

BAB 3.
DESAIN EXPERIMENTAL PENGAMBILAN SAMPEL DARAH DAN
PENGUKURAN ABSORBANSI DARAH DENGAN
SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Penelitian ini merupakan penelitian tahap awal perancangan alat untuk deteksi Demam Dengue, dengan mengukur spektrum absorbansi cahaya darah penderita demam yang tersangka demam dengue dan orang sehat. Sampel darah yang diambil dilakukan pengukuran dengue duo dan pengukuran absorbansi cahaya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi observasional klinis dan laboratoris dengan rancangan *cross-sectional*, yang bertujuan untuk memperoleh karakteristik optik darah pada penderita DD, non DD, dan sebagai pembanding juga dilakukan pengukuran terhadap darah orang sehat.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Puskesmas Jakarta Timur, untuk menjangkau pasien DD. Untuk memastikan diagnosa DD dilakukan pemeriksaan dengue duo yang dilakukan di Ruko Jl. Cipinang Muara II no. 36 B Jakarta Timur. Pengukuran absorbansi optik darah dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan di laboratorium UPT-BPP Biomaterial LIPI, Cibinong Science Center, Bogor. Penelitian dilaksanakan pada tanggal 11 Mei – 5 Juni 2009.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi target penelitian ini adalah pasien tersangka DD secara klinis. Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien yang tersangka DD secara klinis yang bersedia menjadi subyek penelitian dengan hasil pemeriksaan dengue duo positif dan negatif serta orang sehat yang bersedia menjadi subyek penelitian.

3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.4.1 Kriteria inklusi:

- Berusia > 14 tahun
- Demam akut ≤ 48 jam, disertai dengan dua atau lebih gejala berikut sakit kepala, nyeri retro-orbital, myalgia, artralgia, ruam kulit dan manifestasi perdarahan.
- Hasil pemeriksaan dengue duo (+)
- Pasien setuju untuk menandatangani lembar persetujuan pasien (informed consent)

3.4.2 Kriteria eksklusi:

- Wanita hamil atau menyusui.
- Insulfisiensi hati akut yang ditandai dengan peningkatan kadar SGOT/SGPT > 3 kali nilai normal.
- Penyakit kardiovaskuler.
- Penyakit hematologis.
- Penyakit infeksi kronik.
- Gangguan system imun.
- Penyakit ginjal kronik.
- Keganasan.

3.5 Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

Sampel penelitian ini adalah bagian dari populasi terjangkau yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Cara pemilihan sampel adalah secara pro-aktif, yaitu peneliti pro-aktif menjangkau sampel di Puskesmas Duren Sawit, Puskesmas Pondok Kelapa, dan Puskesmas Pulo Gadung.

3.6 Besar Sampel

Penelitian ini masih merupakan penelitian pra-eksperimen dan terbatas oleh waktu serta mengingat DD adalah penyakit yang berhubungan dengan musim, yang mana bulan Mei – Juni pasien DD sudah mulai menurun, maka sampel yang diambil adalah 15 pasien positif DD, 15 pasien non DD dan 7 orang sehat.





3.7 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan dan Bahan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1 dan Tabel 3.2.

Tabel 3.1 Peralatan yang digunakan

Spektrofotometer Hitachi U-2001	
Centrifuge	
Alat Uji darah tepi lengkap untuk darah sehat	

Tabel 3.2 Bahan yang digunakan

Sampel darah	
Wing needle	
Tabung EDTA	
Dengue duo	

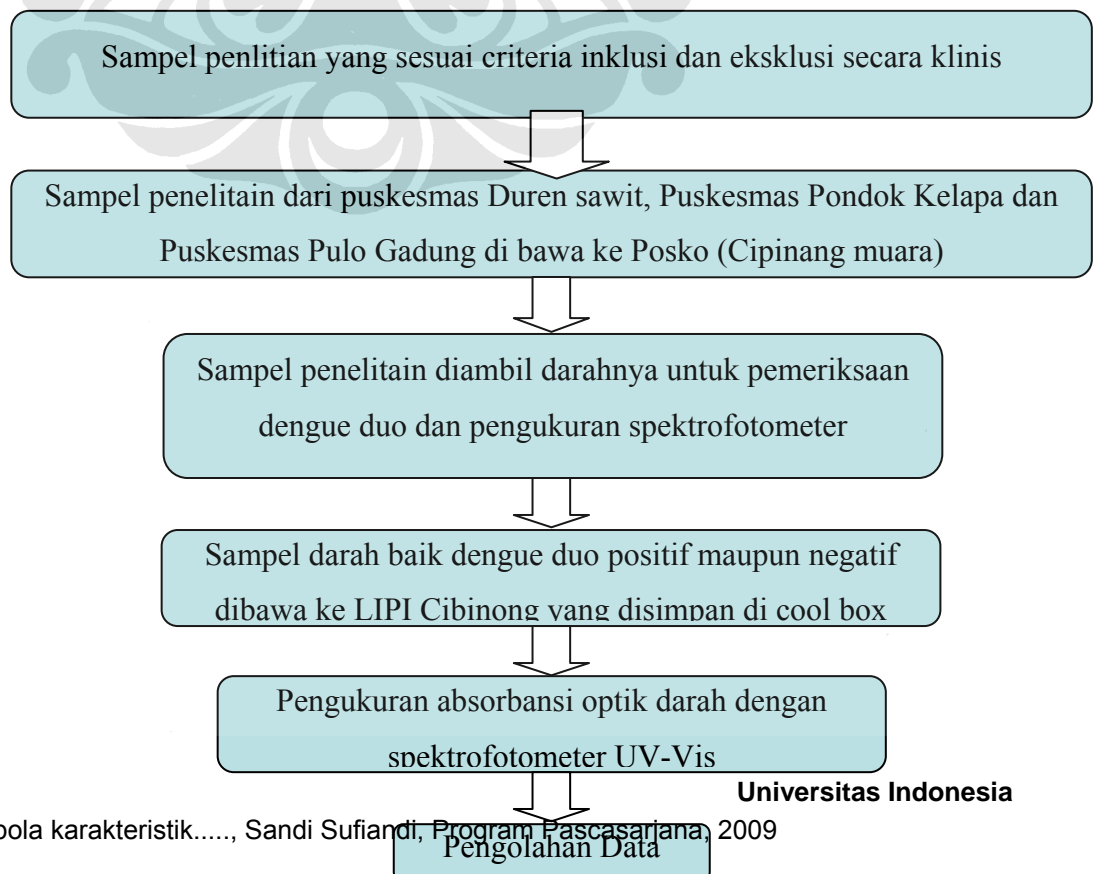
3.8 Prosedur Penelitian

1. Semua pasien dihitung selama masa penelitian yang secara klinis berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan dengue duo, didiagnosis DD dilakukan pencatatan identitas yang meliputi nama, umur, jenis kelamin, alamat dan tanggal pemeriksaan dengue duo.
2. Diagnosis klinis dan laboratorium dengue duo, baik hasilnya positif maupun negatif dimasukkan sebagai subyek penelitian dan dilakukan

inform consent pada subyek atau keluarga untuk mendapatkan persetujuan penelitian.

3. Subyek yang sudah menyetujui, dilakukan pengambilan sampel darah. Pengambilan sampel darah dilakukan satu kali bersamaan dengan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan dengue duo dengan menggunakan wing needle. Sampel darah yang diambil sebanyak 3 cc dimasukkan dalam tabung EDTA.
4. Sampel darah yang terkumpul dibawa ke laboratorium UPT BPP Biomaterial, Cibinong Science Center, Bogor, dengan menggunakan *cool box*.
5. Sampel darah dilakukan pengukuran absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis dengan panjang gelombang 190 – 1100 nm. Sampel darah dari tabung EDTA dimasukkan dalam cuffet, kemudian cuffet dimasukkan kedalam tempatnya, dengan referensi EDTA yang dicampur aquades.
6. Setelah kedua cuffet siap barulah dilakukan pengukuran absorbansi.
7. Hasil pengukuran pemeriksaan berupa data absorbansi dan panjang gelombangnya yang tercetak pada kertas yang telah disediakan.

3.9 Alur Penelitian



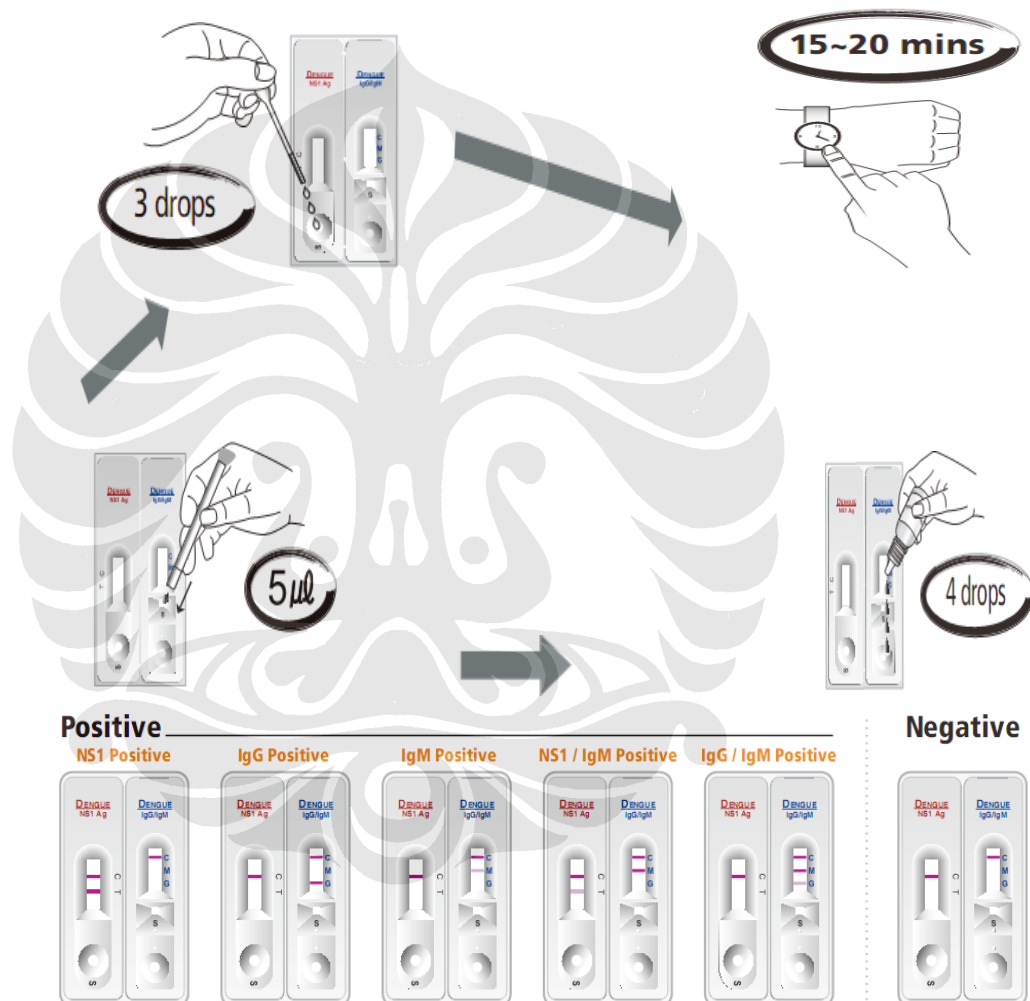
3.10 Rencana Pengolahan Data dan Analisis Data

Data karakteristik absorbansi optik pada penderita DD, non DD dan orang sehat disajikan dalam bentuk grafik dan dianalisis dengan menggunakan Jaringan Saraf Tiruan. Untuk menentukan karakteristik pola DD, non DD dan orang sehat dianalisis dengan Jaringan Saraf Tiruan dengan metode *Self Organization Map* (SOM) dan *Principal Components Analysis* (PCA).

3.11 Definisi Operasional

- Kriteria diagnosis DD sesuai dengan criteria inklusi
- Kriteria diagnosis non DD, adalah sampel penelitian yang sesuai kriteria inklusi dan eksklusi tetapi pemeriksaan dengue duo menunjukkan hasil negatif (-).
- Pemeriksaan dengue duo, menggunakan SD-dengue duo yaitu dengan menilai adanya Ag dan IgG/IgM dengan NS1 Ag dan NS1 IgG/IgM untuk mendeteksi antigen, antibody IgG dan IgM dalam serum darah manusia secara kualitatif. Pemeriksaan ini dapat digunakan untuk mendiagnosa DD, dan membedakan kemungkinan infeksi primer maupu sekunder.

- Cara dan interpretasi:



- Pengukuran spektrum absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-vis. Darah secara utuh dimasukkan ke dalam cuffet spektrofotometer kemudian dilakukan pengukurannya dengan panjang gelombang 190 – 1100 nm. Pengukuran ini dilakukan untuk memperoleh data absorbansi optik darah secara utuh. Misalnya panjang gelombang 400 nm, berapa absorbansinya darah tersebut.

- Analisa data menggunakan Jaringan Saraf Tiruan metode *Self Organization Map* (SOM) dan *Principal Components Analysis* (PCA).

