



PENGARUH PEMBERIAN AGEN KONTRAS PEWARNA SINTETIK PADA JARINGAN BIOLOGIS TERHADAP HASIL PENCITRAAN FOTOAKUSTIK

Miftahul Janna*¹, Mitraryana¹, Rini Widyaningrum²

¹Departemen Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

²Departemen Radiologi Dentomaksilofasial, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*corresponding author: miftahuljanna.sm@mail.ugm.ac.id

Received 08-12-2021, Revised 18-05-2022, Accepted 30-05-2022, Published 04-10-2022
Available Online 04-10-2022, Published Regularly October 2022

ABSTRACT

An experiment to investigate the influence of synthetic dye contrast agent in photoacoustic imaging of biological tissue was conducted in this study. This study uses a simple photoacoustic imaging system consists of three main components, i.e., a diode laser, condenser microphone, and a custom-build X-Y stage. Characterization was performed on the main components of the system to obtain the appropriate settings on imaging the biological tissue in this study. The results of the optimal frequency and duty cycle for laser modulation in this study were 19000 Hz and duty cycle of 40%, respectively. The addition of a contrast agent aims to improve the quality of the image by comparing the sample with methylene blue contrast agent, the sample with methyl red and the sample without contrast agent. The increases of acoustic intensity level is in proportion with the contrast agent concentration. The difference in the photoacoustic images reveals that the sample with methylene blue contrast agent has the highest acoustic intensity level compared to both sample with methyl red contrast agent and the sample without contrast agent. Therefore, this research proves that a photoacoustic imaging system can be developed to image biological tissue with a contrast agent and methylene blue has greater potential than methyl red to be used as a contrast agent in photoacoustic imaging.

Keywords: biological tissue; contrast agent; photoacoustic imaging; syntetic dye

ABSTRAK

Eksperimen ini menyelidiki pengaruh agen kontras pewarna sintetik terhadap citra jaringan biologis. Penelitian ini menggunakan sistem pencitraan fotoakustik sederhana yang terdiri dari tiga komponen utama yaitu laser dioda, mikrofon kondenser dan X-Y *stage*. Karakterisasi dilakukan pada komponen utama sistem untuk diperoleh pengaturan sistem yang sesuai untuk mencitrakan jaringan biologis. Hasil frekuensi dan *duty cycle* optimal untuk memodulasi laser pada penelitian ini adalah frekuensi 19000 Hz dan *duty cycle* 40%. Pemberian agen kontras bertujuan untuk meningkatkan kualitas hasil citra dengan membandingkan sampel dengan agen kontras metilen biru, sampel dengan metil merah dan sampel tanpa agen kontras. Nilai taraf intensitas akustik meningkat sebanding tingkat konsentrasi agen kontras. Perbedaan hasil citra menunjukkan sampel dengan agen kontras metilen biru memiliki nilai taraf intensitas akustik paling tinggi dibanding sampel dengan agen kontras metil merah. Dengan demikian, penelitian ini membuktikan sistem pencitraan fotoakustik dapat dikembangkan untuk mencitrakan jaringan biologis dengan agen kontras dan metilen biru menunjukkan potensi lebih besar dibanding metil merah sebagai agen kontras pada pencitraan fotoakustik.

Kata kunci: agen kontras; jaringan biologis; pencitraan fotoakustik; pewarna sintetik

PENDAHULUAN

Agen kontras merupakan bahan tambahan pada pencitraan medik diagnostik yang berfungsi untuk meningkatkan kualitas citra sehingga perbedaan antara jaringan biologis yang diamati pada citra medis tampak lebih jelas^[1]. Saat ini, hampir setiap sistem pencitraan telah menggunakan agen kontras untuk mendapatkan informasi yang cukup dari hasil citra, tanpa terkecuali pencitraan fotoakustik.

Pencitraan fotoakustik merupakan teknologi pencitraan terbaru yang memanfaatkan fenomena efek fotoakustik untuk mencitrakan suatu objek^{[2]–[4]}. Pencitraan fotoakustik adalah teknik pencitraan non-invasif yang tidak menghasilkan radiasi pengion^[5]. Banyaknya keunggulan dari pencitraan fotoakustik memberikan peluang bagi para peneliti untuk mengembangkan pencitraan fotoakustik ke berbagai bidang terapan terutama terkait penelitian biomedis^{[6]–[10]}. Pencitraan fotoakustik dapat digunakan untuk mendeteksi tumor, memetakan oksigenasi darah, dan mencitrakan organ pada hewan atau manusia^[11].

Pada pencitraan fotoakustik, material dipapar dengan sinar laser yang dimodulasi untuk mencapai respon impuls termal dan akustik. Radiasi yang diserap oleh material selanjutnya menimbulkan fluktuasi (perubahan) panas dan mengakibatkan perubahan suhu pada material yang kemudian mempengaruhi perubahan tekanan. Perubahan tekanan inilah yang menimbulkan gelombang akustik dengan frekuensi yang sama dengan frekuensi berkas laser, yang dikenal dengan gelombang fotoakustik. Gelombang tersebut merambat pada material dan dideteksi oleh detektor pada permukaan sampel serta diolah menjadi citra dalam komputer^{[12], [13]}.

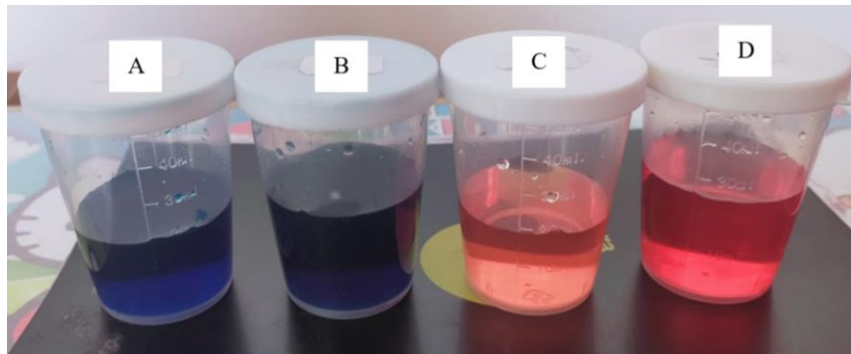
Penggunaan agen kontras pada pencitraan fotoakustik telah dilakukan pada beberapa penelitian sebelumnya yang ditujukan untuk memperbaiki efektivitas dan menambah intensitas fotoakustik yang dihasilkan sampel^{[9], [14]}. Terdapat dua jenis agen kontras pada pencitraan fotoakustik yaitu agen kontras eksogen dan endogen^[15]. Agen kontras endogen memiliki beberapa keunggulan diantaranya adalah tidak toksik, nonperturbasi terhadap proses biologis, *abundance* dan tidak menggunakan peraturan persetujuan dalam penggunaannya sedangkan agen kontras eksogen memiliki keunggulan dibandingkan agen kontras endogen yaitu optimalisasi untuk sensitivitas deteksi yang lebih besar dan konjugasi dengan molekul target (misalnya antibodi) untuk mengikat reseptor secara selektif untuk pencitraan molekuler^{[15], [16]}..

Beberapa hal yang harus diperhatikan saat memilih agen kontras antara lain spektrum absorpsi, tingkat toksisitas, ukuran, bentuk, komposisi, susunan kimia, bagian tubuh yang ditargetkan untuk dicitrakan (jika pencitraan *in vivo*), serta stabilitasnya^{[17], [18]}. Salah satu agen kontras yang dapat dimanfaatkan pada pencitraan fotoakustik adalah senyawa pewarna (*dye compound*)^[19]. Beberapa pewarna sintetik dapat digunakan sebagai agen kontras karena telah disetujui oleh FDA (*Food and Drug Administration*)^{[20], [21]}. Metilen biru sebagai pewarna sintetik dipilih untuk diuji pada penelitian ini karena telah terbukti efektivitasnya sebagai agen kontras^{[22], [23]}, sedangkan metil merah memiliki puncak absorpsi panjang gelombang yang sesuai dengan laser yang digunakan^[24], sehingga penelitian ini dilakukan untuk melihat perbandingan agen kontras berupa metilen biru dan metil merah pada jaringan biologis terhadap hasil citra fotoakustik.

METODE

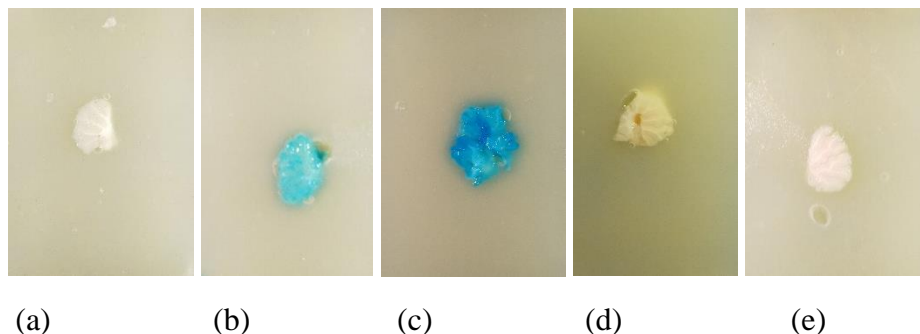
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan hasil citra fotoakustik jaringan biologis sebelum dan setelah pemberian agen kontras yaitu metilen biru dan metil merah^[25]. Tahapan pertama dalam pembuatan sampel jaringan biologis pada penelitian ini adalah pengenceran

agen kontras yang digunakan yakni metilen biru dan metil merah agar diperoleh konsentrasi 50 ppm dan 100 ppm (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil pengenceran agen kontras (a) metilen biru 50 ppm (b) metilen biru 100 ppm (c) metil merah 50 ppm (d) metil merah 100 ppm

Eksperimen dalam penelitian ini dilakukan secara *ex vivo* menggunakan sampel berupa spesimen jaringan otak dari ayam boiler sehat yang direndam dalam *buffer* formalin 10% selama 24 jam. Seluruh sampel terbagi menjadi lima kelompok sesuai tabel 1. Masing-masing kelompok terdiri dari tiga sampel. Setiap sampel yang telah disuntik dengan agen kontras kemudian diblok dengan agar-agar sehingga posisi sampel stabil serta permukaan sampel rata (Gambar 2). Dengan demikian maka jarak permukaan sampel terhadap laser dan detektor dapat diatur secara seragam untuk menghindari bias pada citra fotoakustik akibat perbedaan posisi sampel.



Gambar 2. Sampel (a) jaringan biologis berupa otak ayam (b) jaringan dengan MB 50 ppm (c) jaringan dengan MB 100 ppm (d) jaringan dengan MM 50 ppm (e) jaringan dengan MM 100 ppm

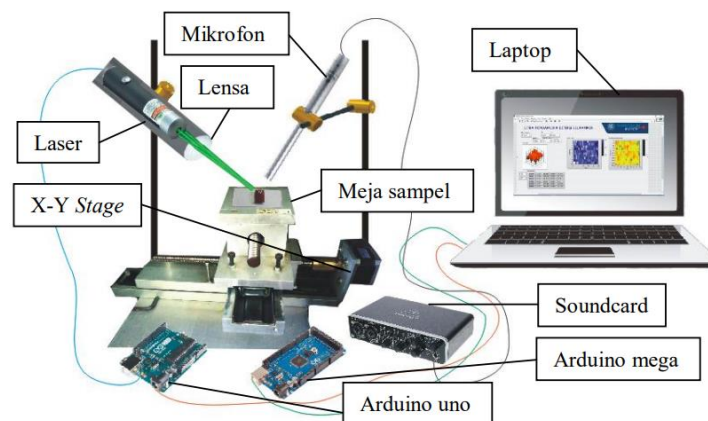
Tabel 1. Pembagian kelompok sampel pada penelitian ini

Kelompok	Jumlah	Perlakuan
Sampel kontrol	3	Tanpa perlakuan
MB50	3	sampel yang diberi agen kontras metilen biru 50 ppm
MB100	3	sampel yang diberi agen kontras metilen biru 100 ppm
MM50	3	Sampel yang diberi agen kontras metil merah 50 ppm
MM100	3	Sampel yang diberi agen kontras metil merah 100 ppm

Sistem pencitraan fotoakustik yang digunakan dalam penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3. Sumber radiasi yang digunakan berupa laser dioda 532 nm dengan daya 200 mW. Laser dioda dimodulasi menggunakan Arduino Uno untuk menghasilkan radiasi menjadi nonstasioner. Radiasi tersebut kemudian dipaparkan pada sampel sehingga muncul sinyal fotoakustik. Sinyal fotoakustik kemudian dideteksi menggunakan detektor akustik berupa mikrofon kondenser ECM8000. Sinyal akustik diperkuat menggunakan *sound card* UMC202 kemudian diolah menjadi citra fotoakustik menggunakan komputer. Sistem pencitraan

fotoakustik yang digunakan pada penelitian ini telah dijelaskan secara lebih spesifik pada penelitian kami sebelumnya^[26].

Untuk memastikan penelitian dilakukan secara akurat dan konsisten, maka dilakukan karakterisasi pada sistem pencitraan fotoakustik^[27] yang berupa karakterisasi laser dioda, karakterisasi mikrofon kondenser, dan karakterisasi pergeseran X-Y *stage*. Selanjutnya, melakukan pengaturan frekuensi dan *duty cycle* agar diperoleh frekuensi dan *duty cycle* yang optimal untuk memodulasi laser guna mencitrakan objek berupa jaringan biologis yang diberi agen kontras pada penelitian ini. Variasi frekuensi yang digunakan yaitu 16 kHz, 17 kHz, 18 kHz, 19 kHz, 20 kHz, sedangkan variasi *duty cycle* yang digunakan yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%.

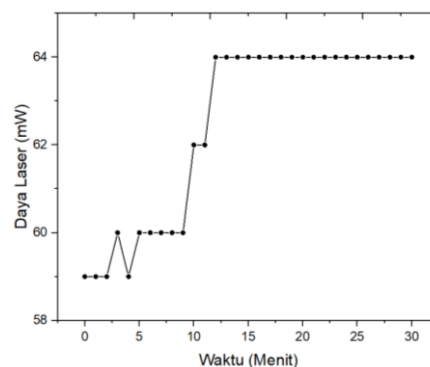


Gambar 3. Rangkaian sistem pencitraan fotoakustik^[25]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Daya Laser

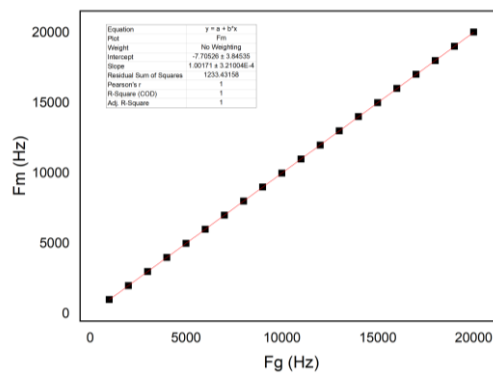
Hasil karakterisasi laser pada penelitian ini berupa pengujian kestabilan daya laser (P) terhadap lama waktu pengoperasian laser (T) yang ditampilkan pada Gambar 4. Dari Gambar 4 dapat diamati bahwa mulai menit ke-12, daya laser mengalami kestabilan. Semakin lama waktu operasional laser maka kestabilan daya laser semakin baik. Berdasarkan hasil eksperimen pada Gambar 4, maka proses pengujian selanjutnya dilakukan pada menit ke-12 setelah laser menyala untuk memperoleh kestabilan daya laser 532 nm yang digunakan pada sistem pencitraan fotoakustik dalam penelitian ini.



Gambar 4. Grafik hubungan daya laser (mW) terhadap waktu (menit)

Karakterisasi Mikrofon Kondenser

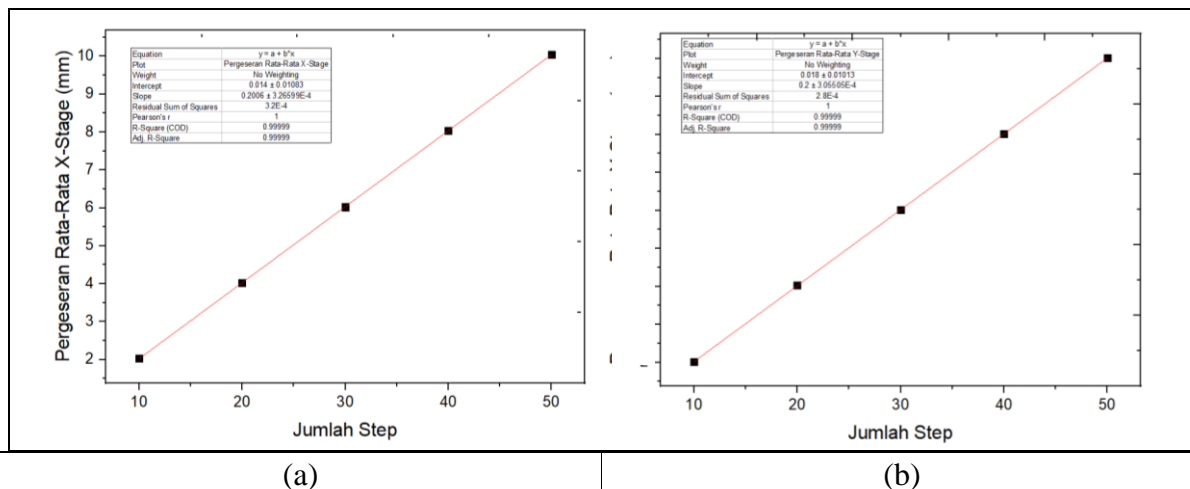
Karakterisasi mikrofon dilakukan untuk mengetahui akurasi antara frekuensi yang terdeteksi oleh mikrofon dengan frekuensi sinyal akustik yang dihasilkan oleh sumber berupa *function generator*. Gambar 5 menunjukkan grafik linear antara frekuensi bunyi yang dideteksi oleh mikrofon (f_m) dengan frekuensi yang dihasilkan oleh *function generator* (f_g). Frekuensi mikrofon (f_m) diperoleh dari frekuensi yang berasal dari gelombang akustik frekuensi *function generator* (f_g). Ketika frekuensi bunyi dari *function generator* mengalami peningkatan maka frekuensi yang dideteksi oleh mikrofon juga akan meningkat. Berdasarkan hasil eksperimen pada Gambar 5 maka mikrofon yang digunakan dalam penelitian ini memiliki akurasi yang baik dalam mendeteksi frekuensi akustik dan dapat digunakan untuk proses pengambilan data.



Gambar 5. Hasil *plotting* data frekuensi bunyi yang dideteksi oleh mikrofon (f_m) dan frekuensi yang diproduksi oleh *function generator* (f_g)

Karakterisasi Pergeseran X-Y Stage

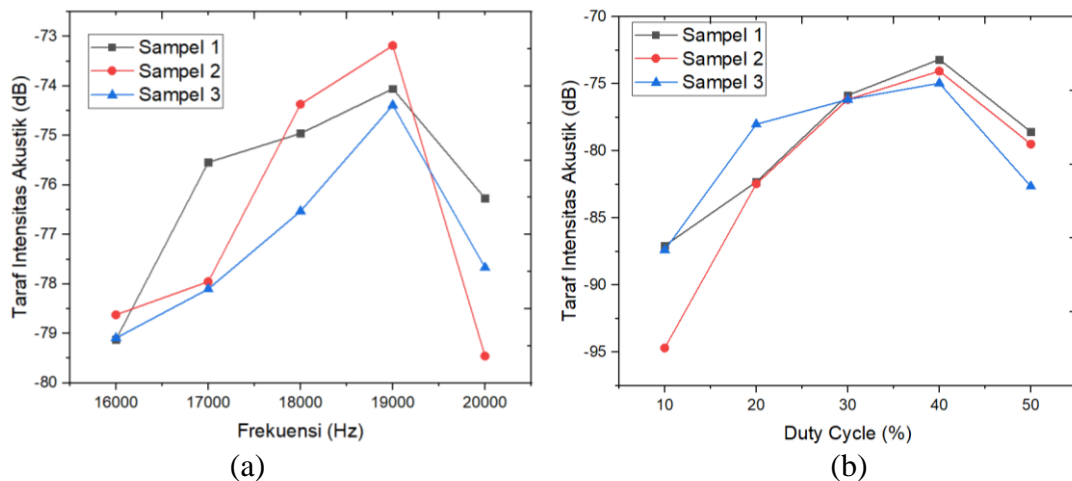
Karakterisasi pergeseran *X-Y stage* dilakukan untuk mengetahui apakah meja *scan* tempat sampel diletakkan sudah bergeser pada arah X dan Y dengan tepat sesuai *step* yang diatur melalui perangkat lunak labview pengendali sistem pencitraan fotoakustik pada penelitian ini. Hasil pengujian akurasi pergeseran *X-Y stage* ditampilkan pada Gambar 6. Gambar 6 menunjukkan hubungan linear antara jumlah *step* dengan pergeseran rata-rata meja *scan* pada arah X dan Y, sehingga input pada program labview sesuai dengan pergeseran meja yang dihasilkan oleh sistem.



Gambar 6. Grafik hubungan jumlah *steps* dengan pergeseran meja *scan* yang digerakkan oleh *X-Y stages*. (a) pergeseran *X-stage* (b) pergeseran *Y-stage*

Pengaturan Frekuensi dan *Duty Cycle* Laser

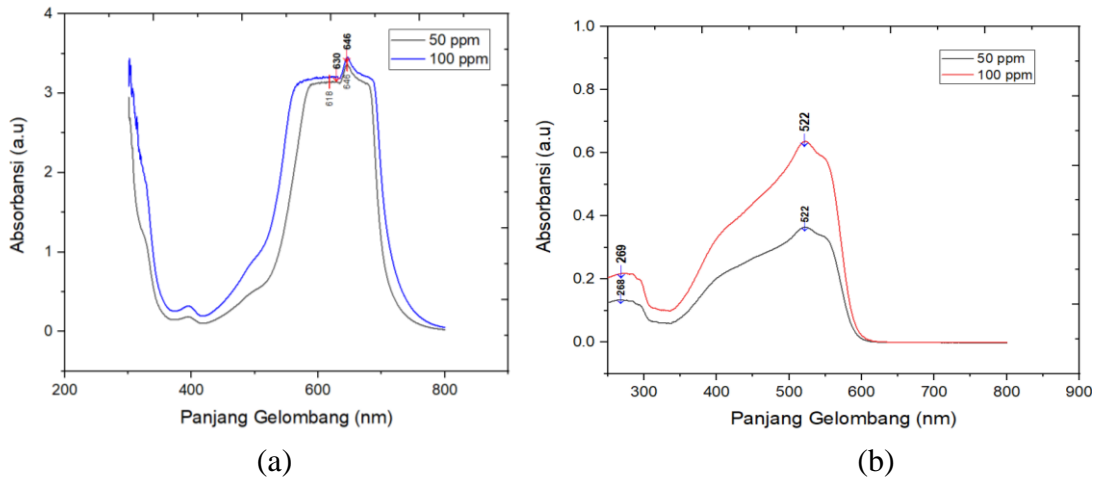
Pengaturan frekuensi dan *duty cycle* bertujuan untuk menentukan besarnya frekuensi dan *duty cycle* yang optimal untuk memodulasi laser yang dipaparkan pada sampel sehingga diharapkan akan diperoleh citra yang baik dengan mempertimbangkan untuk memodulasi laser dengan menggunakan frekuensi dan *duty cycle* yang menghasilkan taraf intensitas akustik (TI) tertinggi dari sampel jaringan biologis yang dicitrakan pada penelitian ini. Gambar 7 menunjukkan bahwa frekuensi laser terbaik yang digunakan untuk memindai sampel adalah 19 kHz (Gambar 7a) dengan *duty cycle* 40% (Gambar 7b).



Gambar 7. Hasil pengukuran taraf intensitas akustik jaringan biologis pada berbagai variasi (a) frekuensi dan (b) *duty cycle* yang digunakan untuk modulasi laser

Penentuan Karakteristik Absorbansi Larutan Agen Kontras

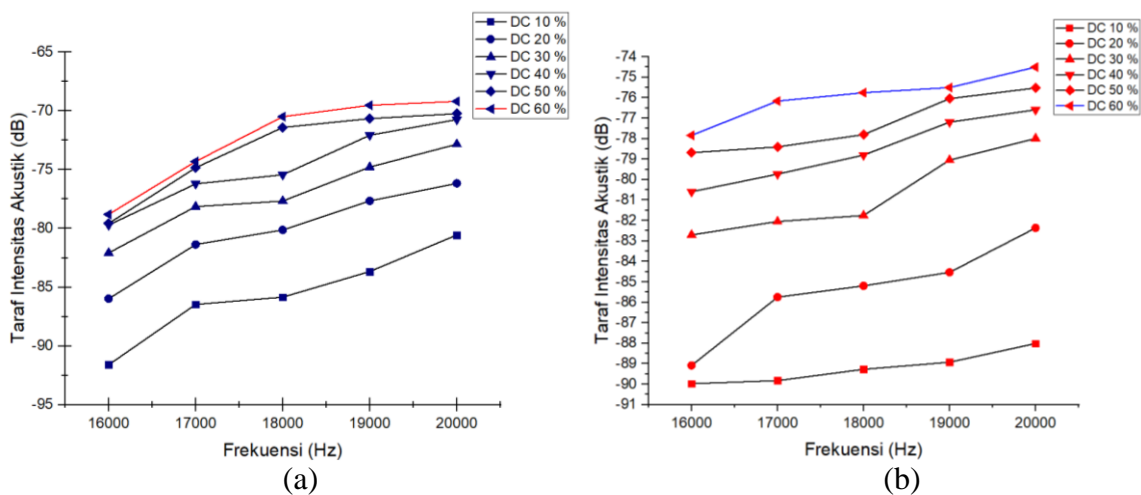
Penentuan karakteristik absorbansi larutan agen kontras dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometer *UV-Visible*^[28]. Tujuan penentuan karakteristik absorbansi larutan adalah untuk mengetahui karakteristik panjang gelombang absorpsi elektromagnetik dari agen kontras yang diselidiki pada penelitian ini. Hasil pengukuran disajikan dalam bentuk grafik karakteristik absorbansi elektromagnetik untuk masing-masing larutan agen kontras pada Gambar 8. Gambar 8a menunjukkan panjang gelombang yang berada pada puncak absorpsi tertinggi untuk larutan agen kontras metilen biru yaitu 646 nm, baik pada larutan dengan konsentrasi 100 ppm maupun 50 ppm, sedangkan Gambar 8b menunjukkan metil merah memiliki puncak absorpsi tertinggi pada panjang gelombang 522 nm, baik pada konsentrasi 50 ppm maupun 100 ppm. Berdasarkan hasil pengujian pada Gambar 8, perbedaan tingkat konsentrasi agen kontras baik metilen biru atau metil merah tidak terlalu berpengaruh terhadap nilai panjang gelombang puncak absorpsi yang didapatkan. Perbedaan tingkat konsentrasi berlaku pada nilai absorbansi.



Gambar 8. Karakteristik absorbansi radiasi elektromagnetik *UV-Visible* agen kontras (a) metilen biru (b) metil merah

Penentuan Taraf Intensitas Akustik Agen Kontras

Pengujian taraf intensitas akustik (*TI*) pada agen kontras dilakukan untuk mengetahui taraf intensitas akustik (*TI*) masing-masing larutan agen kontras yang digunakan. Pengujian ini dilakukan dengan memapar larutan agen kontras menggunakan laser yang dimodulasi dengan beberapa variasi frekuensi dan *duty cycle*, kemudian diambil nilai tertinggi diantara hasil tersebut. Hasil pengujian yang terlihat pada Gambar 9 menunjukkan bahwa nilai taraf intensitas akustik (*TI*) yang terukur cenderung bervariasi seiring bertambahnya nilai frekuensi dan *duty cycle* laser. Dari data yang diperoleh pada Gambar 9, nilai taraf intensitas maksimum berada pada frekuensi 20000 Hz dan *duty cycle* 60% untuk kedua agen kontras. Nilai taraf intensitas akustik untuk metil merah sebesar -69.19 dB sedangkan untuk metil biru sebesar -74.49 dB. Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa larutan metil merah yang belum disuntikkan pada jaringan biologis menghasilkan taraf intensitas akustik yang lebih tinggi dibandingkan dengan larutan metilen biru.



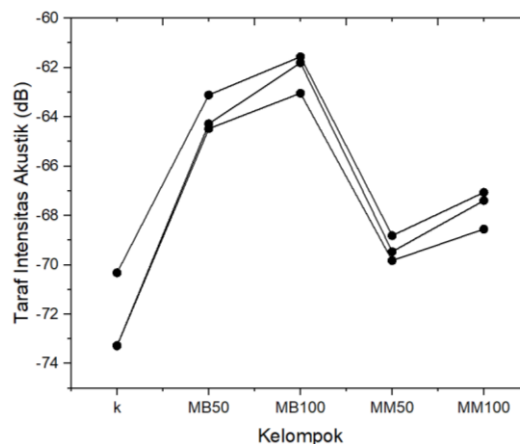
Gambar 9. Karakteristik taraf intensitas akustik (*TI*) dari agen kontras (a) metil merah (b) metilen biru

Hasil Citra Jaringan Biologis dengan Agen Kontras

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berupa jaringan biologis yang diambil hewan. Masing-masing kelompok sampel berbeda dengan ukuran jaringan yang tidak sama tetapi luasan pencitraan tetap sama. Luasan sampel yang dipindai untuk dicitrakan adalah 30x30 mm.

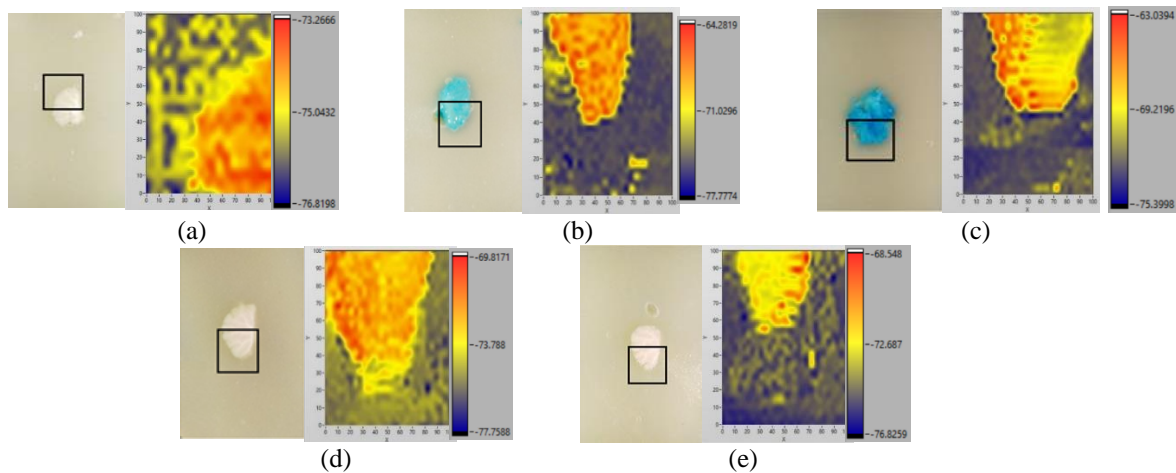
Selama pemaparan laser serta perekaman sinyal akustik tersebut, sampel digerakkan mengikuti pergeseran X-Y *stage*. Tahapan perekaman sinyal akustik berlangsung secara berulang dengan merekam sinyal akustik pada satu titik tertentu pada sampel yang dilanjutkan dengan pergeseran X-Y *stage* serta perekaman lagi pada titik berikutnya. Proses pemindaian ini berlangsung secara *kontinu* hingga seluruh sampel selesai dipindai dan direkam data akustiknya selama 30 menit sesuai dengan luasan sampel yang dipindai oleh laser.

Hasil rerata taraf intensitas akustik untuk masing-masing sampel kontrol, MB50, MB100, MM50, MM100 yaitu -72.29 dB, -63.96 dB, -62.14 dB, -69.36 dB, -67,66 dB. Gambar 10 merupakan grafik hubungan antara variasi kelompok sampel terhadap taraf intensitas akustik. Gambar 10 menunjukkan ditunjukkan bahwa sampel dengan agen kontras metilen biru dengan konsentrasi 50 ppm dan 100 ppm menunjukkan taraf intensitas akustik lebih tinggi dengan taraf intensitas akustik -63.96 dB untuk 50 ppm dan -62.14 dB untuk 100 ppm daripada sampel jaringan yang diberi agen kontras metil merah 50 ppm dan 100 ppm dengan taraf intensitas akustik -69.36 dB untuk 50 ppm dan -67,66 dB untuk 100 ppm maupun sampel kontrol dengan taraf intensitas akustik -72.29 dB. Selain itu, dari Gambar 10 menunjukkan tingkat konsentrasi agen kontras juga mempengaruhi tingkat taraf intensitas akustik (*TI*) sampel. Sampel dengan konsentrasi 100 ppm lebih tinggi dibanding sampel dengan konsentrasi 50 ppm baik untuk sampel dengan metilen biru maupun sampel dengan metil merah. Sehingga semakin besar konsentrasinya maka semakin besar pula taraf intensitasnya (*TI*).



Gambar 10. Taraf intensitas akustik (*TI*) dari setiap kelompok sampel

Nilai taraf intensitas akustik yang dihasilkan dari pemindaian keseluruhan sampel selanjutnya direkonstruksi menjadi citra fotoakustik. Warna pada citra fotoakustik (Gambar 11) menunjukkan rentang nilai taraf intensitas akustik. Merah menunjukkan taraf intensitas akustik (*TI*) tertinggi, biru merupakan taraf intensitas akustik (*TI*) paling rendah dan kuning mewakili taraf intensitas akustik (*TI*) sedang^[26]. Gambar 11 menunjukkan hal tersebut, pada citra fotoakustik setiap sampel terlihat warna yang berbeda berdasarkan taraf intensitas akustiknya (*TI*). Perbedaan rata-rata intensitas akustik menghasilkan kontras citra yang berbeda pula dari setiap sampel yang dicitrakan. Pada citra fotoakustik, tampak area citra yang merepresentasikan jaringan biologis menunjukkan warna kuning dan merah, sedangkan area medium tampak sebagai warna biru pada citra fotoakustik. Dari citra fotoakustik pada Gambar 11 memperlihatkan bahwa area jaringan biologis menghasilkan taraf intensitas akustik yang lebih tinggi dibanding medianya.



Gambar 11. Hasil citra interpolasi sampel (a) kontrol (b) MB50 ppm (c) MB100 ppm (d) MM50ppm (e) MM100 ppm

Agen kontras metil merah memiliki nilai puncak absorpsi pada panjang gelombang 522 nm, sedangkan metilen biru memiliki nilai puncak absorpsi pada panjang gelombang puncak 646 nm (Gambar 8). Hal tersebut menunjukkan bahwa jika dibandingkan dengan metilen biru, agen kontras berupa metil merah memiliki absorpsi yang lebih sesuai dengan laser yang digunakan yakni laser hijau dengan 532 nm. Sehingga hasil *scan* 1 titik kedua agen kontras (Gambar 9) menunjukkan taraf intensitas akustik (*TI*) metil merah lebih besar dibanding metilen biru, namun demikian saat kedua jenis agen kontras tersebut digunakan untuk mencitrakan sampel jaringan biologis, hasil taraf intensitas akustik (*TI*) sampel dengan agen kontras metilen biru cenderung lebih tinggi daripada sampel dengan agen kontras metil merah (Gambar 10).

Berdasarkan hasil pengamatan secara fisik, tampak kesan perbedaan penyerapan sampel jaringan terhadap agen kontras berupa metilen biru jika dibandingkan dengan agen kontras metil merah. Pewarnaan jaringan yang diberi agen kontras disebabkan oleh terjadinya ikatan molekul antara jaringan dan zat kontras atau zat warna yang digunakan. Zat warna yang terikat pada jaringan akan menyerap sinar dengan panjang gelombang tertentu sehingga jaringan akan tampak berwarna. Zat warna memiliki sifat-sifat tertentu agar dapat mengikat komponen jaringan. Jaringan memiliki inti sel yang bermuatan ion negatif sehingga lebih mudah berinteraksi dengan metilen biru yang merupakan zat warna kationik yang bermuatan ion positif^[29]. Olehnya itu, metilen biru juga digunakan dalam pewarnaan jaringan pada pemeriksaan histopatologi untuk mendukung diagnosa suatu penyakit^{[30], [31]}. Adapun metil merah merupakan pewarna anionik yang dapat menyebabkan iritasi pada mata, kulit, dan saluran pencernaan jika terhirup atau tertelan^[32]. Karakteristik metil merah yang bersifat anionik kemungkinan dapat menjadi penghambat interaksi antara agen kontras metil merah dengan jaringan. Berdasarkan hasil penelitian ini, metilen biru menunjukkan potensi lebih besar sebagai agen kontras pada pencitraan fotoakustik jika dibandingkan dengan metil merah, karena kemampuannya yang lebih baik untuk memberi warna pada jaringan.

KESIMPULAN

Sistem pencitraan fotoakustik berbasis laser dioda dan mikrofon kondenser mampu mencitrakan jaringan biologis dengan tambahan agen kontras. Frekuensi optimal modulasi laser untuk mencitrakan jaringan biologis adalah 19 kHz dengan *duty cycle* 40%. Hasil penelitian menunjukkan sampel dengan agen kontras metilen biru memiliki taraf intensitas akustik lebih tinggi (-63,96 dB untuk 50 ppm dan -62,14 dB untuk 100 ppm) dibanding sampel dengan agen kontras metil merah (-69,36 dB untuk 50 ppm dan -67,66 dB untuk 100 ppm) dan

sampel tanpa agen kontras bernilai taraf intensitas akustik paling rendah diantara sampel yaitu -72,29 dB. Sehingga nilai taraf intensitas akustik dari jaringan biologis dengan penambahan agen kontras lebih tinggi dibanding jaringan biologis tanpa agen kontras. Konsentrasi dari agen kontras juga mempengaruhi nilai taraf intensitas akustiknya, semakin besar konsentrasi agen kontras maka semakin besar pula taraf intensitas akustiknya.

DAFTAR PUSTAKA

- 1 Pomara, C., Pascale, N., Maglietta, F., Neri, M., Riezzo, I., & Turillazzi, E. 2015. Use of contrast media in diagnostic imaging: medico-legal considerations. *La radiologia medica*, 120(9), 802-809.
- 2 Yao, Q., Ding, Y., Liu, G., & Zeng, L. 2017. Low-cost photoacoustic imaging systems based on laser diode and light-emitting diode excitation. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 10(04), 1730003, doi: 10.1142/S1793545817300038.
- 3 Liu, W. W., & Li, P. C. 2020. Photoacoustic imaging of cells in a three-dimensional microenvironment. *Journal of biomedical science*, 27(1), 1-9, doi: 10.1186/s12929-019-0594-x.
- 4 Zhang, Y., Hong, H., & Cai, W. 2011. Photoacoustic imaging. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2011(9), pdb-top065508.
- 5 Wu, Y., Zhang, H. K., Kang, J., & Boctor, E. M. 2020. An economic photoacoustic imaging platform using automatic laser synchronization and inverse beamforming. *Ultrasonics*, 103, 106098, doi: 10.1016/j.ultras.2020.106098.
- 6 Xu, D., Yang, S., Wang, Y., Gu, Y., & Xing, D. 2016. Noninvasive and high-resolving photoacoustic dermoscopy of human skin. *Biomedical optics express*, 7(6), 2095-2102. doi: 10.1364/boe.7.002095.
- 7 Dahlstrand, U., Sheikh, R., Merdasa, A., Chakari, R., Persson, B., Cinthio, & Malmström, M. (2020). Photoacoustic imaging for three-dimensional visualization and delineation of basal cell carcinoma in patients. *Photoacoustics*, 18, 100187, doi: 10.1016/j.pacs.2020.100187.
- 8 Lin, Y., Li, Z., Li, Z., Cai, J., Wui, H., & Li, H. 2018. Real-time photoacoustic and ultrasonic dual-modality imaging system for early gastric cancer: Phantom and ex vivo studies. *Optics Communications*, 426, 519-525, doi: 10.1016/j.optcom.2018.05.087.
- 9 Moore, C., Bai, Y., Hariri, A., Sanchez, J. B., Lin, C. Y., Koka, S., ... & Jokerst, J. V. 2018. Photoacoustic imaging for monitoring periodontal health: A first human study. *Photoacoustics*, 12, 67-74., doi: 10.1016/j.pacs.2018.10.005.
- 10 Erfanzadeh, M., Kumavor, P. D., & Zhu, Q. 2018. Laser scanning laser diode photoacoustic microscopy system. *Photoacoustics*, 9, 1-9, doi: 10.1016/j.pacs.2017.10.001.
- 11 Zhong, H., Duan, T., Lan, H., Zhou, M., & Gao, F. 2018. Review of low-cost photoacoustic sensing and imaging based on laser diode and light-emitting diode. *Sensors*, 18(7), 2264, doi: 10.3390/s18072264.
- 12 Xu, M., & Wang, L. V. 2006. Photoacoustic imaging in biomedicine. *Review of scientific instruments*, 77(4), 041101., doi: 10.1063/1.2195024.
- 13 Fatima, A., Kratkiewicz, K., Manwar, R., Zafar, M., Zhang, R., Huang, B., & Avanaki, K. M. 2019. Review of cost reduction methods in photoacoustic computed tomography. *Photoacoustics*, 15, 100137. doi: 10.1016/j.pacs.2019.100137.
- 14 Filippi, M., Garello, F., Pasquino, C., Arena, F., Giustetto, P., Antico, F., & Terreno, E. 2019. Indocyanine green labeling for optical and photoacoustic imaging of mesenchymal stem cells after in vivo transplantation. *Journal of Biophotonics*, 12(5), e201800035, doi: 10.1002/jbio.201800035.

- 15 Wang, L. V., & Yao, J. 2016. A practical guide to photoacoustic tomography in the life sciences. *Nature methods*, 13(8), 627-638, doi: 10.1038/nmeth.3925.
- 16 Gao, F., Kishor, R., Feng, X., Liu, S., Ding, R., Zhang, R., & Zheng, Y. 2017. An analytical study of photoacoustic and thermoacoustic generation efficiency towards contrast agent and film design optimization. *Photoacoustics*, 7, 1-11. doi: 10.1016/j.pacs.2017.05.001.
- 17 Wu, D., Huang, L., Jiang, M. S., & Jiang, H. 2014. Contrast agents for photoacoustic and thermoacoustic imaging: a review. *International journal of molecular sciences*, 15(12), 23616-23639. doi: 10.3390/ijms151223616.
- 18 Luke, G. P., Yeager, D., & Emelianov, S. Y. 2012. Biomedical applications of photoacoustic imaging with exogenous contrast agents. *Annals of biomedical engineering*, 40(2), 422-437. doi: 10.1007/s10439-011-0449-4.
- 19 Upputuri, P. K., & Pramanik, M. 2020. Recent advances in photoacoustic contrast agents for in vivo imaging. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 12(4), e1618., doi: 10.1002/wnan.1618.
- 20 Fu, Q., Zhu, R., Song, J., Yang, H., & Chen, X. (2019). Photoacoustic imaging: contrast agents and their biomedical applications. *Advanced Materials*, 31(6), 1805875, doi: 10.1002/adma.201805875.
- 21 Attia, A. B. E., Balasundaram, G., Moothanchery, M., Dinish, U. S., Bi, R., Ntziachristos, V., & Olivo, M. 2019. A review of clinical photoacoustic imaging: Current and future trends. *Photoacoustics*, 16, 100144. doi: 10.1016/j.pacs.2019.100144.
- 22 Arconada-Alvarez, S. J., Lemaster, J. E., Wang, J., & Jokerst, J. V. 2017. The development and characterization of a novel yet simple 3D printed tool to facilitate phantom imaging of photoacoustic contrast agents. *Photoacoustics*, 5, 17-24. doi: 10.1016/j.pacs.2017.02.001.
- 23 Hariri, A., Lemaster, J., Wang, J., Jeevarathinam, A. S., Chao, D. L., & Jokerst, J. V. 2018. The characterization of an economic and portable LED-based photoacoustic imaging system to facilitate molecular imaging. *Photoacoustics*, 9, 10-20. doi: 10.1016/j.pacs.2017.11.001.
- 24 National Center for Biotechnology Information, "Methyl red," 2021. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methyl-red> (accessed Mar. 02, 2021).
- 25 Janna, M. 2021. Aplikasi Sistem Pencitraan Fotoakustik berbasis Laser Dioda dan Mikrofon Kondenser untuk Mencitrakan Jaringan Biologis dengan Agen Kontras Pewarna Sintetik, *Doctoral dissertation*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- 26 Widyaningrum, R., Mitrayana, M., Gracea, R. S., Agustina, D., Mudjosemedi, M., & Silalahi, H. M. 2020. The Influence of Diode Laser Intensity Modulation on Photoacoustic Image Quality for Oral Soft Tissue Imaging. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 11(Suppl 1), S92. doi: 10.34172/JLMS.2020.S15.
- 27 Supriyanto, A. A. 2018. Kalibrasi Alat Ukur Pressure Gauge Sistem Kontrol Level Pada Flashtank 5 Calender. *Jurnal Elektra*, 3(1), 19-24..
- 28 Myers, D. N. 2019. Innovations in monitoring with water-quality sensors with case studies on floods, hurricanes, and harmful algal blooms. *Separation Science and Technology*. 11, 219-283. Academic Press..
- 29 Veuthey, T., Herrera, G., & Dodero, V. I. 2014. Dyes and stains: from molecular structure to histological application. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 19(1), 91-112.
- 30 Rahmawati, T., & Apriyadi, Y. 2020. Utilization of 1% of Methylene Blue in Staining Histopathological Preparations at Anatomic Pathology Laboratory. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*, 2(2), 93-100. doi: 10.33086/ijmlst.v2i2.1563.
- 31 Abraham, L., Rai, A., Burde, K., & Naikmasur, V. 2016. Methylene blue as a diagnostic

- aid in the early detection of potentially malignant and malignant lesions of oral mucosa. *Ethiopian journal of health sciences*, 26(3), 201-208.
- 32 Muthuraman, G., & Teng, T. T. 2009. Extraction of methyl red from industrial wastewater using xylene as an extractant. *Progress in Natural Science*, 19(10), 1215-1220. doi: 10.1016/j.pnsc.2009.04.002.