

REVIEW ARTICLE

TERAPI FOTODINAMIK ANTIMIKROBA: PROSPEK BARU DALAM PENANGANAN PANGAN?

*Antimicrobial Photodynamic Therapy: A New Prospect in Food Handling?*Renny Indrawati^{1,2)}, Amelia Myristi Lolita¹⁾, Leenawaty Limantara³⁾¹⁾Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments, Universitas Ma Chung,
Villa Puncak Tidar N-1, Malang²⁾Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung,
Villa Puncak Tidar N-1, Malang³⁾Center for Urban Studies, Universitas Pembangunan Jaya,
Jalan Cendrawasih, Tangerang Selatan¹⁾e-mail: renny.indrawati@machung.ac.id

DOI: 10.20527/jst.k.v15i1.8771

Submitted: July 14, 2020; Revised version accepted for publication: October 15, 2020;

Available online: January 21, 2021

ABSTRAK

Terapi fotodinamik antimikroba merupakan kombinasi reaksi fisika dan kimia yang melibatkan interaksi antara sensitizer, cahaya, dan oksigen, untuk menghasilkan spesi oksigen reaktif yang dapat memicu kematian sel mikroba. Sensitizer merupakan senyawa kimia yang dapat teraktivasi oleh cahaya. Senyawa yang dapat digunakan sebagai sensitizer antara lain adalah dari kelompok zat warna dengan struktur trisiklik (riboflavin, metilen biru, eritrosin), tetrapirrol (klorofil, porfirin, ftalosianina), serta fukokoumarin (psoralen, ksantotoksin). Cahaya yang digunakan tidak terbatas pada rentang ultra-violet, sebagaimana telah banyak diaplikasikan pada metode disinfeksi, tetapi juga dapat berasal dari rentang panjang gelombang cahaya tampak. Pembentukan spesi oksigen reaktif dapat melalui jalur mekanisme transfer energi ataupun transfer elektron. Metode inaktivasi mikroba secara fotodinamik menawarkan perlakuan tanpa panas, waktu kerja yang singkat, meminimalkan kemungkinan berkembangnya resistensi mikroba, serta ramah lingkungan. Kajian pustaka ini akan membahas tentang komponen terapi fotodinamik antimikroba, mekanisme reaksi, perkembangan penelitian di dalam dan luar negeri, serta prospek aplikasinya dalam penanganan pangan.

Kata Kunci: antimikroba, cahaya, fotodinamika, penanganan pangan, sensitizer

ABSTRACT

Antimicrobial photodynamic therapy is a combination of physical and chemical reaction which involves the interaction between sensitizer, light, as well as oxygen, to induce the microbial cell death via production of reactive oxygen species. Sensitizer is a compound activated by light. Sensitizer might belong to the groups of pigments with the typical structure of tricyclic (riboflavin, methylene blue, erythrosine), tetrapyrrole (chlorophyll, porphyrin, phthalocyanines), and fucocoumarines (psoralen, xantotoxin). The applicable light wavelength not only comes from the region of ultra-violet, but also from the visible lights. The reactive oxygen species can be formed either from the mechanism of energy transfer or electron transfer. This photodynamic inactivation technique is a non-thermal treatment, environmental-friendly, takes in relatively short time, and minimizes the risk of microbial resistance. This review will discuss the components of antimicrobial photodynamic therapy, its mechanism of actions, recent studies in Indonesia and foreign countries, as well as its prospect of application in food handlings.

Keywords: antimicrobe, light, photodynamics, food handling, sensitizer.

PENDAHULUAN

Pengendalian jumlah mikroba merupakan aspek yang sangat penting dalam penanganan dan keamanan bahan pangan. Pengendalian mikroorganisme dapat dilakukan secara kimia, misal dengan penambahan asam, garam, zat pengawet, ataupun secara fisika, misal dengan perlakuan pemanasan, pengeringan, dan penyinaran. Penggunaan cahaya untuk mengendalikan jumlah mikroba dalam pengolahan pangan telah sejak lama diterapkan, namun didominasi oleh cahaya ultra-violet hingga cahaya tampak biru. Pada rentang ini, panjang gelombang cahaya membawa energi yang lebih besar dan berpotensi menyebabkan perubahan pada ikatan kimia. Terapi fotodinamik antimikroba menawarkan proses inaktivasi non-termal melalui mekanisme reaksi yang berlangsung sangat cepat (dalam satuan mikrodetik), serta memungkinkan penggunaan cahaya tampak pada panjang gelombang dengan energi rendah.

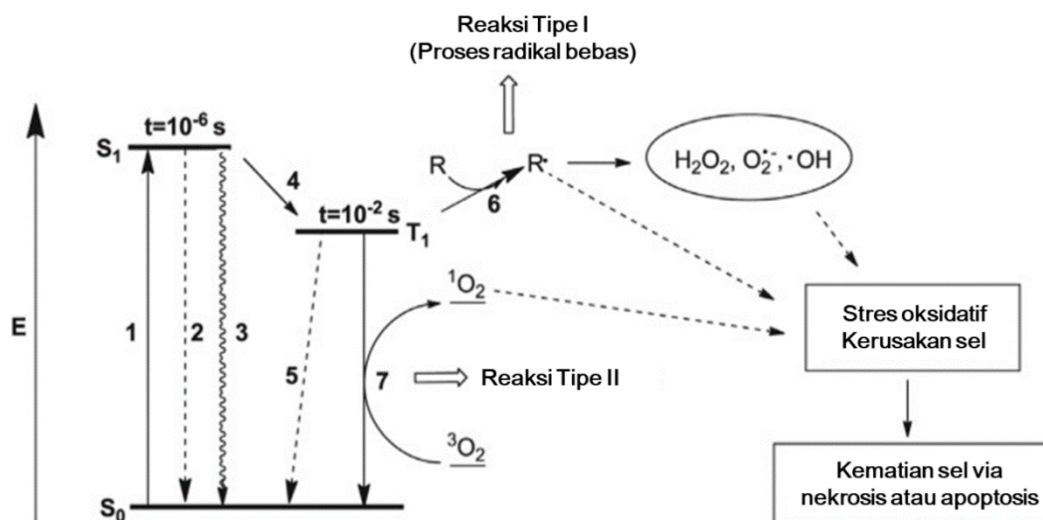
Prinsip inaktivasi sel melalui reaksi fotodinamika sebenarnya telah sejak lama digunakan dalam bidang medis untuk pengobatan tumor, kanker, serta sejumlah kasus infeksi, yakni dikenal sebagai terapi fotodinamika (*photodynamic therapy*, PDT). Namun, pada perkembangan berikutnya, terapi fotodinamika juga menjadi pendekatan baru untuk digunakan pada inaktivasi sel mikroorganisme patogen, baik untuk tujuan medis, pertanian, perikanan, maupun dalam pengolahan pangan (Alves *et al.*, 2014), yaitu yang dikenal dengan terapi fotodinamik

antimikroba atau terapi inaktivasi secara fotodinamik (*photodynamic inactivation*, PDI). Metode fotodinamika merupakan perlakuan fisiko-kimia yang melibatkan reaksi antara senyawa peka cahaya (*sensitizer*) non-toksik, energi foton dari cahaya, serta oksigen di lingkungan untuk menghasilkan senyawa oksigen radikal yang memicu kematian sel. Namun, sejauh mana metode ini dapat digunakan untuk inaktivasi mikroba patogen dan bagaimana potensinya pada penanganan bahan pangan akan dibahas secara khusus pada kajian pustaka ini.

PRINSIP DAN KOMPONEN REAKSI FOTODINAMIKA

Prinsip Reaksi Fotodinamika

Cahaya telah dimanfaatkan untuk penanganan penyakit sejak zaman kuno. Masyarakat Mesir, India, dan Tiongkok telah mengenal “fototerapi” sejak sekitar 3000 sebelum Masehi. Mereka yang menggunakan ekstrak tumbuhan yang mengandung psoralen dan cahaya untuk pengobatan psoriasis dan vitiligo pada kulit manusia (Zhao & He, 2010). Istilah “fotodinamika” baru dimunculkan tahun 1904 oleh Herman Von Tappeiner dan Joldbauer, ahli farmakologi dan toksikologi berkebangsaan Jerman, untuk menjelaskan reaksi kimia yang bergantung pada oksigen dan diinduksi melalui fotosensitasi (Santosa & Limantara, 2010). Von Tappeiner mengamati reaksi yang terjadi pada eosin dengan adanya iradiasi.



Gambar 1. Proses fotodinamika yang terjadi antara cahaya, sensitizer, dan oksigen dalam mekanisme inaktivasi sel (Yoon & Shim, 2013).

Tiga unsur utama pada reaksi fotodinamika adalah cahaya, oksigen, dan senyawa kimia yang disebut sebagai “fotosensitizer” (sensitizer). Gambar 1 menunjukkan proses fotofisika yang terlibat dalam proses inaktivasi metode fotodinamika berdasarkan Diagram Jablonski. Senyawa sensitizer akan teraktivasi dari level energi terendah (S_0) ke level 1 eksitasi (S_1) akibat penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu (1). Senyawa pada level S_1 dapat kembali ke level S_0 dengan cara mengemisikan energi secara fluoresensi (2) atau konversi internal (3). Alternatif lainnya, senyawa ini dapat mengalami konversi ke level energi eksitasi terdekat T_1 yang relatif lebih stabil (4), kemudian kembali ke level S_0 dengan mengemisikan energi secara fosforesensi (5). Namun, transfer energi ini akan menghasilkan spesi oksigen radikal (*radical oxygen species*, ROS) yang menyebabkan kerusakan hingga kematian sel (6, 7) (Yoon *et al.*, 2013).

Terdapat dua jenis reaksi yang melibatkan oksigen untuk mengembalikan tingkat energi sensitizer dari T_1 ke S_0 . Reaksi tipe I melibatkan pelepasan hidrogen atau transfer elektron antara molekul sensitizer yang tereksitasi dengan molekul lain yang berdekatan, sehingga mengakibatkan pembentukan ion radikal. Radikal yang terbentuk dapat bereaksi dengan oksigen pada tingkat energi dasar (3O_2) untuk menghasilkan ROS seperti anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil ($OH^{\bullet}$). Pada reaksi tipe II, energi dari tingkat T_1 diteruskan secara langsung pada 3O_2 , dan menyebabkan eksitasi menjadi oksigen singlet (1O_2). Transfer energi kepada 3O_2 hanya dapat terjadi jika suatu sensitizer berada pada keadaan triplet yang sama, atau berada pada T_1 , sebagai tingkat energi dasar oksigen (Ormond & Freeman, 2013).

Kecenderungan tipe reaksi yang terjadi bergantung pada kelimpahan senyawa (substrat) yang berada di dekat sensitizer tereksitasi tersebut. Pada reaksi tipe I,

dihasilkan radikal atau ion radikal pada molekul sensitizer dan substrat, karena umumnya dalam keadaan ini substrat mendonasikan satu elektron pada sensitizer. Dengan adanya oksigen, kedua radikal ini dapat bereaksi lebih lanjut untuk menghasilkan produk teroksidasi, misalnya superoksida dan radikal hidroksil. Reaksi ini terjadi saat konsentrasi substrat tinggi dan konsentrasi oksigen rendah. Namun, pada reaksi tipe II, ekstra elektron ditransfer pada oksigen membentuk anion radikal superoksida, dan dengan demikian meregenerasi sensitizer kembali pada tingkat energi dasar. Reaksi ini terjadi saat konsentrasi substrat rendah sedangkan oksigen lebih mendominasi (Oleinick, 2011).

Sejak awal mula dikenal, prinsip reaksi fotodinamika lebih banyak ditujukan pada aplikasi di bidang pengobatan. Namun, seiring perkembangan penelitian yang dilakukan oleh para ilmuwan, reaksi fotodinamika tidak hanya menjadi dasar pengembangan terapi fotodinamika untuk pengobatan tumor dan kanker (PDT) (Allison & Moghissi, 2013), tetapi juga teknologi inaktivasi mikroorganisme (PDI) untuk tujuan aplikasi di bidang medis, pertanian, perikanan, serta keamanan pangan (Hamblin & Jori, 2015; Alves *et al.*, 2014). PDI merupakan strategi antimikroba baru yang dilaporkan cukup efektif untuk menginaktivasi berbagai patogen dalam spektrum yang luas, bahkan termasuk mikroorganisme yang resisten terhadap antimikroba konvensional serta mikroba yang membentuk biofilm (Mesquita *et al.*, 2018).

Sensitizer

Sensitizer (fotosensitizer) dapat didefinisikan sebagai senyawa kimia dengan sifat khas yang mampu menyerap energi cahaya pada panjang gelombang tertentu, serta menghasilkan spesi oksigen radikal (ROS). Suatu sensitizer harus memiliki koefisien serapan molar yang lebih tinggi sehingga dapat menghasilkan molekul yang tereksitasi pada pencahayaan panjang gelombang tertentu (Santosa & Limantara, 2010). Selain itu, sensitizer yang ideal tidak bersifat toksik terhadap sel mamalia, tidak bersifat mutagenik, stabil, dan menunjukkan selektivitas terhadap sel target. Diantara ketiga komponen reaksi fotodinamika, sensitizer merupakan komponen yang paling memungkinkan untuk dimodifikasi guna meningkatkan efektivitas reaksi (Indrawati *et al.*, 2010).

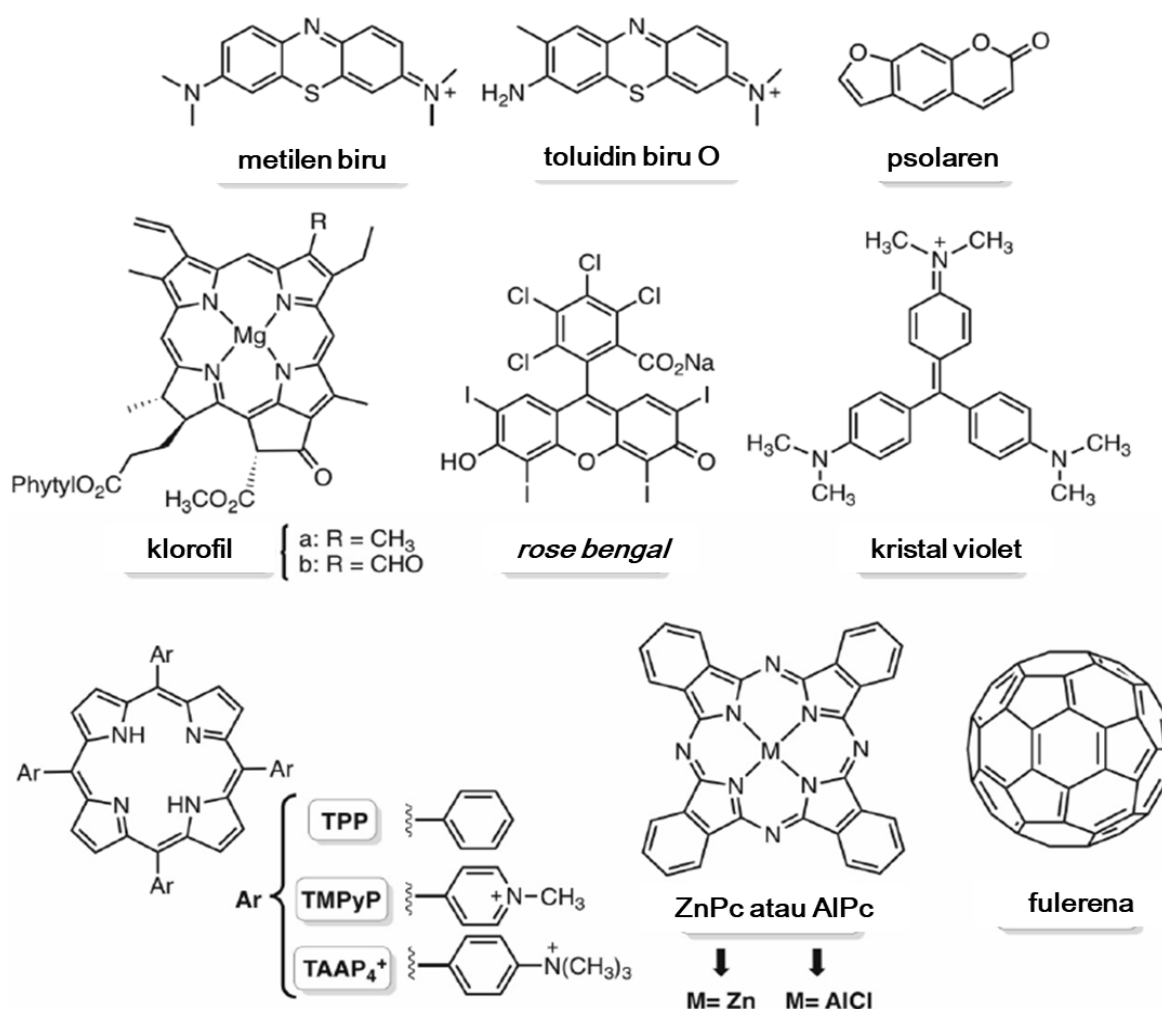
Dalam kaitannya dengan tujuan inaktivasi mikroorganisme, dapat dijabarkan sifat sensitizer yang diinginkan sebagai berikut: mampu menyebabkan penurunan jumlah sel target yang hidup $> 3\log_{10}$ CFU, dapat menghasilkan singlet oksigen dalam jumlah tinggi (*quantum yield*), fotostabil, spektrum antimikroba luas, afinitas tinggi terhadap mikroorganisme tetapi rendah terhadap sel mamalia, tidak menyebabkan perubahan struktur DNA, dan tidak toksik dalam gelap. Selain itu, molekul sensitizer diharapkan memiliki serapan di wilayah *therapeutic window* (600–1200 nm), di mana hanya komponen sel target yang akan diinaktivasi, tanpa mempengaruhi ataupun

merusak komponen sel eukariotik disekitarnya (Tim, 2015).

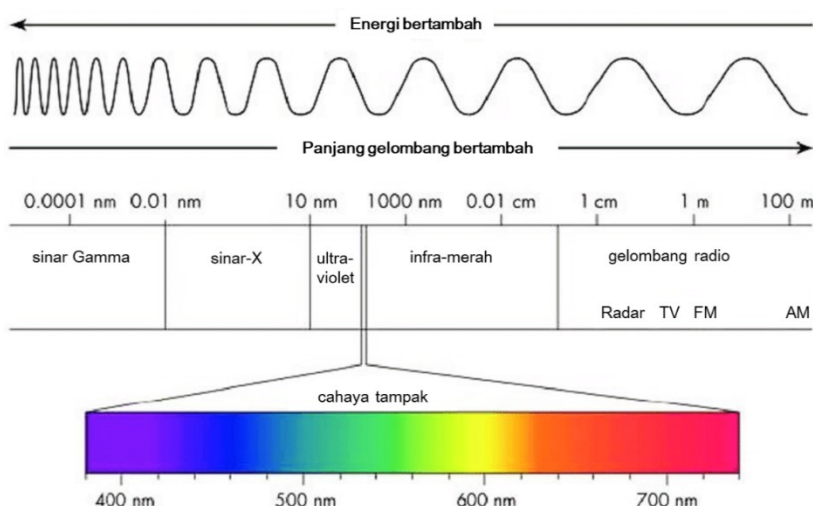
Gambar 2 berikut menampilkan jenis dan struktur sejumlah senyawa yang telah digunakan sebagai sensitizer untuk tujuan inaktivasi mikroorganisme. Senyawa klorofil dan turunannya merupakan salah satu sensitizer alami potensial yang umum digunakan sebagai agen antimikroba melalui reaksi fotodinamika.

Cahaya

Cahaya merupakan gelombang elektromagnetik, memiliki tingkat energi yang berbanding terbalik terhadap panjang gelombangnya (Gambar 3). Dalam dekade terakhir, perkembangan terapi dengan cahaya mengarah pada upaya melawan penyakit yang disebabkan infeksi, khususnya ditujukan untuk inaktivasi mikroba yang resisten terhadap antibiotik. Tiga jenis cahaya yang umum diteliti untuk antimikroba dari iradiasi ultra-violet, cahaya biru, serta terapi fotodinamika (Lu *et al.*, 2018).



Gambar 2. Struktur inti dari beberapa fotosensitizer alami dan sintetik yang umum digunakan sebagai agen antimikroba (Mesquita *et al.* 2018). Keterangan: TPP = trifenil porfirin; TMPyP = tetrametilpiridil porfirin; TAAP₄⁺ = tetra(4-piridil) porfirin; Pc = ftalosianina.



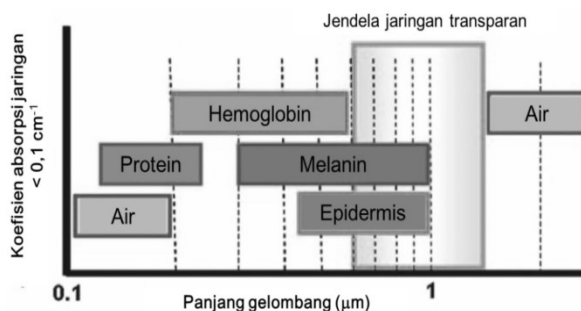
Gambar 3. Diagram spektrum elektromagnetik cahaya (Secades *et al.*, 2014).

Cahaya di rentang ultra-violet (100–400 nm) paling umum digunakan dalam teknologi pengolahan pangan, sebagai alternatif metode inaktivasi mikroorganisme patogen tanpa panas dan tanpa penggunaan zat kimia sintetis, misalnya pada air minum, sayuran dan buah-buahan. Namun, penggunaannya dalam bahan pangan dibatasi oleh transmisi sinar UV yang rendah dalam bahan pangan berwujud cair, seperti susu, jus, minuman berkarbonasi, serta keberadaan garam dan mineral terlarut dalam air minum (Koutchma, 2009; Guerrero-Beltrán & Barbosa-Cánovas 2004). Radiasi UV bersifat merusak DNA mikroba dan menyebabkan denaturasi protein (Lado and Yousef 2002). Selain itu, sinar UV juga menyebabkan degradasi vitamin A, B₂, C, dan E (Guneser & Yuceer, 2012).

Pada rentang cahaya tampak (400–700 nm), telah dilakukan penelitian efek bakterisidal atau bakteriostatik menggunakan iradiasi 461, 521, dan 642 nm. Menariknya, cahaya tampak pada 461 dan 521 nm dapat menunjukkan efek bakterisidal pada 10°C dan 15°C, namun tidak pada 20°C, serta tidak

ditunjukkan efek apapun pada pencahayaan 642 nm (Ghate *et al.*, 2013). Hasil ini turut dipengaruhi oleh tingkat energi cahaya, di mana panjang gelombang yang lebih besar akan memiliki tingkat energi lebih rendah. Cahaya biru dapat menunjukkan sifat antimikroba dengan cara mengeksitasi kromofor molekul endogenous untuk menghasilkan ROS yang memicu kematian sel (Lu *et al.*, 2018).

Pada reaksi fotodinamika, cahaya berperan sebagai sumber foton. Pada aplikasinya, terdapat lima parameter cahaya yang perlu diperhatikan, yaitu adanya refleksi, serapan (*absorption*), pembiasan (*refraction*), autofluoresensi media substrat (*background autofluorescence*), serta distribusi foton yang dipancarkan oleh fluorokrom (senyawa yang berfluoresensi, sensitizer) ke media substrat (Paganin-Gioanni *et al.*, 2010). Sebagai contoh, pada prinsip fotodinamika untuk tumor dan kanker, keberadaan senyawa lain dalam jaringan tubuh penting diketahui untuk penentuan cahaya yang digunakan.



Gambar 4. Rentang serapan biomolekul dalam jaringan biologis. Jendela optik jaringan terletak di wilayah 600–1200 nm. Serapan air dan hemoglobin terdapat di bawah dan atasnya

Gambar 4 menunjukkan rentang wilayah serapan beberapa biomolekul yang terdapat dalam jaringan biologis. Wilayah 600–1200 disebut sebagai jendela jaringan transparan (*transparent tissue window* atau *therapeutic window*) karena hampir tidak mempengaruhi biomolekul lain, sehingga diharapkan hanya molekul sensitizer yang tereksitasi.

MEKANISME INAKTIVASI MIKROBA SECARA FOTODINAMIK

Proses inaktivasi mikroorganisme dengan metode fotodinamika terbagi menjadi 3 tahapan, yaitu inkubasi, proses fotosensitasi, dan tahap akhir proses fotosensitasi. Fase inkubasi pada bakteri dan sel vegetatif protozoa terjadi hanya dalam waktu 1–5 menit, di mana adanya interaksi elektrostatik menyebabkan molekul fotosensitizer berikatan dengan permukaan sel mikroba. Pada sel khamir dan sista protozoa, dibutuhkan waktu 30 menit bagi molekul fotosensitizer masuk ke dalam sel dan mencapai konsentrasi endoseluler tertentu untuk dapat aktif secara fotokimia. Selanjutnya, selama proses fotosensitasi terjadi inaktivasi enzim (NADH, suksinat dan laktat dehidrogenase), kerusakan protein pada membran, dan gangguan sistem transpor sel. Pada tahap lebih lanjut, molekul

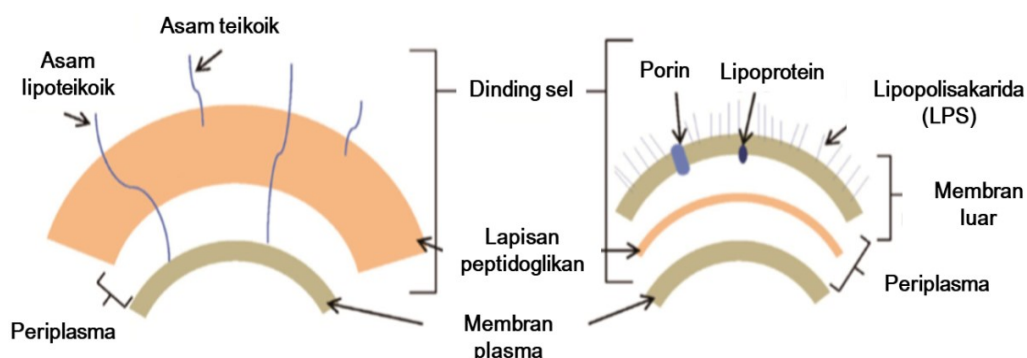
sensitizer perlahan terdifusi ke bagian dalam sel dan menyebabkan kerusakan lebih lanjut (Hamblin & Jori, 2015).

Terbentuknya singlet oksigen dalam sel sebagai produk reaksi fotodinamika akan menyebabkan gangguan terhadap struktur sejumlah biomolekul, antara lain asam amino yang mengandung gugus aromatik atau heterosiklik serta atom sulfur (triptofan, tirosin, histidine, metionin, sistein), basa purin dan pirimidin dari DNA/RNA terutama guanosin, serta lipida tidak jenuh (asam oleat, linoleat, dan arakidonat) dan steroid terutama kolesterol. Biomolekul tersebut akan mengalami oksidasi melalui reaksi yang bersifat *irreversible*, dengan laju reaksi yang berbeda-beda antara $0,006\text{--}13,4 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Buettner, 2013).

Tahapan inkubasi, kecepatan difusi sensitizer, dan jenis biomolekul yang menjadi target utama kerusakan dapat berbeda antar spesies mikroba. Struktur membran sel bakteri Gram positif lebih berpori, tersusun dari peptidoglikan, dengan asam lipoteikoik dan teikuronik, sedangkan membran Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan serta lipopolisakarida yang sangat bermuatan negatif, fosfolipid, lipoprotein, dan protein (Gambar 5).

Tabel 1. Efek fungsional dan morfologis utama dari proses fotosensitasi pada sel mikroba (Hamblin & Jori, 2015).

Jenis kerusakan	Contoh spesifik	Efek/ Keterangan
a) <u>Kerusakan fungsional</u>		
- Penghambatan aktivitas enzim	Inaktivasi NADH/laktat/suksinat dehidrogenase	Penurunan aktivitas enzim pada membran = penurunan kemampuan bertahan hidup.
- Pembentukan ikatan silang (<i>cross-links</i>) antar protein	Sejumlah protein membran dan sitoplasma	Protein sitoplasma menentukan masuknya molekul sensitizer dalam sel.
- Penghambatan proses metabolik	Penghambatan sintesis DNA dan transpor glukosa	Sintesis RNA dan protein menjadi terhambat.
b) <u>Kerusakan metabolik</u>		
- Perubahan struktur mesosoma	Peningkatan volume dan frekuensi munculnya mesosom	Gangguan sintesis membran dan dinding sel.
- Perubahan kromatin	Munculnya area transparan elektron dengan susunan asam nukleat rapat	Tahapan lanjut dalam proses fotodinamika.



Gambar 5. Skema representasi struktur membran sel bakteri Gram positif dan negatif (Mesquita *et al.*, 2018).

Sensitizer netral maupun bermuatan dapat dengan mudah digunakan untuk inaktivasi Gram positif, sedangkan untuk Gram negatif dibutuhkan sensitizer kationik (Mesquita *et al.*, 2018). Pada *Escherichia coli*, kerusakan terutama terjadi pada protein dan lipid, serta lipopolisakarida, sedangkan pada *Staphylococcus warneri* kerusakan protein mendominasi diikuti dengan fosfolipid dan polisakarida (Alves *et al.*, 2016).

PERKEMBANGAN PENELITIAN TERAPI FOTODINAMIK ANTIMIKROBA

Sekalipun penggunaan cahaya untuk pengobatan telah dimulai sejak zaman Sebelum Masehi, namun terapi fotodinamika

baru intensif dikembangkan sejak tahun 1900an, khususnya untuk penanganan tumor dan kanker. Sensitizer untuk terapi fotodinamika pertama kali mendapatkan persetujuan di Kanada tahun 1999 (Dolmans *et al.*, 2003). Berdasarkan pencarian di *database* Google Scholar, terdapat lebih dari 120.000 publikasi yang telah diterbitkan sejak pertengahan abad ke-20 hingga saat ini terkait penggunaan terapi fotodinamika untuk pengobatan tumor dan kanker. Penyelidikan tersebut tidak hanya terkait potensi aplikasi untuk penanganan berbagai jenis sel tumor dan kanker, tetapi juga pengembangan jenis senyawa dan modifikasi struktur fotosensitizer

yang digunakan (Indrawati *et al.*, 2010; Santosa & Limantara, 2010).

Awal mula penyelidikan inaktivasi mikroorganisme melalui metode fotodinamika adalah pada tahun 1931 oleh C. E. Clifton, menggunakan toluidine biru sebagai sensitizer, terhadap bakteriofag *Staphylococcus*, dan pada tahun 1933 oleh J. R. Perdrau dan C. Todd tentang sensitivitas jenis virus tertentu terhadap reaksi fotodinamika yang terjadi pada metilen biru. Selanjutnya, studi kinetika dan mekanisme mulai digali lebih lanjut tahun 1950an di Jepang dan Jerman (Welsh & Adams, 1954; Yamamoto, 1958). Fenomena inaktivasi mikroorganisme tidak hanya terjadi pada virus, tetapi juga bakteri Gram positif dan negatif (Nitzan *et al.*, 1987; Nitzan *et al.*, 1992), khamir (Ito, 1977), fungi (Propst & Lubin, 1978), dan parasit (Gottlieb *et al.*, 1997).

Sebagaimana penyelidikan fotodinamika untuk tumor dan kanker, optimasi efektivitas inaktivasi mikroorganisme dilakukan tak hanya terhadap berbagai jenis dan spesies mikroba tetapi juga pengembangan molekul fotosensitizer. Investigasi selama lima tahun terakhir antara lain terkait efektivitas inaktivasi metode dinamika terhadap resistensi pada mikroorganisme (Hamblin, 2016; Maisch, 2015; Kashef & Hamblin, 2017), improvisasi atau modifikasi molekul fotosensitizer melalui sintesis nanopartikel, penggabungan dalam

matriks pembawa silika, ataupun dengan biopolimer dan material hidrogel (Mesquita *et al.*, 2018), serta inovasi aplikasi di bidang medis (Esper *et al.*, 2019; Zheng *et al.*, 2019) juga keamanan pangan (Ghate *et al.*, 2019; Tao *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelusuran dalam *database* Google Scholar, hanya sejumlah kecil publikasi nasional yang membahas hasil riset terkait reaksi dan metode fotodinamika, baik berupa telaah pustaka, riset dasar, serta riset terapan. Dalam kurun waktu dekade terakhir, publikasi terkait fotodinamika secara umum di Indonesia adalah sebagai berikut:

1. Telaah pustaka (*review*) terapi fotodinamika untuk tumor dan kanker (Indrawati *et al.*, 2010; Santosa & Limantara, 2010).
2. Studi fotostabilitas senyawa sensitizer (Handoko *et al.*, 2015; Heriyanto *et al.*, 2009; Limantara & Heriyanto, 2011; da Costa *et al.*, 2009).
3. Produksi dan ekstraksi senyawa fotosensitizer (Indrawati *et al.*, 2010; Arfandi, 2013).
4. Pengujian terapi fotodinamika pada sel atau pasien kanker (Djalasrin *et al.*, 2012; Wildeman *et al.*, 2013).

Secara spesifik, penelitian terkait aplikasi metode fotodinamika untuk inaktivasi mikroorganisme di Indonesia disarikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Riset pemanfaatan metode fotodinamika untuk inaktivasi mikroorganisme di Indonesia

Jenis Sensitizer	Sumber	Target (Potesi Aplikasi)	Jenis Cahaya	Referensi
Klorofil	Tidak diketahui	<i>Streptococcus mutans</i> (pencegahan karies gigi)	Dioda laser biru 405 nm	(Suryani Dyah Astuti <i>et al.</i> , 2016)
Klorofil	Daun angkana (<i>Pterocarpus indicus</i>)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 28923)	Dioda laser biru 445 nm	(Hidayatulail <i>et al.</i> , 2018)
Feofitin a	Daun suji (<i>Pleomele angustifolia</i>)	<i>Streptococcus mutans</i> (pencegahan karies gigi)	Dioda laser biru 405 nm	(Sunarko <i>et al.</i> , 2017)
Porfirin (endogenous)	<i>E. coli</i> , stimulasi oleh medan magnet	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	LED 469, 541, dan 626 nm	(Astuti <i>et al.</i> , 2017)
Klorofil	<i>Carica papaya L.</i>	<i>Candida albicans</i>	Dioda laser biru 450 nm	(Astuti & Baktir, 2017)
Klorofilin	Alfalfa atau <i>Medicago sativa L.</i> (komersial K-Link produk)	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Dioda laser biru 405 nm	(Astuti, 2018)
-	-	<i>Agregatibacter actinomycetemcomitans</i> (pencegahan inflamasi gusi oleh bakteri resisten antibiotik)	Dioda laser 409 nm	(Setiawatie <i>et al.</i> , 2018)
Kurkumin	<i>Curcuma longa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 28923)	LED biru (400–450 nm)	(Astuti <i>et al.</i> , 2018)

PROSPEK TERAPI FOTODINAMIK ANTIMIKROBA DALAM PENANGANAN PANGAN

Produk pangan segar dapat meliputi sayur dan buah pasca panen, ataupun telah mengalami proses fisik seperti pemotongan dan pengecilan ukuran, namun tetap dalam keadaan segar (*fresh-cut produce*). Produk segar sangat rentan mengalami kontaminasi mikroba dari lingkungan pada saat pemanenan dan distribusi, juga adanya pemotongan dapat memberikan akses lebih bagi mikroba untuk memanfaatkan zat nutrisi yang ada dan berkembang biak. Sanitasi produk segar merupakan tahapan penanganan penting untuk menghambat kerusakan produk serta mencegah terjadinya kasus keracunan makanan. Berbagai teknologi sanitasi sayuran dan buah segar misalnya dengan pemanasan, ozonisasi, air

terelektrolisis (asam kuat pH 2,7 atau basa lemah pH 5–6,5), asam-asam organik, asam peroksiasetat, hidrogen peroksida, serta senyawa klorin (Kim, 2012).

Proses pemanasan, seperti blansing, merupakan proses yang umum digunakan, cukup efektif menginaktivasi patogen, namun seringkali mengubah tekstur, warna, dan menyebabkan kerusakan sebagian zat gizi. Teknologi ozonisasi dan iradiasi menunjukkan spektrum inaktivasi mikroba yang luas, tidak menyisakan residu berbahaya, serta membutuhkan waktu singkat, namun membutuhkan instalasi peralatan khusus dan mahal. Asam-asam organik sangat mudah diperoleh dan tidak toksik, namun efektivitasnya relatif rendah. Hidrogen peroksida dan asam peroksiasetat juga mudah diterapkan dan tidak menyisakan residu atau senyawa turunan berbahaya,

namun efektivitasnya juga relatif lebih rendah (Ölmez & Kretzschmar, 2009).

Senyawa klorin, seperti hipoklorit dan klorin dioksida, merupakan agen sanitasi kimiawi yang paling umum digunakan pada industri makanan, murah, dan mudah diaplikasikan. Namun, keberadaan klorin dapat seringkali dikaitkan dengan kerusakan lingkungan karena bersifat sebagai oksidator kuat, sangat reaktif, dan menyebabkan korosi (Hasan, 2006). Sekalipun umumnya digunakan pada konsentrasi rendah dalam aplikasinya di bidang pangan, klorin dapat bereaksi dengan senyawa organik membentuk produk samping terhalogenisasi yang bersifat karsinogenik, yaitu trihalometan seperti kloroform, dibromoklorometan, trikloroacetamida, dan trikloronitrometan (Lee & Huang, 2019). Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa turunan tersebut ditemukan pada air yang didesinfeksi dengan klorin, dan kemudian diserap sayuran. Kondisi ini bergantung pada jenis bahan pangan dan karakteristik intrinsiknya, serta kondisi disinfeksi yang dilakukan (Coroneo *et al.*, 2017).

Metode inaktivasi mikroorganisme berdasarkan reaksi fotodinamika bekerja dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel serta membran mitokondria dan organel lainnya, menimbulkan suasana stres oksidatif dalam sel target. Mekanisme ini jauh berbeda dibandingkan kebanyakan antimikroba yang bekerja dengan prinsip selektivitas 'gembok dan kunci'. Oleh sebab itu, peluang perkembangan resistensi mikroba

terhadap inaktivasi metode fotodinamika lebih tidak dimungkinkan (Kashef & Hamblin, 2017). Sebagai contoh, penelitian dengan *Deinococcus radiodurans* yang memiliki sistem perbaikan DNA yang sangat efisien, tetap dapat mengalami inaktivasi cepat melalui perlakuan fotodinamika, tidak ada efek mutagenik yang ditemukan (Hamblin & Jori, 2015). Sejauh ini metode fotodinamika dapat menginaktivasi sejumlah spesies yang diketahui resisten terhadap antibiotik dan tidak ditemukan efek peningkatan resistensi (Setiawatie *et al.*, 2018; Garcez *et al.*, 2010; Grinholc *et al.*, 2008; Maisch, 2009; Almeida *et al.*, 2014; Tavares *et al.*, 2010), walaupun penyelidikan berkelanjutan tetap sangat dibutuhkan.

Meskipun metode fotodinamika ditemukan dan dikembangkan lebih banyak untuk tujuan medis, terdapat prospek pengembangan di bidang lainnya, termasuk dekontaminasi bahan pangan (Alves *et al.*, 2014). Pendekatan penelitian dekontaminasi bahan pangan secara *in vivo* dapat dilakukan dengan 2 cara, yakni merendam komoditas dalam cairan fotosensitizer atau melapisi produk dengan *edible film* yang mengandung fotosensitizer, kemudian dilakukan penyinaran untuk memicu kematian sel mikroba patogen target (Gambar 6). Sejumlah penelitian telah mengadopsi pendekatan tersebut, dan sekaligus menjadi tantangan bagi peneliti selanjutnya untuk memperluas jenis bahan pangan, patogen target, serta jenis atau modifikasi sensitizer yang digunakan.



**Bahan pangan terkontaminasi → inkubasi dengan sensitizer →
iradiasi → sel patogen mati**

Gambar 6. Skema ilustrasi eksperimen *in vivo* untuk pengujian inaktivasi mikroba dengan metode fotodinamika pada bahan pangan (Alves *et al.*, 2014).

Faktor-faktor yang menjadi tantangan penelitian dan pengembangan inaktivasi mikroba metode fotodinamika untuk tujuan keamanan pangan dapat berasal dari faktor keteknikan, lingkungan, serta sifat bahan pangan itu sendiri. Faktor keteknikan misalnya faktor dosis sensitizer dan iradiasi cahaya dapat berbeda-beda untuk tiap jenis mikroorganisme. Faktor lingkungan misalnya seleksi panjang gelombang cahaya yang paling sesuai untuk menginaktivasi mikroba patogen serta mempertahankan seluruh komponen bahan pangan, serta suhu optimum terjadinya reaksi fotodinamika tersebut. Faktor sifat bahan pangan misalnya tingkat keasaman, aktivitas air, serta karakteristik permukaan bahan. Selain itu, senyawa sensitizer untuk bahan pangan diharapkan alami, tidak toksik, serta memadai dari aspek ekonomis (Ghate *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Berdasarkan kajian literatur yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terapi fotodinamik antimikroba merupakan metode baru yang potensial untuk diterapkan dalam penanganan bahan pangan segar, khususnya sebagai alternatif penggunaan panas ataupun disinfektan kimia yang kurang ramah lingkungan. Untuk aplikasi dalam penanganan pangan, sensitizer alami yang berpotensi untuk dikembangkan dapat berasal dari golongan kurkumin, klorofil, serta senyawa turunannya. Rentang cahaya yang digunakan harus bersesuaian dengan senyawa sensitizer yang digunakan, dan terapi fotodinamik antimikroba memungkinkan pemanfaatan cahaya tampak yang memiliki level energi lebih rendah dari sinar UV sehingga meminimalkan kerusakan protein dan beberapa jenis vitamin. Penelitian terkait terapi fotodinamik antimikroba masih sangat terbatas dalam lingkup nasional maupun internasional, terutama dalam aplikasinya di bidang pangan (non-medis).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Ma Chung atas Hibah Penelitian Ma Chung Research Grant 2020 (001/BAPULP/LPPM-MRG-MAG/II/2020), serta Kemenristek/BRIN atas Hibah Penelitian Disertasi Doktor 2020 (184/SP2H/AMD/LT/DRPM/2020) yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Allison, R. R., & K. Moghissi. 2013. Photodynamic Therapy (PDT): PDT Mechanisms. *Clinical Endoscopy*, 46(1), pp.24–29.
- Almeida, J., Tomé, J.P.C., Neves, M.G.P.M.S., Tomé, A.C., Cavaleiro, J.A.S., Cunha, Â., Costa, L., Faustino, M.A.F. & Almeida, A. 2014. Photodynamic Inactivation of Multidrug-Resistant Bacteria in Hospital Wastewaters: Influence of Residual Antibiotics. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 13(4), pp.62.
- Alves, E., Faustino, M.A.F., Neves, M.G.P.M.S., Cunha, Â., Nadais, H., & Almeida, A. 2014. Potential Applications of Porphyrins in Photodynamic Inactivation beyond the Medical Scope. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 22, pp.34–57.
- Alves, E., Moreirinha, C., Faustino, M.A.F., Cunha, Â., Delgadillo, I., Neves, M.G.P.M.S., & Almeida, A. 2016. Overall Biochemical Changes in Bacteria Photosensitized with Cationic Porphyrins Monitored by Infrared Spectroscopy. *Future Medicinal Chemistry*, 8(6), pp.613–28.
- Arfandi, A., Ratnawulan, Darvina, Y., 2013. Proses Pembentukan Feofitin Daun Suji Sebagai Bahan Aktif Photosensitizer Akibat Pemberian Variasi Suhu. *Pillar of Physics*, 1(1), pp.68-76.
- Astuti, S.D., Mahmud, A.F., Mukhammad, Y., & Fitriyah, N., 2018. Antimicrobial Photodynamic of Blue LED for Activation of Curcumin Extract (*Curcuma longa*) on *Staphylococcus aureus* Bacteria, an in Vitro Study. In *Journal of Physics: Conference Series*, 1120, pp.1–8.
- Astuti, S.D., 2018. An In-Vitro Antimicrobial Effect of 405 Nm Laser Diode Combined with Chlorophylls of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) on *Enterococcus faecalis*.” *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 51(1), pp.47–51.
- Astuti, S.D., Wibowo, R.A., Abdurachman, & Triyana, K., 2017. Antimicrobial Photodynamic Effects of Polychromatic Light Activated by Magnetic Fields to Bacterial Viability. *Journal of International Dental and Medical Research*, 10(1), pp.111–17.
- Astuti, S.D., Zaidan, A., Setiawati, E.M., & Suharningsih, 2016. Chlorophyll Mediated Photodynamic Inactivation of Blue Laser on *Streptococcus mutans*. In *AIP Conference Proceedings*, 171, American Institute of Physics.
- Astuty, S.D., & Baktir. A., 2017. The Effectiveness of Laser Diode Induction to *Carica papaya* L. Chlorophyll Extract to Be ROS Generating in the Photodynamic Inactivation Mechanisms for *C. albicans* Biofilms. *Journal of Physics: Conference Series*, 853, pp.1-8.
- Buettner, G.R., 2013. Molecular Targets of Photosensitization. American Society for Photobiology.
- Coroneo, V., Carraro, V., Marras, B., Marrucci, A., Succa, S., Meloni, B., Pinna, A., Angioni, A., Sanna, A., & Schintu. M., 2017. Presence of Trihalomethanes in Ready-to-Eat Vegetables Disinfected with Chlorine. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 34(12), pp.2111–2117.

- Costa, J.F., Karwur, F.F., & Limantara, L., 2009. Efek Beta Karoten Dan Agregasi Klorofil Pada Fotostabilitas Klorofil a Dalam Pelarut Aseton. *Jurnal Natur Indonesia*, 11(2), pp.115–23.
- Asmiyenti, D.D., Nunuk, A.N., Leena, W.L., Slamet, I., & Daryono, H.T., 2019. Biological Evaluation of Protoporphyrin IX, Pheophorbide a, and Its 1-Hydroxyethyl Derivativeness for Application in Photodynamic Therapy. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), pp.741–46.
- Dolmans, D.E.J.G.J., Fukumura, D., & Jain, R.K., 2003. Photodynamic Therapy for Cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3(5), pp.380–387.
- Esper, M.Â.L.R.I., Junqueira, J.C., Uchoa, A.F., Bresciani, E., Rastelli, A.N.S., Navarro, R.S., & Gonçalves, S.E.P., 2019. Photodynamic Inactivation of Planktonic Cultures and Streptococcus Mutans Biofilms for Prevention of White Spot Lesions during Orthodontic Treatment: An in Vitro Investigation. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 155(2), pp.243–253.
- Garcez, A.S., Nunez, S.C., Hamblin, M.R., Suzuki, H., & Ribeiro, M.S., 2010. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. *Journal of Endodontics*, 36(9), pp.1463–1466.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.06.001>
- Ghate, V.S., Ng, K.S., Zhou, W., Yang, H., Khoo, G.H., Yoon, W.B., & Yuk, H.G., 2013. Antibacterial Effect of Light Emitting Diodes of Visible Wavelengths on Selected Foodborne Pathogens at Different Illumination Temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), pp.399–406.
- Ghate, V. S., Zhou, W., & Yuk, H.G. 2019. Perspectives and Trends in the Application of Photodynamic Inactivation for Microbiological Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), pp.402–424.
- Gottlieb, P., Hur, E.B., & Lustigman, S., 1997. Methods of use of phthalocyanines to inactivate blood borne parasites. US5912241A, issued November 17, 1997.
- Grinholc, M., Szramka, B., Kurlenda, J., Graczyk, A., & Bielawski, K.P., 2008. Bactericidal Effect of Photodynamic Inactivation against Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* is Strain-Dependent. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 90(1), pp.57–63.
- Guerrero-Beltrán, J.A., & Cánovas, G.V.B., 2004. Review: Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light. *Food Science and Technology International*, 10(3), pp.137–147.
- Guneser, O., & Yuceer, Y.K., 2012. Effect of Ultraviolet Light on Water- and Fat-Soluble Vitamins in Cow and Goat Milk. *Journal of Dairy Science*, 95(11), pp.6230–6241.
- Hamblin, M.R., 2016. Antimicrobial Photodynamic Inactivation: A Bright New Technique to Kill Resistant Microbes. *Current Opinion in Microbiology*, 33, pp.67–73.
- Hamblin, M.R., & Jori, G., 2015. *Photodynamic Inactivation of Microbial Pathogens: Medical and Environmental Applications*. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Handoko, Y.A., Rondonuwu, F.S., & Limantara, L., 2015. The Photosensitizer Stabilities of Tookad® on Aggregation, Acidification, and Day-Light Irradiation. *Procedia Chemistry*, 14, pp.474–483.
<https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.03.064>.

- Hasan, A. 2006. Dampak Penggunaan Klorin. *Jurnal Teknik Lingkungan P3TL-BPPT*, 7(1), pp.90–96.
- Heriyanto, Trihandaru, S., & Limantara, L. 2009. Coordination State and Aggregation Process of Bacteriochlorophyll *a* and Its Derivatives: Study on Acetone-Water and Methanol-Water Solvents. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(1), pp.113–122.
- Hidayatulail, B.F., Yasin, M., & Astuti, S.D., 2018. Photodynamic Inactivation for Pathogenic Bacteria: Adding Chlorophyll and Oxygen. In *Advances in Social Science, Education and Humanities Research (ASSEHR)*, 98, pp.277–80.
- Indrawati, R., Karwur, F.F., & Limantara, L., 2010. Perkembangan Sensitizer Pada Terapi Fotodinamika Tumor Dan Kanker Hingga Penuntunan Nanopartikel (Nanoparticulate Targeting) Dengan Antibodi Monoklonal. *Indonesian Journal of Cancer*, 4(3), pp.101–10.
- Indrawati, R., Wijaya, W., Prihastyanti, M.N.U., Heriyanto, Prasetyo, B., & Limantara, L., 2010. Efisiensi Ekstraksi Bakterioklorofil Dan Karotenoid Dari *Rhodospseudomonas palustris* Dengan Berbagai Rasio Pelarut Aseton Dan Metanol. In *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Pendidikan Sains*, pp.51–56.
- Ito, T., 1977. Toluidine Blue: The Mode of Photodynamic Action in Yeast Cells. *Photochemistry and Photobiology*, 25(1), pp.47–53.
- Kashef, N., & Hamblin, M.R., 2017. Can Microbial Cells Develop Resistance to Oxidative Stress in Antimicrobial Photodynamic Inactivation? *Drug Resistance Updates*, 31, pp:31–42.
- Kim, J.G., 2012. Environmental Friendly Sanitation to Improve Quality and Microbial Safety of Fresh-Cut Vegetables. In *Biotechnology - Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life*, edited by Rada Sammour, pp.173–96.
- Koutchma, T., 2009. Advances in Ultraviolet Light Technology for Non-Thermal Processing of Liquid Foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2(2), pp.138–55.
- Lado, B.H., & Yousef, A.E. 2002. Alternative Food-Preservation Technologies: Efficacy and Mechanisms. *Microbes and Infection*, 4(4), pp.433–440.
- Lee, W.N., & Huang, C.H., 2019. Formation of Disinfection Byproducts in Wash Water and Lettuce by Washing with Sodium Hypochlorite and Peracetic Acid Sanitizers. *Food Chemistry: X*(1), pp. 100003.
- Limantara, L., & Heriyanto., 2011. Photostability of Bacteriochlorophyll *a* and Its Derivatives as Potential Sensitizers for Photodynamic Cancer Therapy: The Study on Acetone-Water and Methanol-Water Solvent. *Indonesian Journal of Chemistry*, 11(2), pp.154–162.
- Lu, M., Hamblin, M.R., Yan, Q., Dai, T., Ahmed, I., Fang, Y., & El-Hussein, A., 2018. Recent Patents on Light-Based Anti-Infective Approaches. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 13(1), pp.70–88.
- Maisch, T. 2009. A New Strategy to Destroy Antibiotic Resistant Microorganisms: Antimicrobial Photodynamic Treatment. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 9(8), pp.974–83.
- Maisch, T., 2015. Resistance in Antimicrobial Photodynamic Inactivation of Bacteria. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 14(8), pp.1518–26.
- Mesquita, M.Q., Dias, C.J., Neves, M.G.P.M.S., Almeida, A., & Faustino, M.A.F., 2018. Revisiting Current Photoactive Materials for Antimicrobial Photodynamic Therapy. *Molecules*, 23 (2424), pp.1–47.
- Nitzan, Y., Gutterman, M., Malik, Z., & Ehrenberg, B., 1992. Inactivation of Gram-Negative Bacteria by Photosensitized Porphyrins.

- Photochemistry and Photobiology*, 55(1), pp.89–96.
- Nitzan, Y., Shainberg, B., & Malik, Z., 1987. Photodynamic Effects of Deuteroporphyrin on Gram-Positive Bacteria. *Current Microbiology*, 15(5), pp.251–58.
- Oleinick, N.L., 2011. *Basic Photosensitization*. American Society for Photobiology.
- Ölmez, H., & Kretzschmar, U., 2009. Potential Alternative Disinfection Methods for Organic Fresh-Cut Industry for Minimizing Water Consumption and Environmental Impact. *LWT - Food Science and Technology*, 42(3), pp.686–93.
- Ormond, A.B., & Freeman, H.S., 2013. Dye Sensitizers for Photodynamic Therapy. *Materials*, 6(3), pp.817–40.
- Paganin-Gioanni, A., Bellard, E., Paquereau, L., Ecochard, V., Golzio, M., & Teissié, J., 2010. Fluorescence Imaging Agents in Cancerology. *Radiology and Oncology*, 44(3), pp.142–48.
- Propst, C., & Lubin, L., 1978. In Vitro and in Vivo Photosensitized Inactivation of Dermatophyte Fungi by Heterotricyclic Dyes. *Infection and Immunity*, 20(1), pp. 136–41.
- Santosa, V., & Limantara, L., 2010. Photodynamic Therapy: New Light in Medicine World. *Indonesian Journal of Chemistry*, 8(2), pp.279–91.
- Secades, C., O'Connor, B., Brown, C., & Walpole, M., 2014. Earth observation for biodiversity monitoring: a review of current approaches and future opportunities for tracking progress towards the Aichi Biodiversity Targets. *CBD technical series*, (72), pp.183.
- Setiawatie, E.M, Lestari, V.P., & Astuti, S.D., 2018. Comparison of Anti Bacterial Efficacy of Photodynamic Therapy and Doxycycline on *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*. *African Journal of Infectious Diseases*, 12(1), pp.95–103.
- Sunarko, S.A., Ekasari, W., & Astuti, S.D., 2017. Antimicrobial Effect of Pleomele Angustifolia Pheophytin A Activation with Diode Laser to *Streptococcus mutans*. In *Journal of Physics: Conference Series*, 853, pp.1–6.
- Tao, R., Zhang, F., Tang, Q., Xu, C., Ni, Z., & Meng, X., 2019. Effects of Curcumin-Based Photodynamic Treatment on the Storage Quality of Fresh-Cut Apples. *Food Chemistry*, 274(February), pp.415–21.
- Tavares, A., Carvalho, C.M.B., Faustino, M.A., Neves, M.G.P.M.S., Tomé, J.P.C., Tomé, A.C., & Cavaleiro, J.A.S., 2010. Antimicrobial Photodynamic Therapy: Study of Bacterial Recovery Viability and Potential Development of Resistance after Treatment. *Marine Drugs*, 8(1), pp.91–105.
- Tim, M. 2015. Strategies to Optimize Photosensitizers for Photodynamic Inactivation of Bacteria. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 150, pp.2–10.
- Welsh, J.N., & Adams, M.H., 1954. Photodynamic Inactivation of Bacteriophage. *Journal of Bacteriology*, 68(1), pp.122–27.
- Wildeman, M.A., Fles, R., Herdini, C., Indrasari, R.S., Vincent, A.D., Tjokronagoro, M., Stoker, S., 2013. Primary Treatment Results of Nasopharyngeal Carcinoma (NPC) in Yogyakarta, Indonesia. Edited by William Tse. *PLoS one*, 8(5), pp.e63706.
- Yamamoto, N. 1958. Photodynamic Inactivation of Bacteriophage and Its Inhibition. *Journal of Bacteriology*, 75 (4), pp.443–48.
- Yoon, I., Li, J.Z., & Shim, Y.K., 2013. Advance in Photosensitizers and Light Delivery for Photodynamic Therapy. *Clinical Endoscopy*, 46(1), pp.7–23.

- Zhao, B., & He, Y.Y., 2010. Recent Advances in the Prevention and Treatment of Skin Cancer Using Photodynamic Therapy. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 10(11), pp.1797–1809.
- Zheng, Y., Yu, E., Weng, Q., Zhou, L., & Li, Q., 2019. Optimization of Hydrogel Containing Toluidine Blue O for Photodynamic Therapy in Treating Acne. *Lasers in Medical Science*, 34(8), pp.1535–45.