaktivasi telah berpotensi dalam menurunkan jumlah koloni bakteri dengan adanya perbedaan dari hasil pada setiap perlakuan. Penelitian ini merupakan langkah awal dalam mencapai keberhasilan terapi fotoinaktivasi. Diperlukan penelitian lanjut seperti optimasi kombinasi dosis energi cahaya dan kuat medan magnet serta eksperimental in vivo untuk mengetahui pengaruh keduanya dalam sel biologis dan penentuan dosimetri.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashkenzi H., Malik Z., Harth Y., Nitzan Y., 2003, Eradication of *Propionibacterium acnes* by its endogenic porphyrin after illumination with high intensity blue light, *FEMS Immunol. Med. Microbiol* 35 p. 684-688
- Astuti, Suryani Dyah., 2010. POTENSI LIGHT EMITTING DIODE (LED) BIRU UNTUK FOTOINAKTIVASI BAKTERI *Staphylococcus aureus* DENGAN PORFIRIN ENDOGEN. Pascasarjana Universitas Airlangga
- Demtroder, Wolfgang., 2010. *Atom, Molecules and Photons: An Introduction to Atomic-, Molecular- and Quantum Physics, Second Edition*. Springer: New York.
- Engström Stevan., 2006. Bioengineering and Biophysical Aspects of Electromagnetic Fields Edited by Frank S . Barnes and Ben Greenebaum: Magnetic Field Effect on Free Radical Reactions in Biology. Taylor & Francis Group.
- Fedin M.V., Purtov P.A., Bagryansyakaya E.G., 2003. Spin relaxation of radical in low and zero magnetic field. *JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS* Volume 118. DOI:10.1063/1.1523012 pp192-201
- Grossweiner, L. I. 2005. *The Science of Phototherapy: An Introduction*. Springer: USA.
- Lan Minbo, Zhao Hongli, Yuan Huihui, Jiang Chengrui, Zuo Shaohua, Jiang Hui., 2007. Absorption and EPR spektra of some porphyrin and methalloporphyrin. Doi:10.1016/j.dyepig.2006.02.018, pp.357-362
- Nitzan Y., Divon M.S., Shporen E., Malik Z., 2004, ALA Induced Photodynamic Effect on Gram Positive and Negative bacteria, *Journal Photochem.&Photobiol.*, vol 3, pp.

430-435

Papageorgiu, P. et al. 1999. Phototherapy with Blue (415nm) and Red (660nm) Light in The Treatment of Acne Vulgaris, *British Journal of Dermatology*: 2000.

Günaydin-Sen Ö., Fosso-Tande J., Chen P., White J. L., Allen T.L., Cherian J., Tokumoto T., Lahti P.M., McGill S., Harrison R.J., Musfeldt J.L., 2011. Manipulating equilibrium Singlet-Triplet in Organic Biradical material.