

### **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 DD, dengan mengukur spektrum absorbansi cahaya darah penderita demam yang tersangka demam dengue dan orang sehat. Sampel darah yang diambil dilakukan pemeriksaan NS1 dan pengukuran absorbansi cahaya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan studi observasional klinis dan laboratoris dengan rancangan *cross-sectional*, yang bertujuan untuk memperoleh penentuan jenis demam berbasis karakteristik absorbansi darah pada penderita DD, non DD, dan sebagai pembanding juga dilakukan pengukuran terhadap darah orang sehat dengan algoritma PCA dalam LVQ dan SOM.

### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Puskesmas Jakarta Timur, untuk menjangkau pasien DD. Untuk memastikan diagnosa DD dilakukan pemeriksaan NS1 yang dilakukan di Ruko Jl. Cipinang Muara II no. 36 B Jakarta Timur. Pengukuran absorbansi darah dengan spektrofotometer UV-vis dilakukan di laboratorium biomaterial LIPI Cibinong. 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 NS1 baik positif maupun negatif serta orang sehat yang bersedia menjadi subyek penelitian.

### **3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

#### **3.4.1 Kriteria inklusi:**

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

#### **3.4.2 Kriteria eksklusi:**

- 3.4.2.1 Wanita hamil atau menyusui.
- 3.4.2.2 Insufisiensi hati akut yang ditandai dengan peningkatan kadar SGOT/SGPT  $> 3$  kali nilai normal.
- 3.4.2.3 Penyakit kardiovaskuler.
- 3.4.2.4 Penyakit hematologis.
- 3.4.2.5 Penyakit infeksi kronik.
- 3.4.2.6 Gangguan system imun.
- 3.4.2.7 Penyakit ginjal kronik.
- 3.4.2.8 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

3.7.1 Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.7.1.1 Spektrofotometer Hitachi U-2001



Gambar 3.1 Spektrofotometer UV-vis

3.7.1.2 Centrifuge



Gambar 3.2. Centrifuge

3.7.1.3 Alat Uji darah tepi lengkap (DPL)



Gambar 3.3. Alat uji DPL

3.7.2 Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.7.2.1 Sampel darah



Gambar 3.4. Sampel darah

3.7.2.2 Wing needle



Gambar 3.5. *Wing needle*

3.7.2.3 Tabung EDTA



Gambar 3.6. Tabung EDTA

3.7.2.4 SD *Dengue duo*

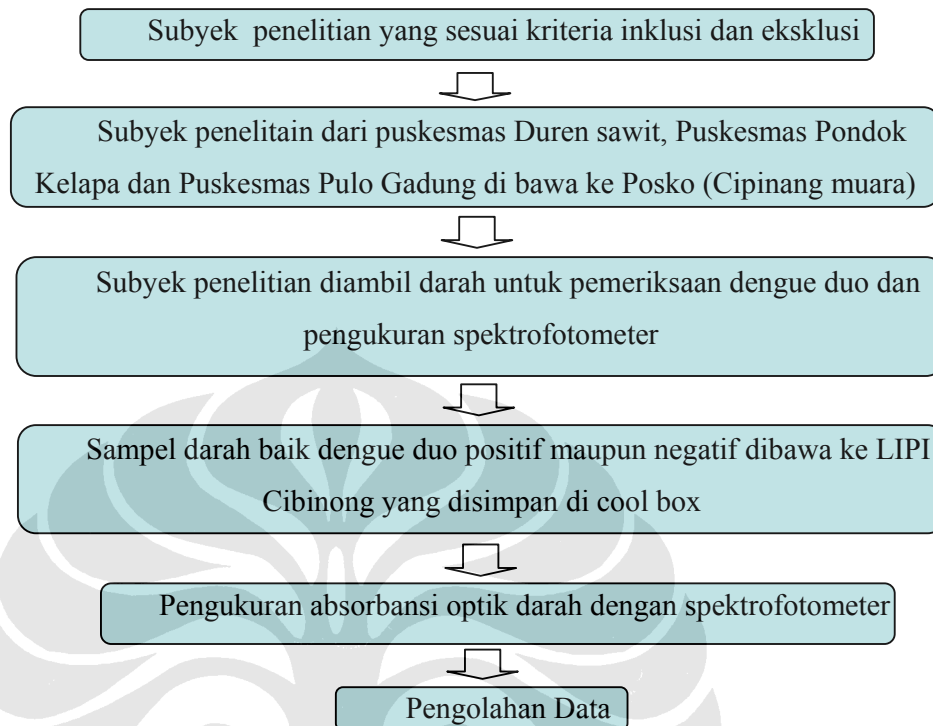


Gambar 3.7. SD *Dengue duo*

### 3.8 Prosedur Penelitian

- 3.8.1 Semua subyek penelitian terhitung selama masa penelitian yang secara klinis berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan NS1, didiagnosis DD dilakukan pencatatan identitas yang meliputi nama, umur, jenis kelamin, alamat dan tanggal pemeriksaan NS1.
- 3.8.2 Diagnosis klinis dan laboratorium NS1, baik hasilnya positif maupun negatif dimasukkan sebagai subyek penelitian dan dilakukan *inform consent* pada subyek atau keluarga untuk mendapatkan persetujuan penelitian.
- 3.8.3 Subyek yang sudah menyetujui, dilakukan pengambilan sampel darah. Pengambilan sampel darah dilakukan satu kali bersamaan dengan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan NS1 dengan menggunakan *wing needle*. Sampel darah yang diambil sebanyak 6 cc dimasukkan dalam 2 tabung EDTA masing-masing 3 cc.
- 3.8.4 Sampel darah yang terkumpul dibawa ke laboratorium biomaterial LIPI Cibinong pada hari itu juga dan cara membawanya dengan menggunakan *cool box*.
- 3.8.5 Sampel darah dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-vis dengan panjang gelombang 190 – 1100 nm. Sampel darah dari tabung EDTA dimasukkan dalam kufet. Kufet pada spektrofotometer UV-Vis Hitachi U 2001 ada 2, pertama untuk sampel yang akan diuji dan kedua untuk larutan referensi.
- 3.8.6 Setelah kedua kufet siap barulah dilakukan pengukuran absorbansi.
- 3.8.7 Hasil pengukuran pemeriksaan berupa data absorbansi dan panjang gelombangnya yang tercetak pada kertas yang telah disediakan.
- 3.8.8 Penentuan jenis demam dengan algoritma PCA dalam LVQ dan SOM;

### 3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.8. Alur penelitian

### 3.10 Rencana Pengolahan Data dan Analisis Data

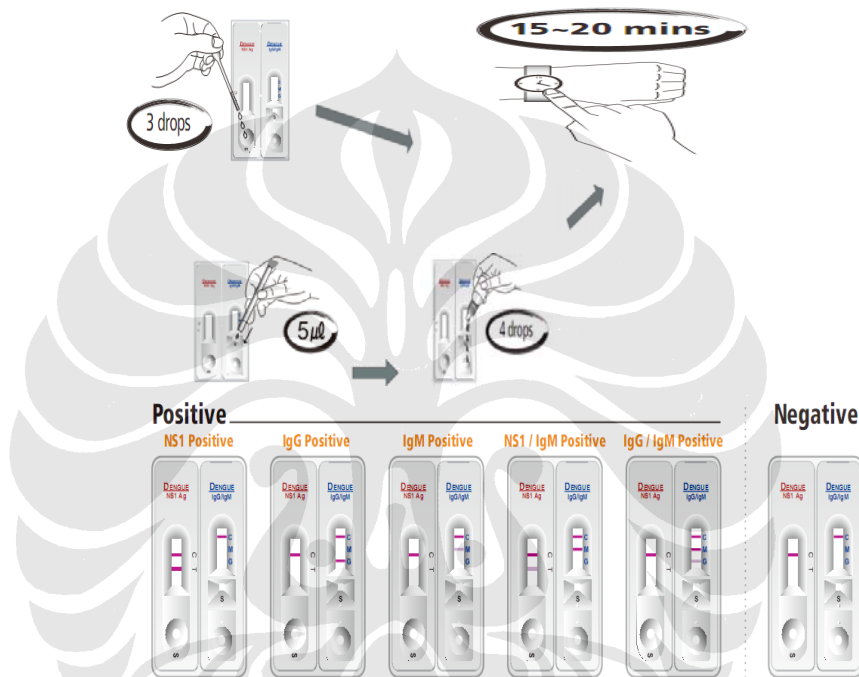
Data karakteristik absorbansi optik pada penderita DD, non DD dan orang sehat disajikan dalam bentuk grafik dan dianalisis dengan menggunakan jaringan saraf buatan. Untuk menentukan karateristik pola DD, non DD dan orang sehat dianalisis dengan jaringan saraf buatan dengan Algoritma PCA dalam LVQ dan SOM.

### 3.11 Definisi Operasional

3.11.1 Kriteria diagnosis DD sesuai dengan kriteria inklusi

3.11.2 Kriteria diagnosis non DD, adalah sampel penelitian yang sesuai kreiteria inklusi dan eksklusi tetapi pemeriksaan dengue duo menunjukkan hasil negatif (-).

3.11.3 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 maupun sekunder. Cara dan interpretasi NS1 seperti pada Gambar 2.9.



Gambar 3.9. Cara dan interpretasi dengue duo

3.11.4 Pengukuran spektrum absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-vis. Cara pengukuran absorbansi darah dengan spektrofotometer UV-Vis, sebagai berikut :

1. Persiapan alat

Dua jam sebelum pengukuran atau pengujian maka alat spektrofotometer itu harus dalam keadaan nyala (on). Alat terhubung baik dengan peralatan lain (*printer*).

2. Persiapan bahan

Bahan yang digunakan adalah cairan aquades dan sampel darah yang akan diuji.

3. Sampel darah dari tabung EDTA dimasukkan dalam kufet sampel.
4. Tabung EDTA yang kosong diberi aquades kemudian dimasukkan dalam kufet untuk *referensi*.
5. Set panjang gelombang yang akan digunakan
6. Tekan tombol *start*, maka proses pengukuran mulai berlangsung.
7. Setelah selesai pengukuran maka akan tampak grafik pola absorbansi dan nilai absorbansi dan panjang gelombang akan tercetak pada kertas yang digunakan.
8. Apabila selesai mencetak hasil pengukuran, berarti proses pengukuran selesai
9. Kufet diambil, sampel darah dimasukkan ke dalam tabung EDTA, dan kufet dibersihkan.

3.11.5 Analisa data menggunakan jaringan saraf tiruan dengan *backpropagation* dan algoritma PCA

