

## **BAB 2**

### **PREPARASI DARAH DAN PENGGUNAAN SPEKTROFOTOMETER SERTA JARINGAN SARAF TIRUAN PADA DEMAM DENGUE**

Dalam bab ini akan dibahas landasan teori yang yang digunakan untuk pelaksanaan penelitian tugas akhir ini dan pengembangan perangkat lunak untuk penentuan jenis demam pada penderita tersangka DD. Teori yang akan dibahas terdiri atas teori demam, demam dengue, absorbansi darah, spektroskopi, spektrofotometer dan jaringan saraf tiruan.

#### **2.1 Demam**

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

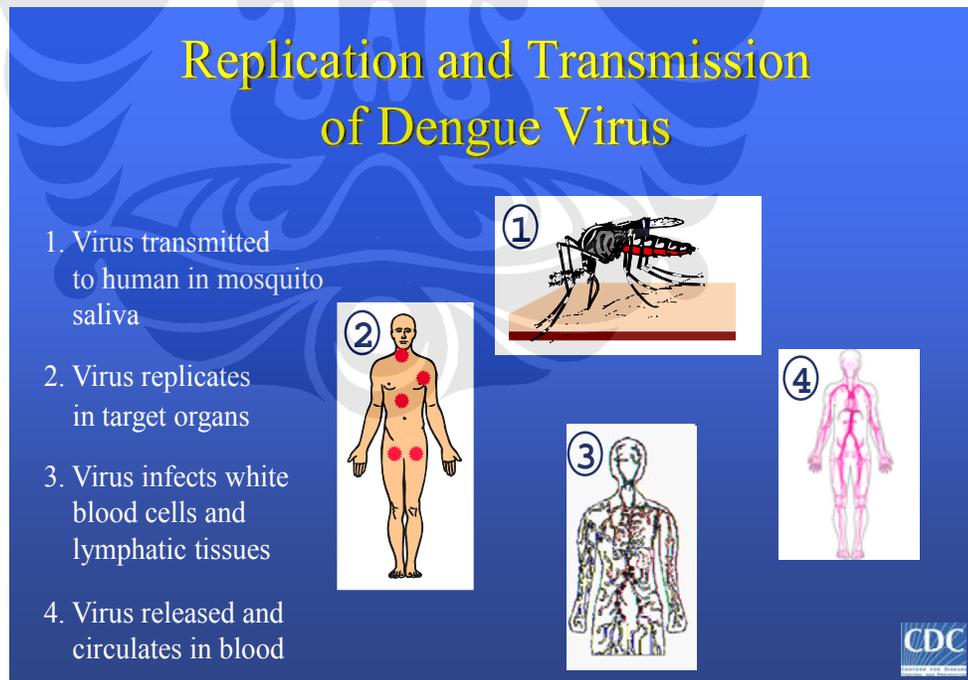
#### **2.2 Demam Dengue**

DD disebabkan oleh virus dengue yang merupakan anggota genus Flavivirus dari family Flaviviridae (Suharti, 2001; Monath & Heinz, 1996).

Terdapat 4 serotipe virus dengue yang disebut DEN-1, DEN-2, DEN-3, dan DEN-4. Vektor demam dengue yang utama adalah nyamuk *Aedes aegypti* (Wuryanto, 1999; Soemarmo, 1988).

Gambaran klinis penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus dengue tidak terlalu khas, sehingga dapat menyerupai penyakit flu, demam tifoid, demam chikungunya, leptospirosis, malaria dan berbagai penyakit lain. Manifestasi klinis akibat infeksi virus dengue ini dapat menyebabkan keadaan yang beranekaragam, mulai dari tanpa gejala (asintomatik), demam ringan yang tidak spesifik (*undifferentiated febrile illness*), DD atau bentuk yang lebih berat yaitu DBD dan sindrom syok dengue (SSD). (WHO, 2007)

Virus dengue yang menginfeksi manusia dengan perantara nyamuk, didalam tubuh manusia mengalami replikasi dan transmisi seperti terlihat pada gambar 2.1. Pertama, virus ditularkan ke manusia melalui saliva nyamuk. Kedua, virus bereplikasi dalam organ target. Ketiga, virus menginfeksi sel darah putih dan jaringan limfatik. Keempat, virus dilepaskan dan bersirkulasi dalam darah.



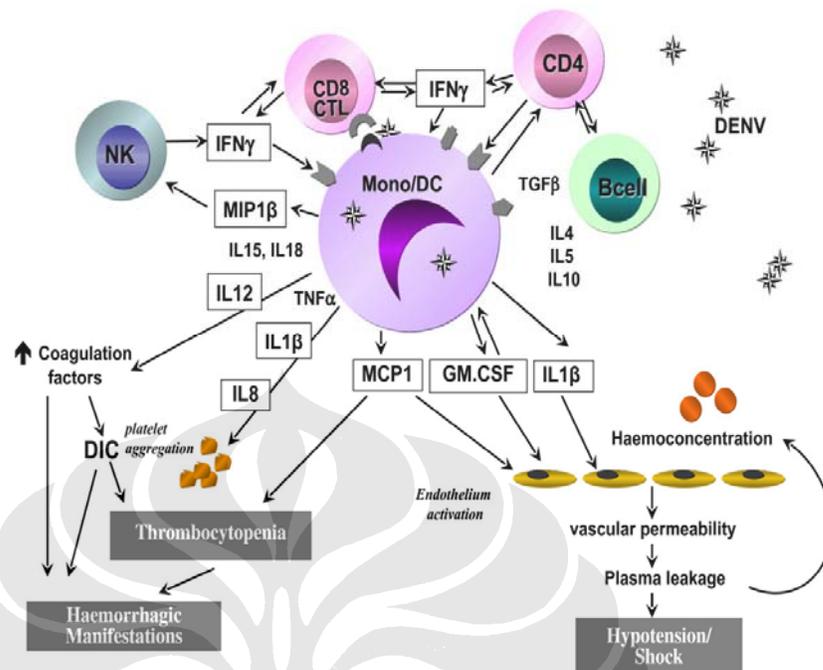
Gambar 2.1 Replikasi dan Transmisi Virus Dengue

(Dikutip dari WHO, 2007)

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 tubuh 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 tourniquet (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 trombotopenia juga akan mengaktifkan sistem koagulasi secara kaskade. Pengaktifan sistem koagulasi ini menyebabkan adanya peningkatan permeabilitas membrane 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 trombotopenia. Secara klinis dapat dijumpai gejala perdarahan berat sebagai akibat trombotopenia 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.

Selain terjadi proses patofisiologi yang dijelaskan sebelumnya, terjadi pula proses patogenesis. Proses patogenesis DD berdasarkan teori mediator seperti pada Gambar 2.2, di mana makrofag yang terinfeksi virus dengue akan melepas beberapa mediator seperti interferon, IL-1, IL-6, IL-12, TNF dan lain-lain. Diperkirakan mediator tersebut bertanggung jawab atas terjadinya syok septic, demam dan peningkatan permeabilitas kapiler.



Gambar 2.2 Mekanisme Hipotesa Model *Cytokine* Selama Demam Dengue

(Dikutip dari Takehiro,2007)

Dalam mekanisme hipotesa model *cytokine* selama DD, dijelaskan bahwa MIP-1 $\beta$  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- $\gamma$  memiliki efek merusak hospes dalam aktivasi sel T untuk aktivasi virus antigen *cross-reaction* dan aktivasi sel *monocyte / denritic*. IFN -  $\gamma$  dan GM-CSF dapat mengaktivasi *monocytes mononuclear* yang pada akhirnya menghasilkan beberapa faktor seperti IL-1 $\beta$  dan MCP-1 yang dapat mempengaruhi permeabilitas vascular dan kebocoran plasma serta perdarahan. Seperti yang diusulkan oleh penulis lain, ada kemungkinan bahwa virus direplikasi di dalam sel presentasi antigen, pergerakan dan sirkulasi *cytokine*, serta 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, 2007).

Patofisiologi dan patogenesis yang terjadi pada demam dengue, menyebabkan hematokrit meningkat pada hari ketiga (>20%) dan terus meningkat sesuai dengan perjalanan penyakit. Kasus yang berat 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/ $\mu$ 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. Perubahan laboratorium pada penderita DD dapat terlihat pada Tabel 2.1.

Trombositopenia pada penderita DD diduga akibat terjadinya peningkatan destruksi trombosit oleh system retikuloendoteleal, agregasi trombosit akibat endotel vaskuler yang serta penurunan produksi trombosit oleh sumsum tulang. Destruksi trombosit diperani oleh oleh aktivasi komplemen, seperti ikatan antara trombosit dan fragmen C3g, dan ikatan antara trombosit dan antigen virus dengue. Ditemukannya kompleks imun dipermukaan trombosit diduga sebagai penyebab terjadinya agregasi trombosit yang kemudian akan dimusnahkan oleh system retikuloendotelial, terutama dalam limpa dan hati.

Tabel 2.1. Perubahan Laboratorium Pada Penderita Demam Berdarah Dengue  
(Dikutip dari Nelwan,2001)

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

Pemeriksaan diagnostik pasti, didapatkan dari hasil isolasi virus dengue (kultur sel) 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 DD pada hari pertama demam yaitu antigen nonstruktural-1 yang sering disebut dengan NS1 Ag. Keuntungan mendeteksi antigen NS1 yaitu untuk mengetahui adanya infeksi dengue pada penderita tersebut pada fase awal demam, tanpa harus menunggu terbentuknya antibodi. NS1 pada berbagai penelitian menunjukkan bahwa NS1 lebih unggul sensitivitasnya dibandingkan kultur virus dan pemeriksaan PCR maupun antibodi IgM dan IgG antidengue. Spesifitas antigen NS1 100% sama tingginya seperti pada *gold standard* kultur virus maupun PCR.

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 terhadap DD 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 2.2 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 Infeksi Dengue

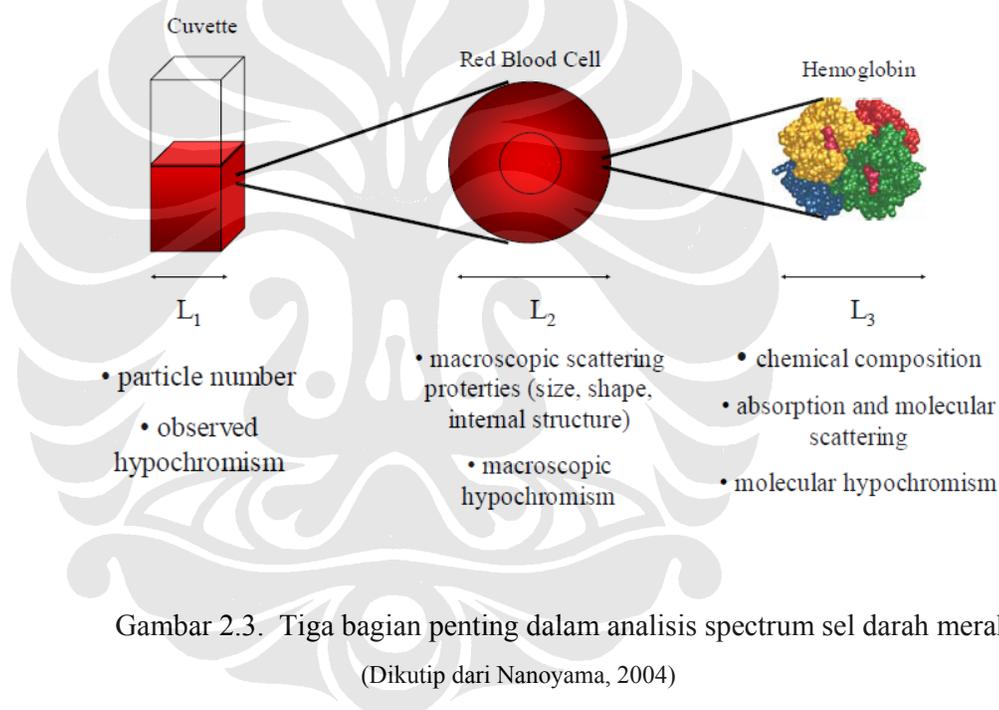
| Jenis Pemeriksaan DD                   | Deskripsi Pemeriksaan DD  | Lama Pemeriksaan DD dan Hari Demam ke- dilakukan pemeriksaan | Harga Pemeriksaan DD di Pelayanan Kesehatan |
|--|---|--|---|
| Kultur dan isolasi virus dengan RT-PCR | Pemeriksaan diagnostik pasti, didapatkan dari hasil isolasi virus dengue (kultur sel) ataupun deteksi antigen virus spesifik RNA dengue dengan teknik RT-PCR  | 48 Jam<br>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<br>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<br>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<br>Hari ke-1 demam                               | > Rp. 300.000/sekali pemeriksaan            |

### 2.3 Absorbansi Darah

Penegakkan diagnosa DD 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 (Lauralee 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 (Iuliana Motrescu dkk, 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, seperti terlihat pada Gambar 2.3.



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 (Narayahan, S., L. Galloway, A. Nonoyama, G.F. Leparc, L-H. Garcia Rubio, R.L. Potter, 2002).

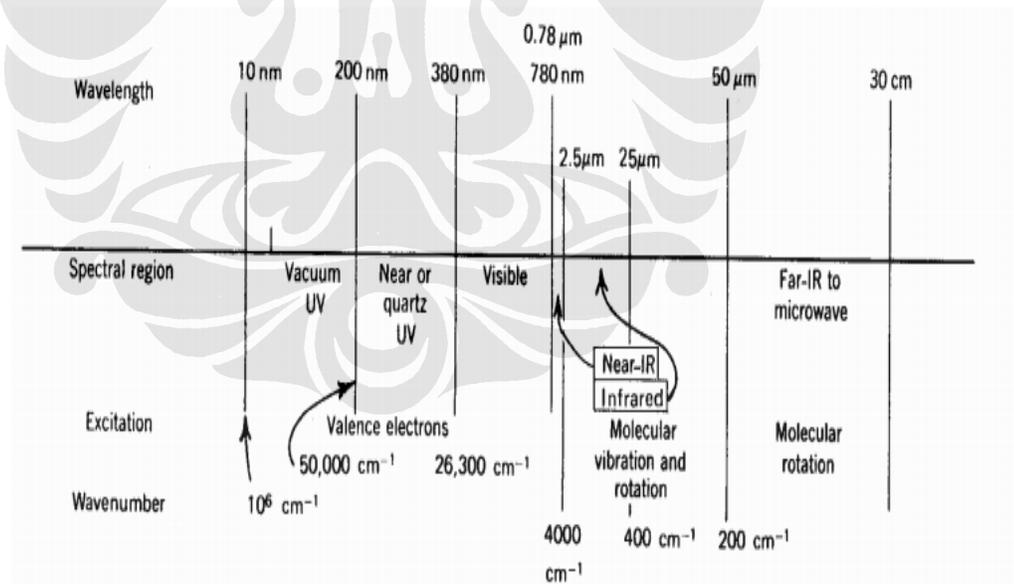
Absorbansi darah akibat perubahan fisik dan kimia yang terjadi pada darah merupakan konsekuensi aktifitas mikrobiologi yang digunakan sebagai indikator

kuantitatif akan hadirnya mikroorganisme dalam darah. Perubahan karakteristik fisik dan kimia darah akibat adanya mikroorganisme dan mengungkapkan kemungkinan-kemungkinan dalam sistem spektrofotometer untuk mendeteksi patogen (Smith, 2008)

## 2.4 SPEKTROSKOPI

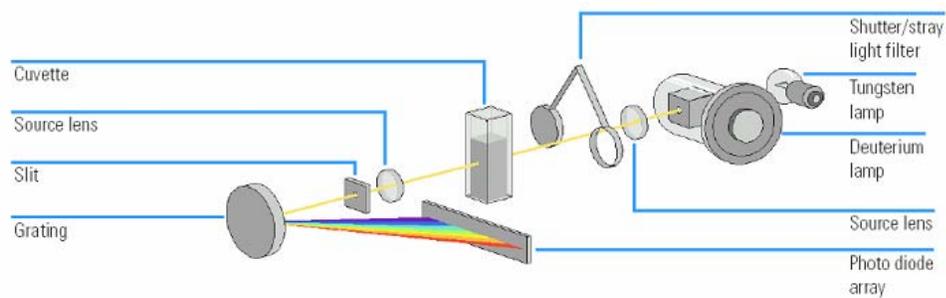
Spektrofotometer *UV-Visible* merupakan instrumentasi analisis yang kompleks. Alat ini banyak bermanfaat untuk penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet dengan panjang gelombang 200-400 nm atau daerah sinar tampak pada panjang gelombang 400-800 nm (Sastrohamidjojo, H, 1991). Spektrofotometer ini dapat digunakan untuk 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 *significant* mengkarakterisasi eritrosit.



Gambar 2.4. Diagram Radiasi Elektromagnetik Pada Wilayah UV VIS dan Dekat Infra Merah

(Dikutip dari Nanoyama,2004)



Gambar 2.5 Cara Kerja Spektrofotometer

(Dikutip dari Nanoyama,2004)

Penelitian Nanoyama menggunakan spektrofotometer dengan hanya satu kufet seperti pada Gambar 2.5, sedangkan spektrofotometer yang akan digunakan dalam penelitian ini menggunakan 2 kufet. Cara kerja Spektrofotometer 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. Yang kemudian 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 kufet 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 kufet yaitu kufet sampel dan kufet referensi. Keduanya adalah berupa wadah gelas atau kuarsa

kecil, sering juga dibuat sedemikian rupa sehingga jarak yang dilalui berkas sinar adalah 1 cm. Kufet 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). Kufet 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 kufet sampel, 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

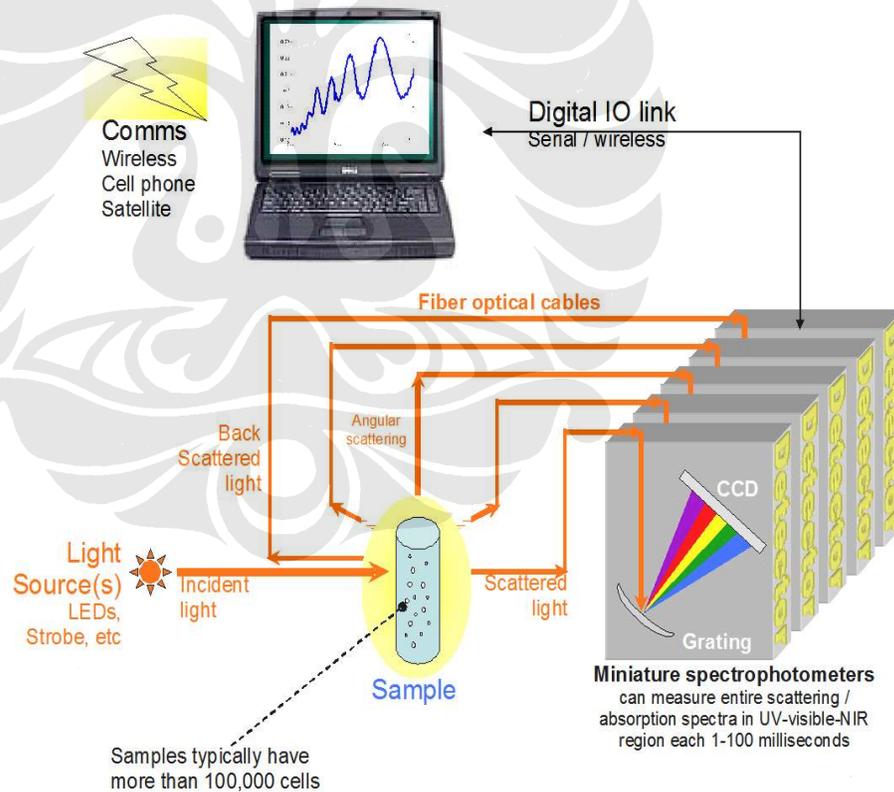
- $T$  = Transmittansi
- $I_0$  = Intensitas sinar masuk
- $I_t$  = Intensitas sinar yang diteruskan
- $\epsilon$  = Koefisien ekstingsi
- $b$  = Tebal kuvet yang digunakan
- $C$  = Konsentrasi dari sampel

Pada diagram akan didapatkan 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 10/10 (=10) dan  $\log_{10}$  dari 10 adalah 1. Hasil yang didapatkan direkam oleh perekam grafik berupa plot antara absorbansi dengan panjang gelombang.

### 2.4.1 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 A, 2004).

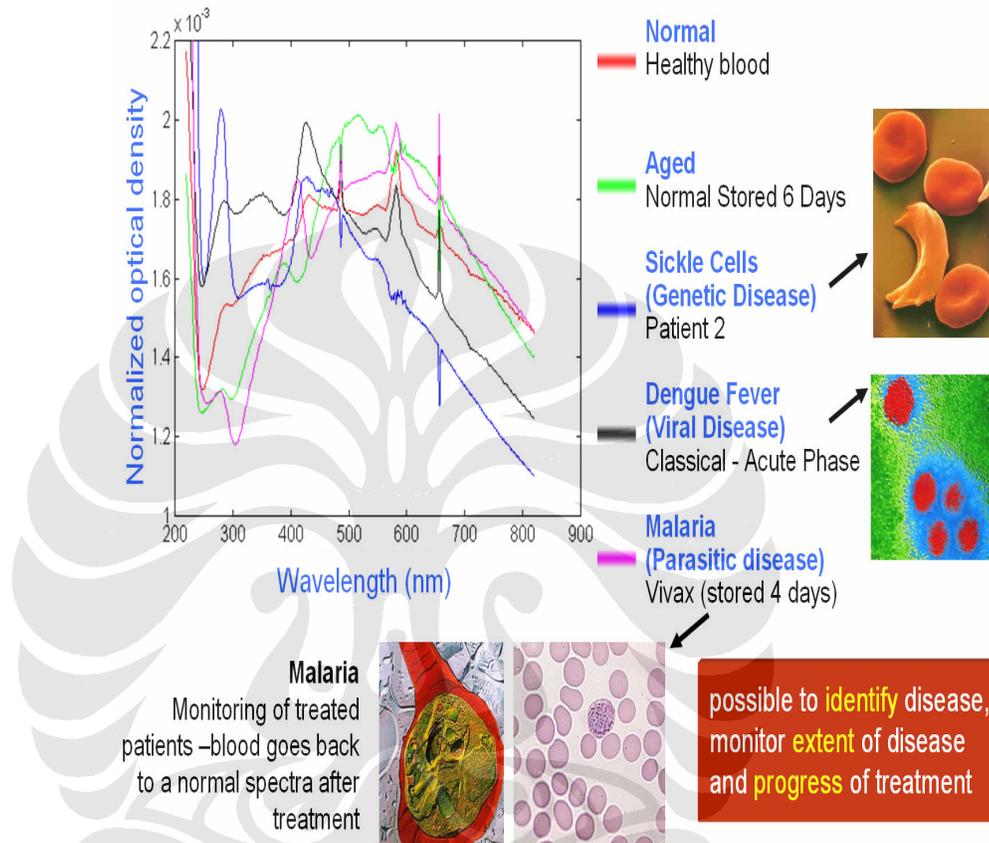
Sebuah teknologi mulai dikembangkan oleh perusahaan Carlo dalam pengkarakterisasian darah pada beberapa penyakit tertentu dengan menggunakan analisis *Multi-Angle, Multi-Wavelength* (MAMW).



Gambar 2.6 Skema Alat Biophotonik Menggunakan Analisis MAMW

(Dikutip dari Claro Scientific, 2009)

Haisl yang didapatkan menyatakan bahwa darah, membawa variasi anomali diantaranya adalah penyakit genetik (darah bulan sabit), penyakit viral (demam dengue), dan penyakit parasit (malaria) seperti pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Hasil Pengukuran Dengan Menggunakan Analisis MAMW

(Dikutip dari Claro Scientific, 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 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.

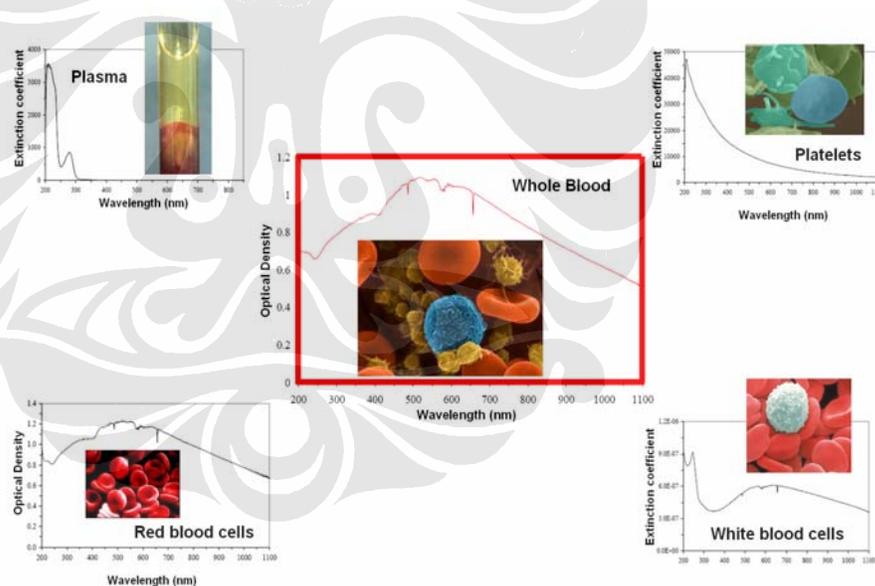
#### **2.4.2 Penelitian Sebelumnya Yang Menunjukkan Absorbansi Darah Dengan Spektrofotometer**

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, 2004). Analisa spektrofotometer plasma darah dengan FTIR dapat digunakan untuk menentukan molekul dalam plasma dan menentukan konsentrasi protein (Petibois, 2001). Protein retinol binding dan transtherin juga telah dipelajari dengan UV dengan panjang gelombang 200 – 600

nm (Raghu,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 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 di bawah ini.



Gambar 2.8. Spektrum UV-VIS Darah Utuh Manusia Dan Komponennya

(Dikutip dari Claro Scientific, 2009)

## 2.5 Jaringan Saraf Tiruan

Jaringan Saraf Tiruan (JST) adalah sistem arsitektur informasi yang mengambil analogi seperti pada halnya neuron biologis yang terdapat pada jaringan otak makhluk hidup. Hal ini muncul karena usaha pengembangan dalam

bidang sistem informasi untuk meningkatkan kemampuan komputer dalam bentuk analisa pembelajaran pola maupun proses penyelesaian masalah seperti yang dapat dilakukan oleh otak manusia.

Menurut Kulkarni (2001), Jaringan saraf tiruan adalah suatu sistem pemrosesan informasi yang memetakan vektor data input ke dalam vektor data output. Menurut Forsyth (2003) Jaringan saraf tiruan menghubungkan fungsi vektor  $F$  dengan beberapa input  $x$  dengan menggunakan serangkaian layer. Azcarraga (1999) menyatakan bahwa Jaringan saraf tiruan adalah sekumpulan data set yang besar dari interkoneksi unit sederhana yang dieksekusi secara paralel untuk melakukan tugasnya.

Jaringan saraf tiruan merupakan sistem terdiri dari neuron-neuron yang saling berhubungan yang menyerupai jaringan saraf biologis. Karakteristik dari jaringan saraf dapat dibedakan berdasarkan:

1. Arsitektur keterhubungan antara neuron dalam jaringan;
2. Metodologi pembelajaran dengan mengubah-ubah nilai pembobotan antara neuron;
3. Fungsi aktivasi yang membatasi nilai keluaran neuron.

Arsitektur jaringan adalah susunan atau struktur neuron dalam membentuk sebuah lapisan dan bagaimana pola keterhubungan. Selain arsitektur jaringan maka proses pembelajaran dalam jaringan saraf merupakan hal yang sangat penting. Ada dua golongan pembelajaran yaitu pembelajaran dengan pengarah (*supervised learning*) dan pembelajaran tanpa pengarah (*unseprvised learning*). Kedua metode pembelajaran itu digunakan untuk menentukan jenis demam berbasis karakteristik absorbansi darah. Data absorbansi darah DD, non DD dan normal dianggap suatu vektor panjang berdimensi  $n$  panjang gelombang. Data-data itu apabila langsung dimasukkan dalam algoritma JST (misalkan LVQ dan SOM) maka komputasi pengenalan akan menghabiskan waktu lama dan belum tentu vektor-vektor tersebut mempunyai ciri-ciri yang saling ortogonal (ciri-ciri pola absorbansi antar kelas terpisah dengan jelas) karena ada kemiripan pola absorbansi. Sehingga diperlukan tehnik untuk mereduksi pola ini dengan menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA).

### 2.5.1 PCA

Prosedur PCA pada dasarnya bertujuan untuk menyederhanakan variabel yang diamati dengan cara menyusutkan (mereduksi) dimensi yang ada. Hal ini dilakukan dengan cara menghilangkan korelasi diantara variabel bebas melalui transformasi variabel bebas asal ke variabel baru yang tidak berkorelasi sama sekali atau yang biasa disebut dengan *principal component*. Keuntungan menggunakan PCA adalah sebagai berikut :

1. Dapat menghilangkan korelasi secara bersih (korelasi = 0) sehingga masalah
2. multikolinearitas dapat benar-benar teratasi secara bersih;
3. Dapat digunakan untuk segala kondisi data / penelitian;
4. Dapat dipergunakan tanpa mengurangi jumlah variabel asal;
5. Walaupun metode Regresi dengan PCA ini memiliki tingkat kesulitan yang tinggi akan tetapi kesimpulan yang diberikan lebih akurat dibandingkan dengan penggunaan metode lain. (Soemartini, 2008).

Dalam hal ini PCA digunakan untuk mereduksi data absorbansi darah DD, non DD dan orang sehat, dimana terdapat beberapa kemiripan pada absorbansi darah mengingat obyek yang digunakan adalah darah, mempunyai kandungan dan warna yang sama. Setelah dilakukan Algoritma PCA, maka data yang diperoleh dari algoritma PCA dimasukkan dalam algoritma LVQ dan SOM.

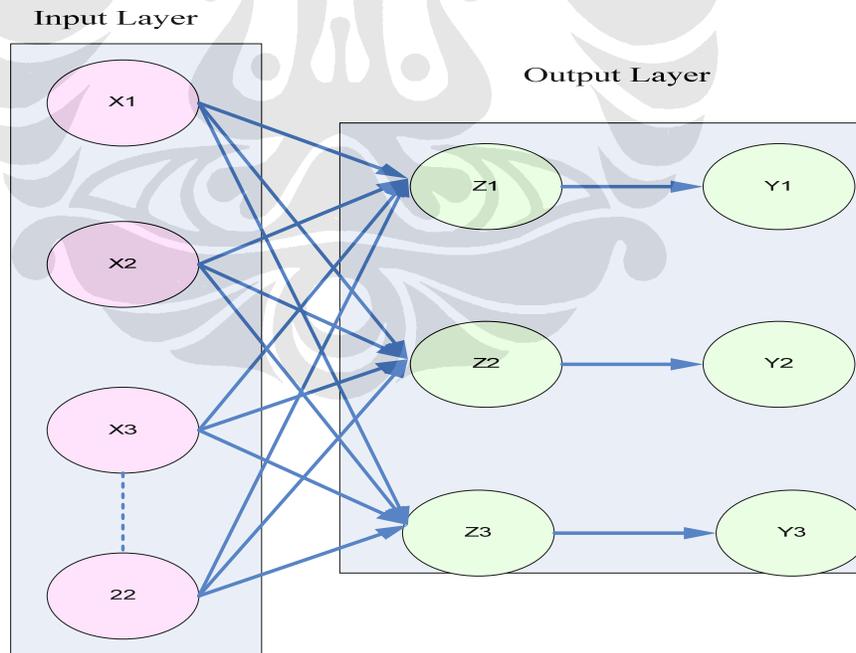
### 2.5.2 LVQ

LVQ adalah suatu metode untuk melakukan pembelajaran pada lapisan kompetitif yang terawasi. Suatu lapisan kompetitif akan secara otomatis belajar untuk mengklasifikasikan vektor-vektor input. Kelas-kelas yang didapatkan sebagai hasil dari lapisan kompetitif ini hanya tergantung pada jarak antara vektor-vektor input. Jika dua vektor input mendekati sama, maka lapisan kompetitif akan meletakkan kedua vektor input tersebut ke dalam kelas yang sama (Kusumadewi, 2004). Dengan demikian dengan algoritma LVQ diharapkan dapat meletakkan vektor data absorbansi yang diperoleh dengan spektrofotometer UV-Vis ke dalam kelas-kelas yang ada yakni kelas DD, non DD dan normal.

Dalam perancangan sistem JST metode LVQ, harus ditetapkan input, output dan arsitektur jaringannya. Input pada algoritma LVQ adalah hasil algoritma PCA dari data absorbansi yang diperoleh dari 3 kelas ( $3 \times 15$ ) dengan 92 dimensi, yang berarti  $45 \times 92$  dimensi. Output berupa kelas DD, non DD dan N (normal). Sedangkan arsitektur jaringan metode LVQ seperti pada Gambar 2.8 yang terdiri dari lapisan masukan (*input layer*) dan lapisan keluaran (*output layer*.)

#### 2.5.2.1 Arsitektur Jaringan LVQ

Jaringan LVQ mempunyai 2 lapisan, yaitu lapisan masukan dan lapisan keluaran. Lapisan masukan terdiri dari ruang berdimensi banyak dan pada lapisan keluaran biasanya terdiri dari ruang 1-3 dimensi. Data pelatihan dimasukkan dalam LVQ akan ditempatkan pada unit-unit masukan. Data-data kelas yang diinginkan dapat ditempatkan pada unit-unit lapisan keluaran. Arsitektur jaringan LVQ seperti pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Arsitektur Jaringan LVQ

### 2.5.2.2 Algoritma LVQ

Dalam algoritma LVQ ini ada dua proses yakni proses pelatihan dan proses pengujian. Dalam proses pelatihan LVQ memerlukan informasi kelas atau target data yang bersangkutan.

Proses pelatihan dijalankan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

Langkah 1 Melakukan proses inialisasi untuk setiap bobot (salah satu vektor kelompok 1 diinisialisasi menjadi vektor perwakilan kelompok 1, dan seterusnya).

Langkah 2 Set parameter laju pembelajaran  $\alpha$  (*learning rate*).

Parameter ini akan menjadi stopping condition ( $< 10^{-3}$ ).

Langkah 3 Menghitung Euclidian distance.

$$D = \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - W_i)^2}$$

dimana X adalah vektor pada unit masukan dan W adalah vektor bobot

Langkah 4 Mencari jarak terkecil.

Unit pada lapisan keluaran yang mempunyai jarak terkecil ( $D_{\min}$ ) disebut *Best Matching uni* (BMU).

$$D_{\min} = \min[D(m)]$$

Langkah 5 Penyesuaian bobot unit.

Jika pemetaan benar

$$W(t+1) = W(t) + \alpha(X(t) - W(t))$$

Jika salah,

$$W(t+1) = W(t) + \alpha(-X(t) - W(t))$$

t adalah jumlah iterasi yang telah terjadi,  $\alpha$  adalah laju pembelajaran yang akan menjadi semakin kecil untuk setiap iterasi.

Langkah 6 Penyesuaian laju pembelajaran.

Untuk iterasi selanjutnya, laju pembelajaran  $\alpha$  akan disesuaikan seperti berikut :

$$\alpha(t) = \alpha_0 \exp(-1/\lambda)$$

$t$  adalah jumlah iterasi yang telah dijalankan,  $\lambda$  adalah konstanta waktu.

Langkah 7 Iterasi dilanjutkan dengan mengulangi langkah 3-7 sampai *stopping condition* terpenuhi (penambahan *epoch*).

Untuk tahap pengujian, data pengujian dalam ruang eigen akan dimasukkan sebagai unit masukan dan dicari jarak terdekat dengan menggunakan *Euclidian distance* pada masing-masing bobot keluaran (vektor perwakilan) seperti pada tahap pelatihan, kemudian unit keluaran dengan jarak terkecil akan dijadikan kelas dari unit masukan tersebut.

### 2.5.3 SOM

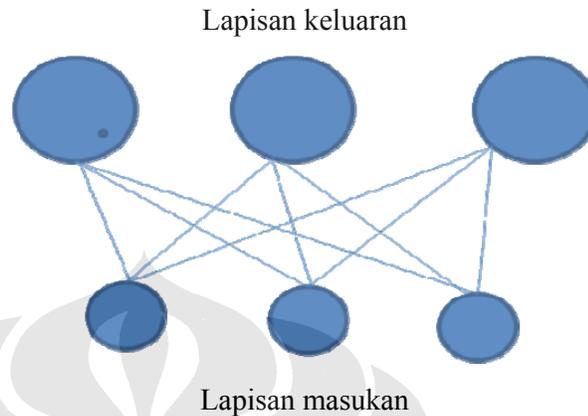
*Self – Organizing Maps* (SOM), yang juga disebut *topology-preserving map*, adalah salah satu algoritma JST yang diciptakan oleh Teuvo Kohonen. Pada dasarnya, SOM akan memetakan data dari ruang berdimensi banyak ke ruang dimensi yang lebih kecil sehingga memudahkan kita untuk melihat hubungan antar 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 cirri 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.

#### 2.5.3.1 Arsitektur Jaringan SOM

Jaringan SOM mempunyai 2 lapisan, yaitu lapisan masukan dan lapisan keluaran. Lapisan masukan terdiri dari ruang berdimensi banyak dan pada lapisan keluaran biasanya terdiri dari ruang 1 - 3 dimensi. Data pelatihan

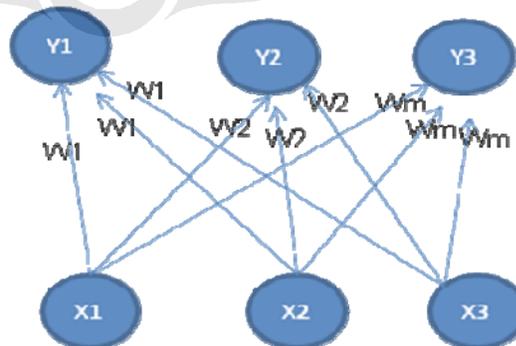
dimasukkan dalam SOM akan ditempatkan pada unit-unit masukan. Data-data kelas yang diinginkan dapat ditempatkan pada unit-unit lapisan keluaran. Arsitektur jaringan LVQ seperti pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Arsitektur Jaringan SOM

### 2.5.3.2 Algoritma SOM

Saat tahap pelatihan, SOM tidak memerlukan target keluaran dari setiap data pelatihan. Ketika suatu bobot cocok dengan data pelatihan, vector bobot akan dioptimasi sehingga lebih dekat data pelatihan tersebut. Saat mulai inisialisasi awal, setiap bobot dapat diinisialisasi dengan nilai acak. Untuk system penentuan jenis demam ini, setiap bobot diambil dari salah satu vektor dalam setiap kelas. Setelah beberapa kali melakukan pelatihan, SOM akan memetakan lapisan masukan ( $X$ ) berdasarkan bobot ( $W$ ) pada setiap unit keluaran dan pada iterasi tertentu pemetaan akan stabil. Pemetaan SOM seperti terlihat pada Gambar 2.11.



Gambar 2.11 Pemetaan SOM

Proses pelatihan dijalankan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

Langkah 1 Melakukan proses inialisasi untuk setiap bobot

Pada sistem penentuan jenis demam, setiap bobot dapat diambil dari salah satu vektor dalam setiap kelas pada lapisan kedua.

Langkah 2 *Set* parameter laju pembelajaran  $\alpha$  (*learning rate*)

Parameter ini akan menentukan kecepatan pembelajaran. Semakin kecil  $\alpha$  maka semakin lama waktu pelatihan yang dibutuhkan, demikian sebaliknya, semakin besar  $\alpha$  semakin cepat waktu pelatihan yang diperlukan.

Langkah 3 Menghitung *Euclidian distance*

Setiap unit pada lapisan masukan akan dicari jarak dengan setiap bobot pada setiap unit keluaran dengan menggunakan *Euclidian distance*.

$$D = \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - W_i)^2}$$

dimana X adalah vector pada unit masukan dan W adalah vector bobot

Langkah 4 Mencari jarak terkecil

Unit pada lapisan keluaran yang mempunyai jareak terkecil ( $D_{\min}$ ) disebut *Best Matching unit*(BMU).

$$D_{\min} = \min[D(m)]$$

Langkah 5 Penyesuaian bobot unit

$$W(t+1) = W(t) + \alpha(X(t) - W(t))$$

t adalah jumlah iterasi yang telah terjadi (*time stamp*),  $\alpha$  adalah laju pembelajaran yang akan menjadi semakin kecil untuk setiap iterasi.

Langkah 6 Penyesuaian laju pembelajaran

Untuk iterasi selanjutnya, laju pembelajaran  $\alpha$  akan disesuaikan seperti berikut :

$$\alpha_n = \frac{\alpha_{n-1}}{2}$$

### Langkah 7 Melanjutkan iterasi

Iterasi dilanjutkan dengan mengulangi langkah 3-7 sampai batas laju pembelajaran yang diinginkan (penambahan *epoch*).

Setelah proses pelatihan selesai, setiap unit keluaran akan mempresentasikan sebuah kelas dari beberapa unit masukan yang mempunyai ciri mirip sehingga unit-unit masukan dalam kelas yang sama mempunyai hubungan dekat satu sama lain. Dengan demikian, SOM mengatur unit keluaran menjadi representasi topologi dari unit masukan (data asli) melalui proses pelatihan di atas yang disebut *self-organizing*.

Untuk tahap pengujian, data pengujian dalam ruang eigen akan dimasukkan sebagai unit masukan dan dicari jarak terdekat dengan menggunakan *Euclidian distance* pada masing-masing bobot keluaran (vektor perwakilan) seperti pada tahap pelatihan, kemudian unit keluaran dengan jarak terkecil akan dijadikan kelas dari unit masukan tersebut.

## 2.6 Kerangka Berpikir

Penelitian Akhisa Nonoyama (2004) mengenai 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 sehingga terjadi pola absorbansi. Begitu juga darah penderita demam tentunya juga mempunyai pola absorbansi tersendiri. Untuk itu dilakukan penelitian pengukuran absorbansi darah penderita DD, non DD dan orang sehat dengan spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 190-1100 nm. Untuk mengenali pola absorbansi darah penderita demam sehingga dapat menentukan jenis demam digunakan algoritma PCA dalam LVQ dan SOM.