

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 (DD), 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 spektroskopi 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 (N).

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 spektroskopi 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 *Dengue Duo* positif dan 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 > 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 sistem 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 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

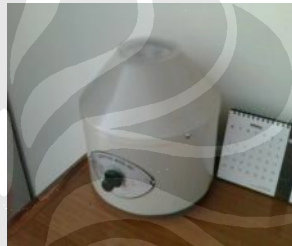
Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.7.1 Spektroskopi Hitachi U-2001



Gambar 3.1. Spektroskopi Hitachi U-2001 di LIPI

3.7.2 *Centrifuge*



Gambar 3.2. *Centrifuge*

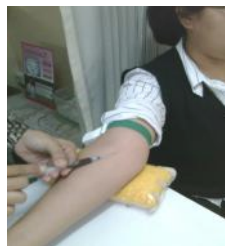
3.7.3 Alat Uji darah tepi lengkap untuk darah sehat



Gambar 3.3. Alat uji darah tepi lengkap

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.7.4 Sampel darah



Gambar 3.4. Sampel darah dari pasien

3.7.5 Jarum Suntik



Gambar 3.5. Contoh jarum suntik (*wing needle*)

3.7.6 Tabung EDTA



Gambar 3.6. Contoh beberapa tabung EDTA

3.7.7 *Dengue Duo*

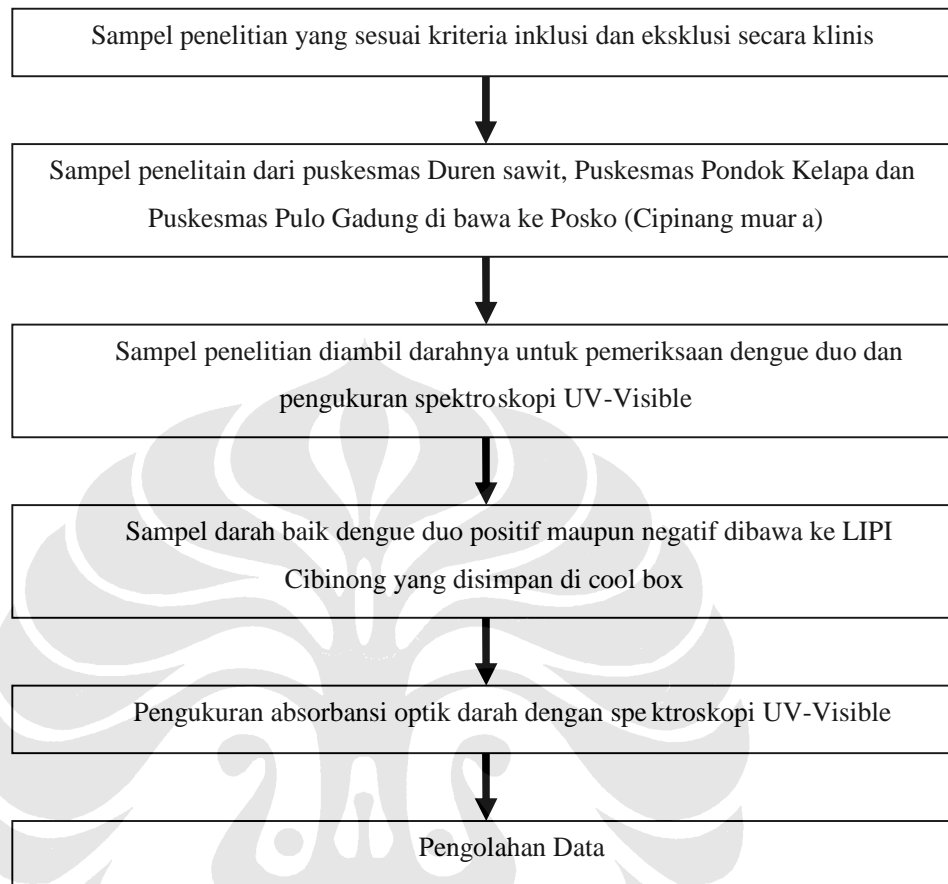


Gambar 3.7. Alat uji infeksi dengue

3.8 Prosedur Penelitian

- 3.8.1 Semua pasien terhitung 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*.
- 3.8.2 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.
- 3.8.3 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.
- 3.8.4 Sampel darah yang terkumpul dibawa ke laboratorium biomaterial LIPI Cibinong. Cara membawanya dengan menggunakan *cool box*.
- 3.8.5 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.
- 3.8.6 Setelah kedua *cuffet* siap barulah dilakukan pengukuran absorbansi.
- 3.8.7 Hasil pengukuran pemeriksaan berupa data absorbansi dan panjang gelombangnya yang tercetak pada kertas yang telah disediakan.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.8. Alur Penelitian

3.10 Rencana Pengolahan Data dan Analisis Data

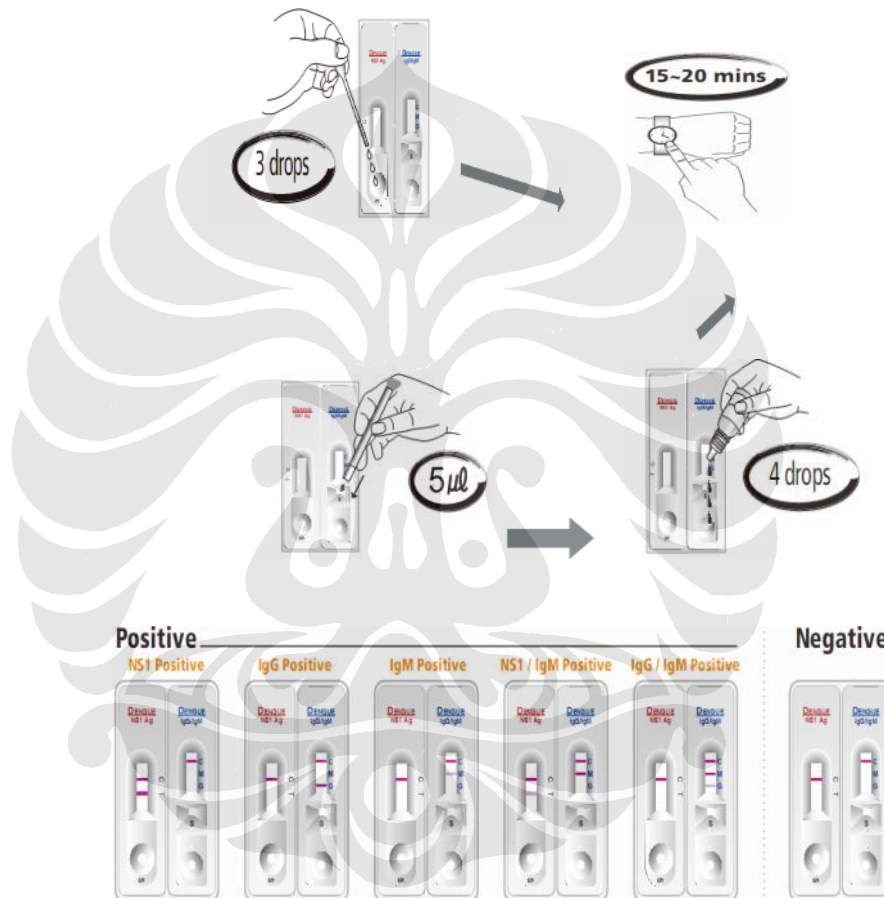
Data karakteristik absorbansi optik pada penderita DD, non DD dan orang sehat disajikan dalam bentuk grafik dan dianalisis dengan menggunakan JST. Untuk menentukan karakteristik pola DD, non DD dan orang sehat dianalisis dengan JST dengan metode LVQ dan algoritma PCA.

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 kriteria inklusi dan eksklusi tetapi pemeriksaan *Dengue Duo* menunjukkan hasil negatif (-).

- 3.11.3 Pemeriksaan dengue, menggunakan *SD-dengue duo* yaitu dengan menilai adanya Ag dan IgG/IgM dengan NS1 Ag dan NS1 IgG/IgM untuk mendeteksi antigen, antibodi 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:



Gambar 3.9. Cara dan interpretasi *Dengue Duo*

- 3.11.4 Pengukuran spektrum absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Darah secara utuh dimasukkan ke dalam *cuffet* spektroskopi kemudian dilakukannya 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.

- 3.11.5 Analisa data menggunakan Jaringan Saraf Tiruan metode LVQ dengan input data langsung dan atau melalui algoritma PCA.

