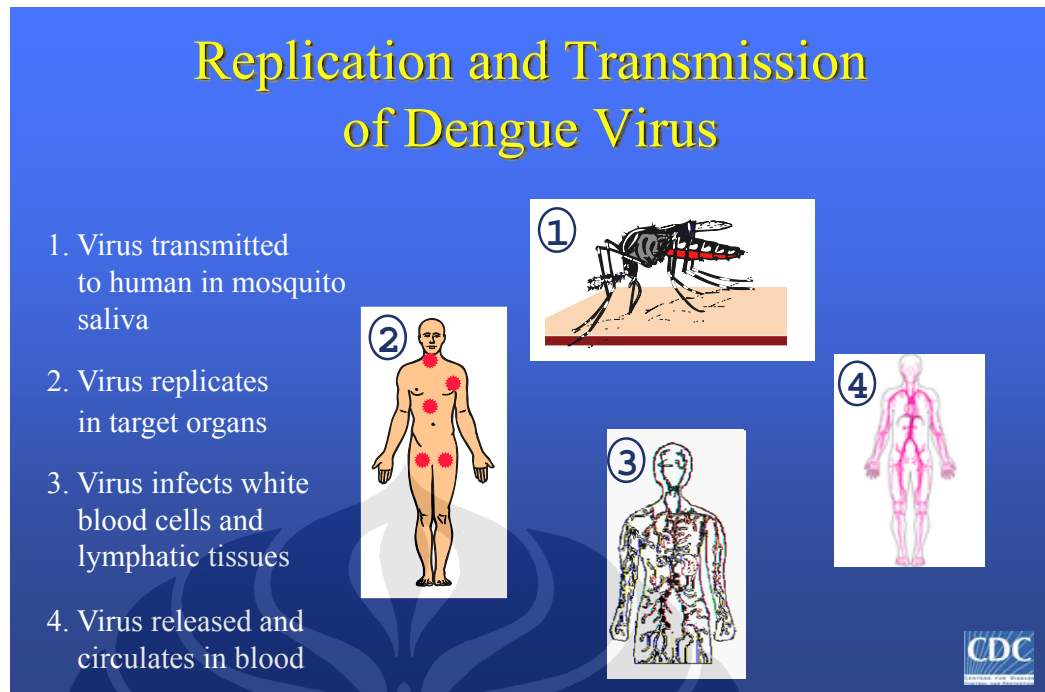


BAB 2.
PREPARASI DARAH DAN PENGGUNAAN SPEKTROFOTOMETER
DENGAN JARINGAN SARAF TIRUAN PADA DEMAM DENGUE

2.1 Demam Dengue

Temperatur tubuh manusia diatur oleh hipotalamus. Hipotalamus memiliki dua bagian yang tiap bagian sama-sama menerima dua jenis sinyal. Sinyal pertama berasal dari saraf perifer yang meneruskan rangsangan dari reseptor panas atau dingin dan sinyal kedua berasal dari temperature darah dari tiap-tiap bagian tubuh. Dua sinyal ini, terintegrasi dalam pusat termoregulasi hipotalamus untuk mempertahankan temperatur tubuh dalam keadaan normal. Temperatur tubuh dipertahankan normal, walaupun keadaan suhu lingkungan berubah-ubah. Hal ini dikarenakan pusat termoregulator hipotalamus membuat keseimbangan antara produksi panas tubuh dengan pengeluarannya. Berdasarkan penelitian, diketahui bahwa seseorang dewasa normal yang berusia antara 18 – 40 tahun, memiliki temperature rata-rata antara $36,8^{\circ}\text{C} \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, dengan nilai terendah pada jam 6.00 pagi dan nilai tertinggi pada jam 16.00. Nilai maksimum suhu oral tubuh pada jam 6.00 adalah $37,2^{\circ}\text{C}$, sedangkan pada jam 16.00 adalah $37,7^{\circ}\text{C}$. Oleh karena itu, nilai temperatur tubuh manusia yang lebih tinggi dari nilai maksimum tersebut, termasuk dalam kategori demam. Zat-zat penyebab demam disebut pirogen. Pirogen eksogen, berasal dari eksternal tubuh, mayoritas merupakan produk dari mikrobiologi, toksin mikrobiologi atau karena mikroorganisme utuh (Kasper, 2005).

Penyakit DBD adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Penyakit ini dapat menyerang semua orang dan dapat mengakibatkan kematian, terutama pada anak serta sering menimbulkan wabah. Manifestasi klinis infeksi virus dengue tergantung dari berbagai faktor yang mempengaruhi daya tahan tubuh penderita. Virus dengue yang menginfeksi manusia dengan perantara nyamuk, didalam tubuh manusia tersebut mengalami replikasi dan transmisi seperti pada Gambar 2.1 sebagai berikut :



Gambar 2.1 Replikasi dan transmisi Virus Dengue

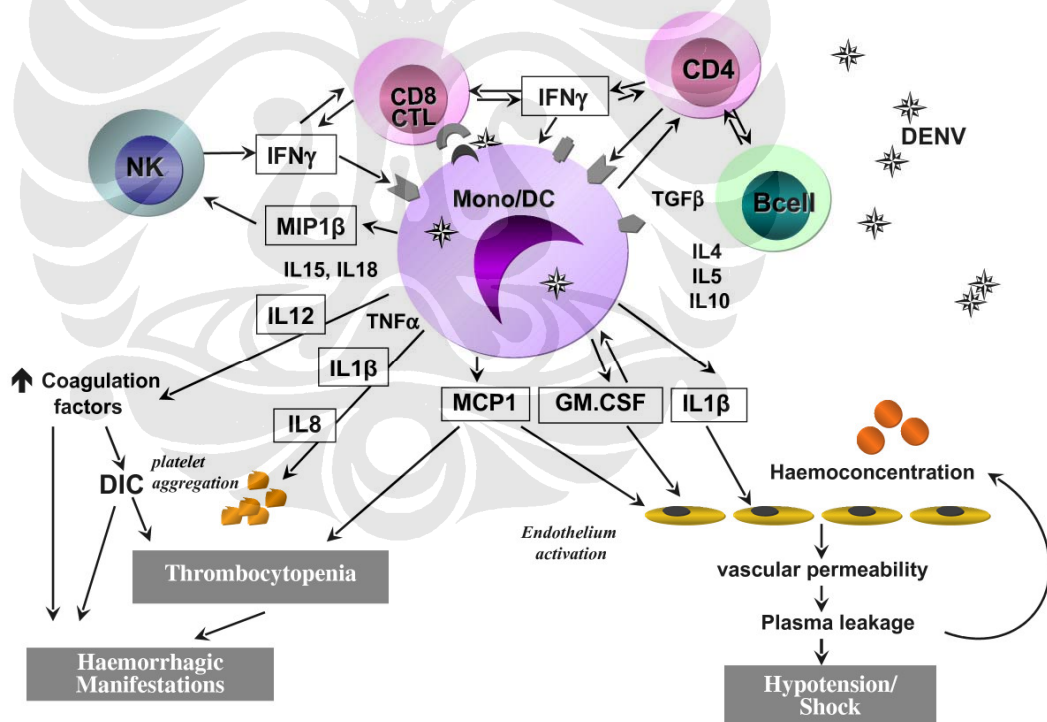
(World Health Organization, 2007)

Terdapat berbagai keadaan mulai dari tanpa gejala (asimtomatik), demam ringan yang tidak spesifik (*undifferentiated febrile illness*), DD, DBD dan sindrom syok dengue (SSD). Pada umumnya semua pasien mengalami fase demam selama 2-7 hari, dimana di dalamnya terdapat fase kritis selama 2-3 hari. Pada fase kritis ini suhu turun, dan resiko terjadinya SSD meningkat yang kadang-kadang dapat bersifat fatal apabila tidak mendapatkan pengobatan yang adekuat. Selain itu gejala-gejala yang mungkin timbul pada DD adalah nyeri kepala, nyeri retro orbital (nyeri di daerah belakang mata), mialgia (nyeri pada otot), dan artralgia (nyeri persendian). Dalam DBD gejala tersebut ditambah dengan adanya uji torniquet (uji bendung) yang positif, kemudian jika terjadi perdarahan spontan, maka derajat DBD meningkat menjadi derajat II. Sedangkan derajatnya meningkat menjadi III apabila disertai kegagalan sirkulasi, dan derajat IV bila terjadi syok.

Terbentuknya kompleks antigen-antibodi antara antigen virus dengue dengan antibodi selain menyebabkan proses terjadinya trombositopenia juga akan mengaktifkan sistem koagulasi secara kaskade. Pengaktifan sistem koagulasi ini

menyebabkan adanya peningkatan permeabilitas kapiler dan adanya fibrinolisis. Aktivasi sistem koagulasi dan fibrinolisis yang berkepanjangan berakibat menurunnya berbagai faktor koagulasi seperti fibrinogen II, V, VII, VIII, IX dan X serta plasminogen. Keadaan ini menyebabkan dan memperberat perdarahan pada pasien DBD, ditambah lagi dengan adanya trombositopenia. Secara klinis dapat dijumpai gejala perdarahan berat sebagai akibat trombositopenia berat, masa perdarahan dan masa protrombin yang memanjang, penurunan kadar faktor pembekuan II, V, VII, IX, X bersama dengan hipofibrinogenemia dan peningkatan produk pemecahan fibrin.

Proses patofisiologi yang telah dijelaskan diatas, terjadi pula proses patogenesis. Patogenesis demam dengue berdasarkan teori mediator seperti pada Gambar 2.2 sebagai berikut :



Gambar 2.2 Mekanisme hipotesa model cytokine selama demam dengue (Takehiro, 2005)

Teori mediator, di mana makrofag yang terinfeksi virus dengue akan melepaskan berbagai mediator seperti interferon, IL-1, IL-6, IL-12, TNF dan lain-

lain. Diperkirakan mediator dan endotoksin bertanggung jawab atas terjadinya syok septik, demam dan peningkatan permeabilitas kapiler. Dalam mekanisme hipotesa model cytokine selama demam dengue, dijelaskan bahwa MIP-1 β akan terkait dengan jalur proteksi chemoattractive dan aktivasi pada NK cell, yang akhirnya efisien untuk pembersihan sel dari virus tersebut oleh produksi cytokine antiviral dan aktivitas cytotoxic pada sel yang terinfeksi. IFN- γ memiliki efek merusak hospes dalam aktivasi sel T untuk aktivasi virus antigen cross-reaction dan aktivasi sel monocyte / dendritic. IFN - γ dan GM-CSF dapat mengaktivasi monocytes mononuclear yang pada akhirnya menghasilkan beberapa faktor seperti IL-1 β dan MCP-1 yang dapat mempengaruhi permeabilitas vascular dan kebocoran plasma serta perdarahan. Seperti yang diusulkan oleh penulis lain, ada kemungkinan bahwa prose virus direplikasi di dalam sel presentasi antigen, pergerakan dan sirkulasi cytokine, dan aktivasi sel T merupakan proses yang tidak linear, tetapi dalam interaksi jaringan yang kompleks, dengan masukan positif dan negatif, di mana pembersihan virus dan pathologic berlangsung, seperti peningkatan permeabilitas vascular dan kebocoran plasma (Takehiro, 2005)

Patofisiologi dan patogenesis yang terjadi pada demam dengue, menyebabkan hematokrit meningkat pada hari ketiga (>20%) dan terus meningkat sesuai dengan perjalanan penyakit. Kasus berat yang terjadi perdarahan, hematokrit tidak meningkat bahkan menurun, sedangkan hemoglobin pada hari-hari pertama dapat normal atau sedikit menurun. Kemudian hemoglobin akan naik mengikuti hematokrit, sehingga merupakan kelainan paling awal yang dapat ditemukan. Pada leukosit, terjadi leukopenia ringan – leukositosis sedang. Leukopenia terjadi pada hari ke-1 sampai ke-3. Hitung jenis normal pada hari ke-3 sampai ke-8, kecuali granulosit menurun pada hari ke-3 sampai ke-8. Pada keadaan syok berat terjadi leukositosis dan neutropenia absolut. Limfosit bertransformasi atau atipik (20-50%) akan terlihat pada hari ke-3.

Penurunan jumlah trombosit (trombositopenia) pada umumnya terjadi sebelum ada peningkatan hematokrit dan sebelum suhu turun. Dikatakan trombositopenia bila jumlah trombosit di bawah 100.000/ μ l biasanya dijumpai antara hari sakit ke-3 sampai ke-7. Apabila diperlukan, pemeriksaan trombosit perlu diulangi setiap hari sampai suhu turun. Terjadinya trombositopenia

disebabkan karena banyaknya trombosit yang melekat pada sel-sel endotel yang terinfeksi virus dengue.

Tabel 2.1 Perubahan Laboratorium Pada Penderita Demam Berdarah Dengue (Nelwan, 2006)

Hari Demam	Jenis Pemeriksaan	Catatan Khusus
1-2	Hematologi <ul style="list-style-type: none"> • Hemoglobin (Hb) • Hematokrit (Ht) • Hitung Leukosit 	Biasanya normal
3	Hematologi <ul style="list-style-type: none"> • Hemoglobin (Hb) • Hematokrit (Ht) • Hitung Leukosit • Hitung trombosit 	<ul style="list-style-type: none"> • Hb meningkat • Hemokonsentrasi (peningkatan Ht ($\geq 20\%$)) • Leukopenia • Limfositosis relatif ($> 45\%$ dari Total leuko) • Limfosit Plasma biru ($>15\%$ dari total leukosit atau 4% dari total limfosit) • Trombositopenia ($<100.000/\mu\text{L}$) atau penurunan serial
4-7	Hematologi <ul style="list-style-type: none"> • Hb • Ht • Hitung leukosit • Hitung trombosit • Hapusan darah tepi • PT, APTT, D-dimer / Fibrin monomer, fibrinogen Imunoserologi Anti Dengue IgM, IgG Uji HI KIMIA	Bila dicurigai terjadi perdarahan, waspadai DIC (PT $>$, APTT $>$ D-dimer +, atau Fibrin Monomer +, Fibrinogen $<$) Peningkatan IgM atau IgG: IgM+, IgG- Infeksi primer IgM+, IgG+ Infeksi sekunder IgM-, IgG+ Riwayat terpapar / dugaan infeksi sekunder IgM-, IgG- Bukan Flavivirus, ulang 3-5 hari bila curiga 1:2560 infeksi sekunder flavivirus SGOT/SGPT, albumin
8-10	Hematologi Hb Ht Hitung leukosit Hitung Trombosit Hapus darah tepi	Normal pada fase penyembuhan
11-12	Imunoserologi Uji HI	Peningkatan titer $> 4x$ $\geq 1:1280$ infeksi flavivirus akut primer $\leq 1: 2560$ infeksi flavivirus akut sekunder

Pemeriksaan diagnostik pasti, didapatkan dari hasil isolasi virus dengue (kultur swab) ataupun deteksi antigen virus spesifik RNA dengue dengan teknik RT-PCR. Namun uji yang sering dilakukan pada saat ini adalah uji yang non spesifik yaitu uji serologi, dengan mendeteksi antibodi spesifik terhadap dengue berupa antibodi total IgM maupun IgG. Uji serologi ini dapat menghasilkan *false* positif terhadap flavivirus.

Pemeriksaan serologis berupa IgM dan IgG antidengue diperlukan untuk membedakan demam yang diakibatkan virus dengue ataukah demam oleh sebab lain (demam tifoid, influenza, malaria, hepatitis dan lain-lain). Saat ini sudah ada tes yang dapat mendiagnosis DBD dalam waktu demam 8 jam pertama yaitu antigen virus dengue yang disebut dengan antigen NS1. Keuntungan mendeteksi antigen NS1 yaitu untuk mengetahui adanya infeksi dengue pada penderita tersebut pada fase awal demam, tanpa perlu menunggu terbentuknya antibodi.

Pemeriksaan IgM dan IgG antidengue tetap diperlukan untuk membedakan infeksi primer atau infeksi sekunder. Hal ini penting untuk penatalaksanaan manajemen terapi di samping epidemiologi, karena pada infeksi sekunder keadaan dapat menjadi lebih berat (DBD/SSD= Sindrom Syok Dengue).

Pemeriksaan antigen NS1 diperlukan untuk mendeteksi adanya infeksi virus dengue pada fase akut, dimana pada berbagai penelitian menunjukkan bahwa NS1 lebih unggul sensitivitasnya dibandingkan kultur virus dan pemeriksaan PCR maupun antibodi IgM dan IgG antidengue. Spesifisitas antigen NS1 100% sama tingginya seperti pada *gold standard* kultur virus maupun PCR.

Pemeriksaan tersebut bila dilakukan perbandingan berdasarkan jenis pemeriksaan, apa yang dilakukan dalam pemeriksaan, lamanya pemeriksaan dan pada hari demam ke berapa dilakukan pemeriksaan, serta harga yang dikenakan untuk sekali pemeriksaan seperti yang dilihat pada tabel 2.1 dibawah ini. Maka dapat disimpulkan bahwa pemeriksaan yang telah ada, walaupun tergolong relatif cepat namun tetap saja harga yang dikenakan pada pasien mahal dan tak terjangkau bagi golongan masyarakat menengah ke bawah:

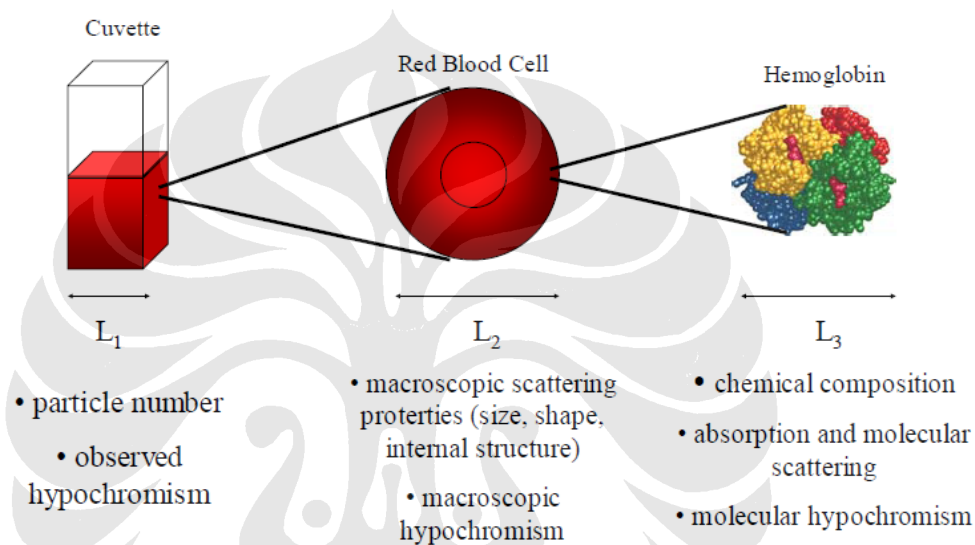
Tabel 2.2 Perbandingan Pemeriksaan Demam Dengue

Jenis Pemeriksaan DD	Deskripsi Pemeriksaan DD	Lama Pemeriksaan DD dan Hari Demam ke-dilakukan pemeriksaan	Harga Pemeriksaan DD di Pelayanan Kesehatan
Kultur dan isolasi virus dengan RT-PCR	Pemeriksaan diagnostik pasti, didapatkan dari hasil isolasi virus dengue (kultur swab) ataupun deteksi antigen virus spesifik RNA dengue dengan teknik RT-PCR	48 Jam Hari ke-3-4 demam	> Rp.500.000/sekali pemeriksaan
Uji serologi IgG dan IgM	Mendeteksi antibodi spesifik terhadap dengue berupa antibodi total IgM maupun IgG. Uji serologi ini dapat menghasilkan <i>false</i> positif terhadap flavivirus.	24 Jam Hari ke-3 -4 demam	> Rp.150.000/sekali pemeriksaan
Uji hematologi	Pemeriksaan Hemoglobin (Hb), Hematokrit (Ht), Hitung Leukosit, Trombosit dan Hapusan Darah Tepi	45 Menit Hari ke-3 demam	> Rp. 100.000/sekali pemeriksaan
NS1	Pemeriksaan NS1 menggunakan Dengue NS1 antigen untuk mendeteksi secara cepat virus dengue pada pasien Demam dengue. Dengue NS1 antigen merupakan glycoprotein yang sangat penting bagi virus Dengue. Sehingga Dengue NS1 antigen ini dapat digunakan sebagai marker adanya virus dengue pada tersangka demam dengue	15-20 Menit Hari ke-1 demam	> Rp. 300.000/sekali pemeriksaan

2.2 Absorbansi Darah

Penegakkan diagnosa demam dengue dari teknik yang paling sederhana sampai dengan teknik yang canggih, sampel yang diambil adalah darah. Darah terdiri dari plasma, sel darah merah, sel darah putih dan trombosit (Sherwood, 2001). Protein plasma terdiri dari albumin (60 % dari total protein plasma), fibrinogen (4 %) dan globulin (36%). Darah merupakan jaringan yang sangat kompleks dan belum dapat dipahami secara penuh kandungan protein yang melaksanakan dan kemampuan khusus lain dalam memelihara homeostasis (Motrescu, Oancea, Rapa, & Airinei, 2006).

Penyerapan optik merupakan metode klasik untuk mengetahui kandungan protein yang terdapat dalam jaringan dengan pengukuran panjang gelombang penyerapannya. Spektrum UV berisi informasi penyebaran dan penyerapan suatu partikel yang dibuktikan pada penelitian Nanoyama tahun 2004, mengenai pengkarakterisasian panjang gelombang terhadap sel darah merah. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa sel darah merah memiliki tingkat absorbansi yang sangat tinggi karena memiliki hipokrom yang cukup tinggi, terlihat pada gambar berikut ini:



Gambar 2.3 Tiga bagian penting dalam analisis spectrum sel darah merah (Nonoyama, 2004)

Informasi ini dapat digunakan untuk menginterpretasikan spektrum yang berkaitan dengan ukuran partikel, bentuk dan komposisi kimia yang dikandungnya. Plasma darah mempunyai penyerapan yang kuat pada UV, hal ini ada kaitannya dengan banyak penemuan protein dalam plasma darah (Narayaban, Galloway, Nonoyama, Lepar, Garciarubio, & Potter, 2002)

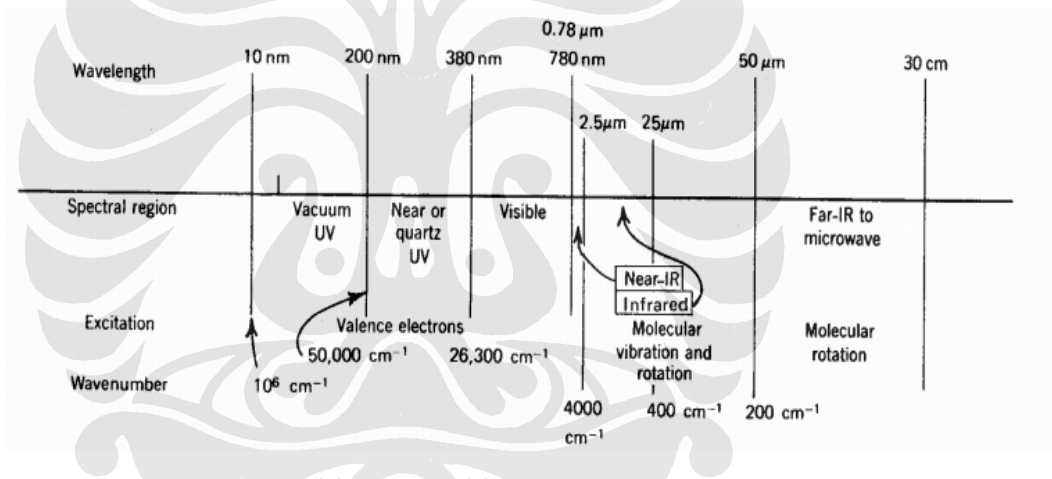
Absorbansi darah akibat perubahan fisik dan kimia yang terjadi pada darah merupakan konsekuensi aktifitas mikrobiologi yang digunakan sebagai indikator kuantitatif akan hadirnya mikroorganisme dalam darah. Perubahan karakteristik fisik dan kimia darah akibat adanya mikroorganisme dan mengeksplor

kemungkinan-kemungkinan dalam sistem spektrofotometer untuk mendeteksi patogen (Smith, Serebrennikova, Huffman, Leparo, & Garcia-Rubio, 2008)

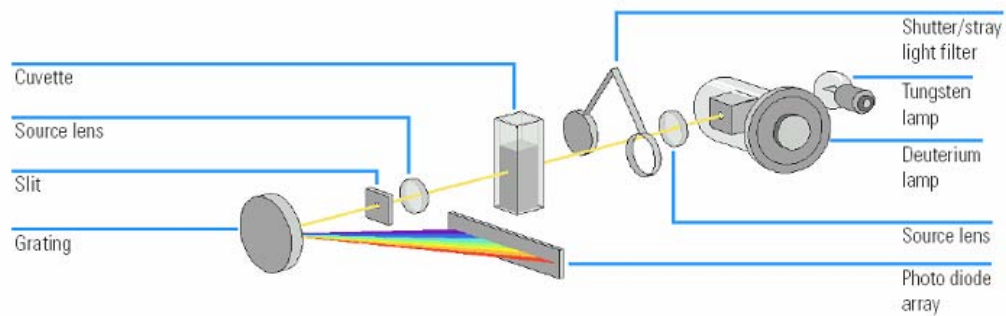
2.3 Spektroskopi

Spektrofotometer *UV-Visible* merupakan instrumentasi analisis yang kompleks. Alat ini banyak bermanfaat untuk penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet dengan panjang gelombang 200-400 nm atau daerah sinar tampak pada panjang gelombang 400-800 nm (Sastrohamidjojo, 1991). Analisis ini dapat digunakan yakni dengan penentuan absorbansi dari larutan sampel yang diukur.

Pada penelitian Nanoyama 2004, hanya terkonsentrasi pada pada panjang gelombang UV VIS. Panjang gelombang tersebut dianggap berpotensi secara signifikan mengkarakterisasi eritrosit.



Gambar 2.4 Diagram Radiasi Elektromagnetik Pada Wilayah UV VIS dan Dekat Infra Merah (Nonoyama, 2004)



Gambar 2.5 Cara Kerja Spektrofotometer (Nonoyama, 2004)

Penelitian Nanoyama menggunakan spektrofotometer dengan hanya satu cuffet, sedangkan spektrofotometer yang akan digunakan dalam penelitian ini menggunakan 2 cuffet. Spektrofotometer tersebut memiliki cara kerja sebagai berikut :

Sinar datang dari kisi difraksi dan celah akan mengenai lempeng putar dan satu dari tiga hal berikut dapat terjadi.

1. Jika sinar mengenai bagian transparan, sinar akan mengarah langsung dan melewati sel yang mengandung sampel. Kemudian dipantulkan oleh cermin ke lempeng putar kedua. Lempeng ini berputar ketika sinar datang dari lempeng yang pertama, sinar akan mengenai bagian cermin lempeng kedua, lalu memantulkannya ke detektor.
2. Jika berkas asli sinar dari celah mengenai bagian cermin lempeng putar pertama, berkas akan dipantulkan sepanjang jalur hijau. Setelah cermin, sinar melewati cuffet sebagai sampel. Akhirnya sinar mencapai lempeng kedua yang berputar, sehingga sinar mengenai bagian transparan. Selanjutnya akan melewati detektor.
3. Jika sinar mengenai bagian hitam lempeng pertama, sinar akan dihalangi dan untuk sesaat tidak ada sinar yang melewati spektrometer. Komputer akan memproses arus yang dihasilkan oleh detektor karena tidak ada sinar yang masuk.

Kemudian spektrofotometer yang digunakan memiliki dua cuffet yaitu cuffet sampel dan cuffet referensi. Keduanya adalah berupa wadah gelas atau kuarsa kecil, sering juga dibuat sedemikian rupa sehingga jarak yang dilalui berkas sinar

adalah 1 cm. Cuffet sampel berisi larutan materi yang akan diuji biasanya sangat encer. Pelarut dipilih yang tidak menyerap sinar secara signifikan pada daerah panjang gelombang yang digunakan (200 – 800 nm). Cuffet referensi hanya berisi pelarut murni.

Spektrofotometer juga dihubungkan dengan detektor dan komputer. Detektor mengubah sinar yang masuk menjadi arus listrik. Arus lebih tinggi jika intensitas sinarnya lebih tinggi. Untuk tiap panjang gelombang sinar yang melewati spektrometer, intensitas sinar yang melewati sel referensi dihitung. Biasanya disimbolkan sebagai I_0 – dengan I adalah intensitas. Intensitas sinar yang melewati Cuffet sampel juga dihitung untuk panjang gelombang tersebut disimbolkan, I . Jika I lebih kecil dari I_0 , berarti sampel menyerap sejumlah sinar. Suatu matematika sederhana yang dikerjakan oleh komputer untuk mengubahnya menjadi apa yang dinamakan absorbansi sampel disimbolkan, A .

$$A = -\log T = -\log I_t / I_0 = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Dimana : A = Absorbansi dari sampel darah yang akan diukur

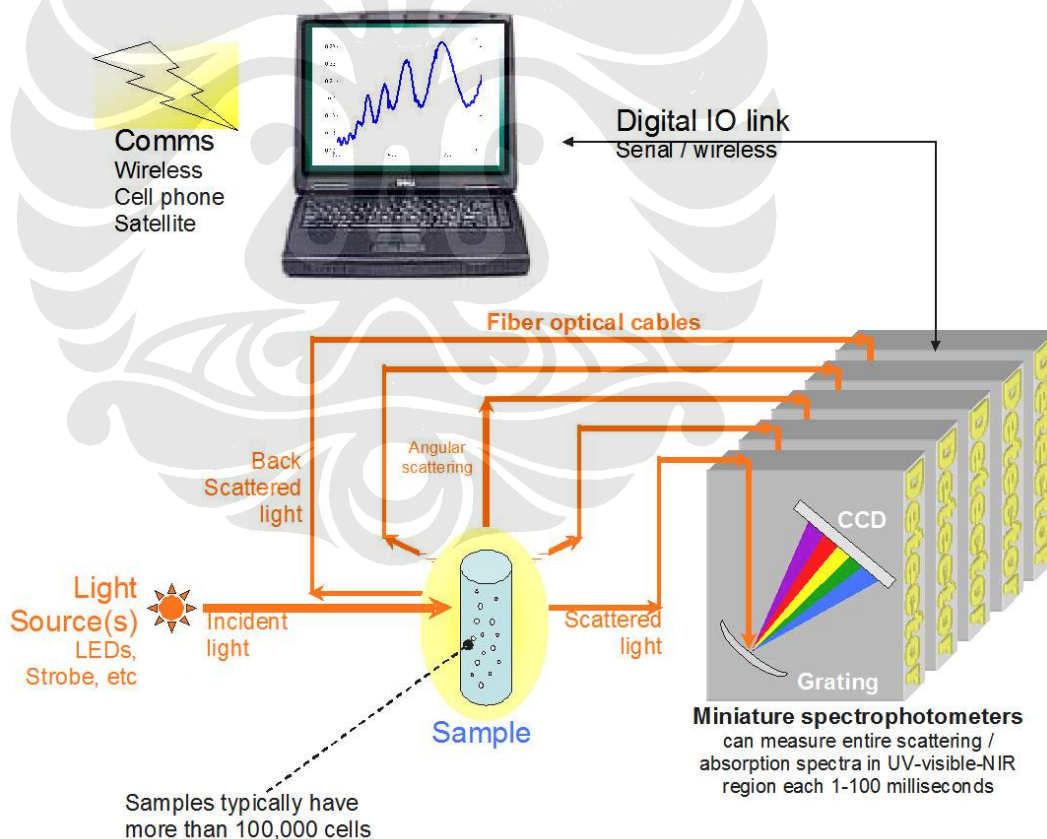
T	= Transmitansi
I_0	= Intensitas sinar masuk
I_t	= Intensitas sinar yang diteruskan
ϵ	= Koefisien ekstingsi
b	= Tebal cuffet yang digunakan
C	= Konsentrasi dari sampel

Pada diagram anda akan mendapatkan absorbansi berkisar dari 0 sampai 1, tetapi dapat lebih tinggi dari itu. Absorbansi 0 pada suatu panjang gelombang artinya bahwa tidak ada sinar yang diserap pada panjang gelombang tersebut. Intensitas berkas sampel dan referensi sama, sehingga perbandingan I_0/I adalah 1. \log_{10} dari 1 adalah nol. Absorbansi 1 terjadi jika 90% sinar pada panjang gelombang yang ada diserap berarti 10% sinar tidak diserap. Pada kasus ini, I_0/I adalah $100/10$ (=10) dan \log_{10} dari 10 adalah 1. Hasil yang didapatkan direkam oleh perekam grafik berupa plot antara absorbansi dengan panjang gelombang.

2.3.1 Absorbansi Darah dengan Spektrofotometer

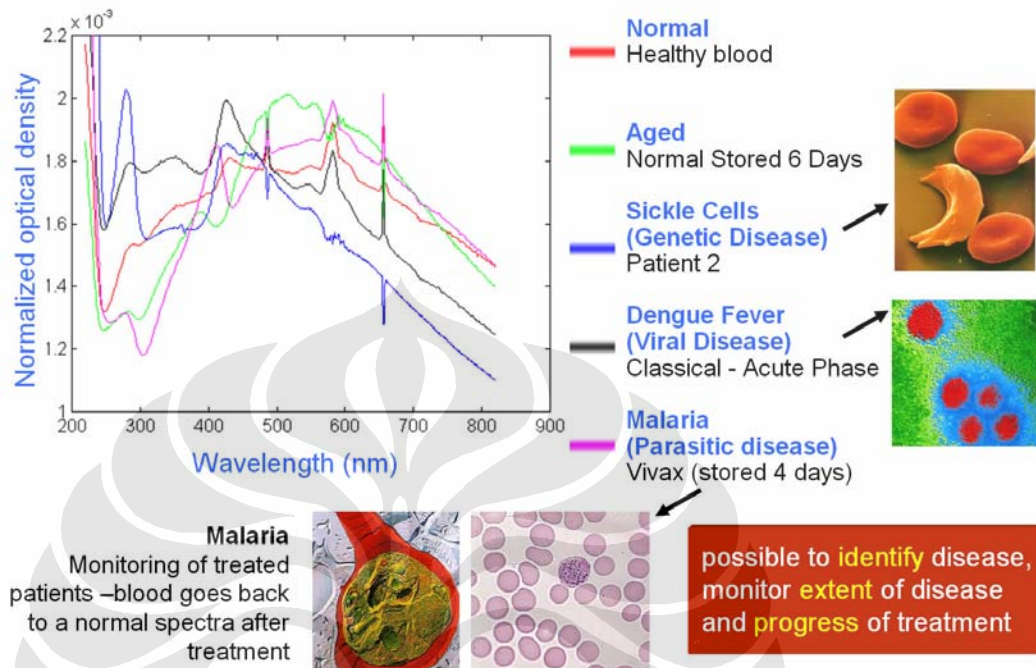
Darah merupakan suatu cairan biologis terpenting yang berhubungan dengan gambaran klinis. Sel darah merah menyusun kira-kira 99% sifat optik dari semua komponen darah, sehingga merupakan kontributor utama dalam spektrum optikal. Lebih lanjut dalam kenyataan hemoglobin merupakan pembawa warna yang kuat. Sel-sel seperti darah putih dan trombosit secara spektrum tidak terlihat, namun karena kepekaan dari spektroskopi UV-Visible, perubahan-perubahan dari sel darah putih dan trombosit juga dapat terdeteksi. Plasma yang memiliki jumlah 55% dari volume darah utuh, akan memberikan kontribusi penyerapan terhadap rentang UV dikarenakan oleh muatan proteinnya (Nonoyama, 2004).

Sebuah teknologi mulai dikembangkan oleh perusahaan Carlo dalam pengkarakterisasian darah pada beberapa penyakit tertentu dengan menggunakan analisis Multi-Angle, Multi-Wavelength (MAMW).



Gambar 2.6 Skema Alat Biophotonik Menggunakan Analisis *Multi Angle, Multi Wavelength* (MAMW) (Claro Scientific, LLC, 2009)

Maka didapatkan hasil bahwa darah normal, membawa variasi anomali diantaranya adalah penyakit genetik (darah bulan sabit), penyakit viral (demam dengue), dan penyakit parasit (malaria).



Gambar 2.7 Hasil pengukuran dengan menggunakan analisis multi angle, multi wavelength (MAMW) (Claro Scientific, LLC, 2009)

Fenomena absorbansi darah dengan spektrofotometer dapat terjadi akibat suatu proses yaitu ketika sebuah foton diabsorpsi oleh sebuah atom pada darah, maka atom tersebut akan mengeksitasi sebuah elektron dan memindahkannya ke tingkat energi yang lebih tinggi. Bila energi itu cukup besar, sehingga elektron itu dapat berpindah ke tingkat energi yang paling tinggi, maka elektron tersebut dapat melepaskan diri dari gaya tarik positif inti atom itu dan bahkan mungkin dapat terbebaskan dari ikatan dengan atom dalam suatu proses yang disebut sebagai fotoionisasi. Sebaliknya, bila elektron tersebut turun ke tingkat energi yang lebih rendah, maka ia akan melepaskan suatu foton cahaya yang energinya sama dengan perbedaan tingkat energinya. Karena tingkat energi elektron elektron pada atom bersifat diskret, maka setiap elemen dapat mengemisikan atau mengabsorpsi foton sesuai dengan karakteristik frekuensinya masing masing. Fenomena yang ditunjukkan oleh efek ini menjelaskan tentang peristiwa absorpsi sebagian atau

beberapa bagian dari spektra cahaya oleh materi. Bila terdapat pita-pita gelap dalam spektrum maka hal itu disebabkan oleh atom-atom dari darah yang berinteraksi dengan foton menyerap frekuensi cahaya yang berbeda-beda. Komposisi dari medium yang absorpsi dilewati oleh cahaya akan menentukan sifat dari spektrum absorpsi.

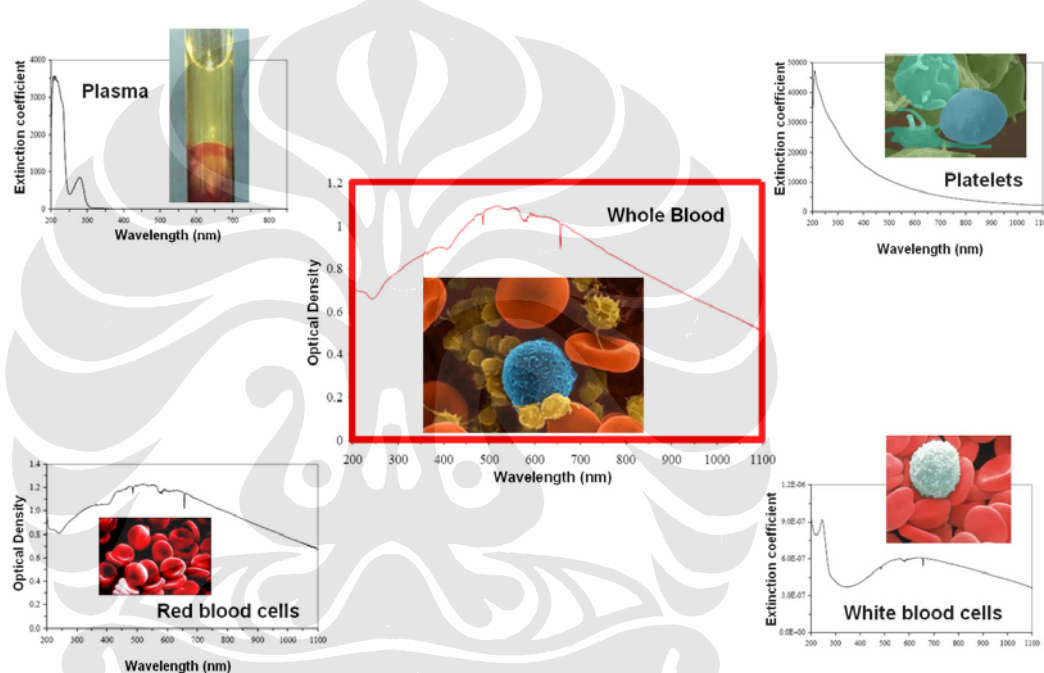
2.3.2 Penelitian sebelumnya yang menunjukkan Absorbansi darah dengan Spektrofotometer

Penelitian yang telah dilakukan Nanoyama pada tahun 2004, menunjukkan bahwa sel darah merah memiliki sifat optik yang spesifik, disebabkan beberapa faktor yaitu sel darah merah yang mengandung hemoglobin dengan *chromophore* kuat, adanya suspensi yang tidak menyerupai sel jaringan yang dapat dilemahkan dengan hamburan (*scattering*), dapat diisolasi relatif sesuai dengan kepadatannya, dan terlihat adanya struktur internal yang kompleks. Pada hemoglobin terdapat dua turunan hemoglobin yang sudah kita kenal oxyhemoglobin dan methemoglobin. Oxyhemoglobin terkarakterisasi pada rentang gelombang 270, 337, 417, 547, dan 575 nm. Methemoglobin memperlihatkan karakterisasi penyerapan yang kuat pada panjang gelombang sekitar 400 nm yang berdekatan dengan puncak oxyhemoglobin sebesar 417 nm. Methemoglobin tidak lagi memperlihatkan karakteristiknya pada panjang gelombang 547 atau 575 nm.

Beberapa penelitian lain menunjukkan hasil tentang komponen pada plasma darah manusia (Zahao, Tham, Lu, Lee, & Mochala, 2004). Analisa spektrofotometer plasma darah dengan FTIR dapat digunakan untuk menentukan molekul dalam plasma dan menentukan konsentrasi protein (Petibois, Cazorla, Cassaigne, & Deleris, 2001). Protein retinol binding dan transtherin juga telah dipelajari dengan UV dengan panjang gelombang 200 – 600 nm (Raghu, Ravinder, & Sivakumar, 2003), sedangkan pada trombosit menggunakan panjang gelombang UV-Vis (220 – 820 nm). Penelitian terakhir, Iuliana Motrescu melakukan analisa spektrofotometer plasma darah untuk menentukan perbedaan mamalia.

Penelitian yang dilakukan sebelumnya berkaitan dengan darah dan absorbansi, ternyata terdapat penelitian lain yang berkaitan dengan absorbansi

darah dengan apa yang terjadi dalam darah akibat terinfeksi suatu penyakit. Penelitian tersebut dilakukan oleh sebuah perusahaan yang berbasis riset Claro scientific pada awal 2009, menunjukkan bahwa spektrum pada darah utuh dan komponennya dapat diamati fenomena pola absorbansi darah beberapa penyakit, yang salah satunya adalah demam dengue. Pada pola absorbansi darah yang teramati, pada panjang gelombang tertentu menunjukkan puncak-puncak yang sangat tajam dan khas dibandingkan pada panjang gelombang lain. Puncak-puncak ini diindikasikan adanya penyerapan yang sangat kuat, seperti terlihat pada Gambar 2.8 berikut ini:



Gambar 2.8 Spektrum UV VIS darah utuh manusia dan komponennya (Claro Scientific, 2009)

2.4 Jaringan Saraf Tiruan

Jaringan Saraf Tiruan adalah prosesor tersebar paralel yang sangat besar yang memiliki kecenderungan untuk menyimpan pengetahuan yang bersifat pengalaman dan membuatnya siap untuk digunakan. Jaringan Saraf Tiruan menyerupai otak manusia dalam dua hal, yaitu : pengetahuan diperoleh jaringan melalui proses belajar dan kekuatan hubungan antar sel saraf (neuron) yang dikenal sebagai bobot-bobot sinaptik digunakan untuk menyimpan pengetahuan (Haykin, 1994). Proses pembelajaran dari Jaringan Saraf Tiruan dapat

membentuk suatu pola dari data yang diberikan sehingga data yang semula tidak kelihatan memiliki pola tertentu dapat didefinisikan menjadi suatu pola tertentu.

Self – Organizing Maps (SOM), yang juga disebut *topology-preserving map*, adalah salah satu algoritma JST yang diciptakan oleh Teuvo Kohonen. Pada dasarnya, SOM akan memetakan data dari ruang berdimensi banyak ke ruang dimensi yang lebih kecil sehingga memudahkan kita untuk melihat hubungan antar data. Sebagai algoritma yang dapat memetakan data, SOM banyak digunakan pada berbagai persoalan, seperti pengenalan wajah dan pemetaan warna dari 3 dimensi ke 2 dimensi. Lebih lanjut, pemetaan SOM ini dapat dianggap memetakan data ke kelas yang sesuai, yang oleh system penentuan jenis demam, kelas dapat berupa kelas DD, non DD dan N.

Salah satu aspek penting dari algoritma SOM adalah merupakan algoritma yang melakukan pelatihan berdasarkan ciri dari data masukan secara *unsupervised*. Dalam proses pelatihan SOM tidak memerlukan informasi kelas atau target data yang bersangkutan, Dengan demikian SOM akan memetakan data secara alami tanpa pengaruh dari informasi kelas data tersebut.

2.5 Kerangka Berfikir

Akhisa Nonoyama melakukan penelitian mengenai karakterisasi darah dengan menggunakan Multiwavelength UV-Visible spektrofotometer. Setiap panjang gelombang dari Multiwavelength UV-Visible spektrofotometer mempunyai karakter masing-masing sehingga didapatkan pola-pola tertentu yang dihasilkan. Setiap individu mempunyai akan mempunyai karakteristik yang berbeda-beda karena berbagai faktor yang menyebabkan, sehingga perlu algoritma pembelajaran Jaringan Saraf Tiruan untuk mengenal pola-pola tersebut, dalam hal ini pola demam dengue.

Dalam Jaringan Saraf Tiruan ada beberapa metode atau algoritma yang dapat digunakan untuk pengenalan suatu pola. Salah satu algoritma yang sering digunakan adalah algoritma Jaringan Saraf Tiruan metode *Self Organizing Maps* (SOM) dan *Principal Components Analysis* (PCA).