

Spektra Fluorosens Darah Golongan O dan AB dalam Pelarut Metanol p.a dan Etanol 98%

Mochammad Zaki Nasrulloh, Fredy Kurniawan
Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: fredy@chem.its.ac.id

Abstrak—Darah telah di uji fluoresensinya untuk mendeteksi suatu penyakit. Spektra fluoresens yang dihasilkan darah berbeda tergantung kondisi lingkungan darah tersebut. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan studi mengenai darah dengan spektrofotometer fluoresens untuk mengetahui spektra fluoresens darah. Penentuan spektra fluoresens darah golongan O dan AB dalam pelarut metanol p.a dan etanol 98% telah dilakukan. Hasil yang didapat adalah golongan darah O dan golongan AB memiliki spektra yang sama dalam pelarut metanol p.a. Dalam pelarut metanol p.a darah golongan O dan AB memiliki spektra eksitasi dengan puncak maksimum di panjang gelombang 210 nm, 255 nm, 277 nm dan spektra emisi dengan puncak maksimum di panjang gelombang 303 nm, 557 nm, 600 nm. Darah golongan O dan golongan AB memiliki spektra yang sama dalam pelarut etanol 98%. Dalam pelarut etanol 98% darah golongan O dan AB memiliki spektra eksitasi dengan puncak maksimum di panjang gelombang 221 nm, 257 nm, 342 nm dan spektra emisi dengan puncak maksimum di panjang gelombang 427 nm, 686 nm.

Kata Kunci—Spektrofotometer fluoresens; Golongan darah O; Golongan darah AB.

I. PENDAHULUAN

Darah adalah cairan tubuh yang mengantarkan zat yang diperlukan seperti nutrisi dan oksigen ke sel-sel dan mengangkut produk sisa metabolisme dari sel-sel yang sama. Bagian plasma merupakan 55% dari volume darah utuh dan 45% lainnya adalah bagian seluler. Plasma terdiri dari 92 % air dan melakukan fungsi yang berguna dalam tubuh seperti bertindak sebagai media perjalanan untuk sel-sel darah. Selain itu dalam plasma juga mengandung albumin, fibrinogen dan globulin. Sedangkan bagian seluler mengandung sel darah merah, sel darah putih dan trombosit [2].

Biasanya, 7-8% dari berat badan manusia adalah dari darah. Pada orang dewasa, jumlah ini sekitar 4,5-6 liter darah. Cairan ini penting melaksanakan fungsi kritis mengangkut oksigen dan nutrisi ke sel-sel kita dan menyingkirkan karbon dioksida, amonia, dan produk-produk limbah lainnya. Selain itu, memainkan peran penting dalam sistem kekebalan tubuh kita dan dalam mempertahankan suhu tubuh relatif konstan. Darah adalah jaringan yang sangat khusus yang terdiri dari lebih dari 4.000 jenis komponen. Empat dari yang paling penting adalah sel darah merah, sel darah putih, trombosit, dan plasma. [2].

Uji fluoresensi senyawa telah digunakan untuk mempelajari darah manusia yang berguna untuk penentuan penyakit. Metode ini membandingkan spektra fluoresens darah orang normal dengan darah orang yang sakit untuk mengetahui perbedaan struktur penyakit

dalam darah. Darah manusia adalah sistem kimia yang sangat kompleks. Darah dapat mengemisikan spektra fluoresens yang berbeda dalam kondisi lingkungan yang berbeda [1].

Fluoresensi adalah terpancarnya sinar oleh suatu zat fluorofoor yang telah menyerap sinar atau radiasi elektromagnet lain. Sinar yang dipancarkan memiliki gelombang lebih panjang dan energi lebih rendah daripada radiasi yang diserap. Fluoresensi suatu senyawa bergantung pada pelarut yang digunakan. Untuk itu darah dilarutkan dalam pelarut metanol p.a dan etanol 98% untuk mengetahui spektra fluoresens yang dihasilkan [4].

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik Ohaus, gelas kimia, labu ukur 10mL, pipet ukur 1mL dan 2mL, pipet tetes, pengaduk kaca, kuvet Parkin Elmer, botol semprot, botol vial, propipet, corong gelas, kertas saring. Sedangkan instrument yang digunakan adalah PerkinElmer LS 55 spektrofotometer fluoresens yang terhubung dengan software FL Winlab. Bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah darah golongan O dari 3 orang pendonor darah yang telah dipastikan golongan darahnya dengan antisera komersial, darah golongan AB dari 3 orang pendonor darah yang telah dipastikan golongan darahnya dengan antisera komersial, metanol p.a dari Merck dan etanol 98% dari Brataco.

B. Pembuatan Larutan Darah dengan Pelarut Metanol p.a dan Etanol 98%

Sampel yang digunakan adalah darah golongan O dari 3 orang pendonor darah dan darah golongan AB dari 3 orang pendonor darah. Setiap satu orang diambil darahnya sebanyak 3 tetes (masing masing 1mg-16mg). Untuk pelarut metanol p.a, Masing masing darah dilarutkan dengan metanol p.a dan ditimbang massa darah yang mengendap untuk menghitung massa darah yang terlarut. Masing masing darah diencerkan dengan metanol p.a hingga konsentrasi 0,001 mg/mL. Untuk pelarut etanol, Masing masing darah dilarutkan dengan etanol dan ditimbang massa darah yang mengendap untuk mengitung massa darah yang terlarut. Masing masing darah diencerkan dengan etanol 98% hingga konsentrasi 0,1 mg/mL.

C. Uji Fluorosensi Larutan Darah yang Sudah Dibuat

3 tetes darah yang sudah diencerkan dengan masing masing pelarut di uji fluoresensinya dengan menggunakan spektrofotometer fluoresens. Penentuan panjang gelombang pada intensitas maksimum

menggunakan alat spektrometer fluoresens. Sebelum dilakukan pengukuran, terlebih dahulu alat diatur dalam kondisi $scan\ speed = 500nm/min$, $Slit_{Ex/Em} = 10nm/10nm$. Kemudian dilakukan *prescan* pada $\lambda_{eks} = 200-800$, $\lambda_{em} = 200-900nm$ untuk menentukan parameter eksitasi dan emisi maksimum. Setiap tetes darah di uji 3x menggunakan spektrofotometer fluorosens.

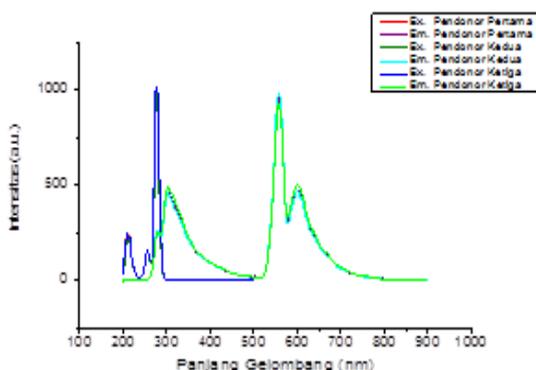
D. Uji F dan Uji t

Uji F dilakukan untuk mengetahui apakah kedua spektrum fluorosens pada setiap pendonor darah yang dibandingkan sebanding atau tidak. Uji t dilakukan untuk mengetahui apakah golongan darah mempengaruhi spektrum fluorosens pada setiap pendonor darah yang dibandingkan. Kedua uji dikerjakan menggunakan *Microsoft Excel 2013*. Data nilai panjang gelombang pada puncak maksimum spektra fluorosens pada setiap golongan darah dilakukan uji F melalui *data analysis* → *F-Test Two Sample for Variances*. Jika H_0 diterima maka dilakukan uji t dengan cara *data analysis* → *t-Test: Two Sample Assuming Equal variances*. Jika H_0 ditolak maka dilakukan uji t dengan cara *data analysis* → *t-Test: Two Sample Assuming Unequal variances*. H_0 adalah tidak ada perbedaan data yang signifikan dari kedua data yang dibandingkan.

III. HASIL/PEMBAHASAN

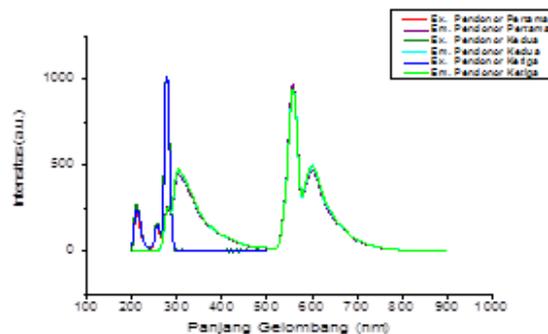
A. Uji Fluorosensi Darah dengan Pelarut Metanol p.a

Setiap sampel tetes darah yang sudah diencerkan di uji fluorosensinya dengan menggunakan spektrofotometer fluoresens sebanyak tiga kali. Hasil spektra fluorosens dari golongan darah O dengan pelarut metanol p.a ditunjukkan pada Gambar 1 dan golongan darah AB dengan pelarut metanol p.a ditunjukkan pada Gambar 2.



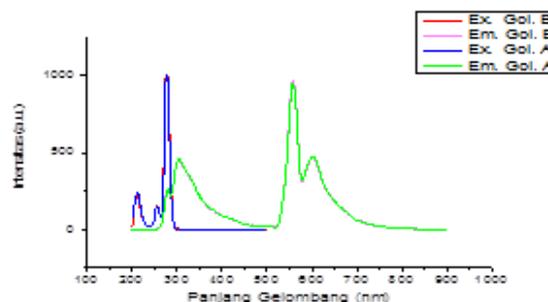
Gambar 1. Spektra Fluorosens Golongan Darah O dengan Pelarut Metanol p.a

Berdasarkan Gambar 1 pada spektra eksitasi golongan darah O dengan pelarut metanol p.a terdapat tiga puncak di panjang gelombang 210 nm, 255 nm dan 277 nm. Spektra emisi golongan darah O dengan pelarut metanol p.a memiliki tiga puncak di panjang gelombang 303 nm, 557 nm dan 600 nm. Tidak terjadi pergeseran panjang gelombang pada setiap pendonor, hal ini menunjukkan bahwa spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut metanol p.a golongan darah O sama di setiap pendonor darah. Spektra fluorosens golongan darah AB dengan pelarut metanol p.a ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektra Fluorosens Golongan Darah AB dengan Pelarut Metanol p.a

Berdasarkan Gambar 2 pada spektra eksitasi golongan darah AB dengan pelarut metanol p.a terdapat tiga puncak di panjang gelombang 210 nm, 255 nm dan 277 nm. Spektra emisi golongan darah AB dengan pelarut metanol p.a memiliki tiga puncak di panjang gelombang 303 nm, 557 nm dan 600 nm. Tidak terjadi pergeseran panjang gelombang pada setiap pendonor, hal ini menunjukkan bahwa spektra fluorosens golongan darah AB dengan pelarut metanol p.a sama di setiap pendonor darah. Spektra fluorosens golongan darah O yang menggunakan pelarut metanol p.a memiliki puncak yang sama dengan golongan darah AB yang menggunakan pelarut metanol p.a, spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut metanol p.a golongan darah O dengan golongan darah AB ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektra Fluorosens Darah dengan Pelarut Metanol p.a Golongan Darah O dan Golongan Darah B

Berdasarkan Gambar 3 pada spektra eksitasi golongan darah O dengan pelarut metanol p.a terdapat tiga puncak di panjang gelombang 210 nm, 255 nm dan 277 nm. Spektra emisi golongan darah O dengan pelarut metanol p.a memiliki tiga puncak di panjang gelombang 303 nm, 557 nm dan 600 nm. Spektra eksitasi golongan darah AB dengan pelarut metanol p.a memiliki tiga puncak di panjang gelombang 210 nm, 255 nm dan 277 nm. Spektra emisi golongan darah AB dengan pelarut metanol p.a memiliki tiga puncak di panjang gelombang 303 nm, 557 nm dan 600 nm. Spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut metanol p.a golongan darah O dengan golongan darah AB memiliki bentuk spektra yang sama dan memiliki puncak maksimum yang sama. Untuk membuktikan bahwa spektra fluorosens golongan darah O dan AB yang menggunakan pelarut metanol p.a berbeda atau tidak maka dilakukan uji F dan t. Kesimpulan dari hasil uji F dan uji t pada setiap puncak eksitasi spektra fluorosens darah yang menggunakan pelarut metanol p.a golongan darah O dengan golongan darah AB dapat dilihat pada Tabel 1. Kesimpulan dari hasil uji F dan uji t pada setiap puncak emisi spektra

fluorosens darah yang menggunakan pelarut metanol p.a golongan darah O dengan golongan darah AB dapat dilihat pada Tabel 2.

TABEL 1. HASIL UJI F DAN UJI T SETIAP PUNCAK EKSIKASI SPEKTRA FLUOROSENS DARAH YANG MENGGUNAKAN PELARUT METANOL P.A GOLONGAN DARAH O DENGAN GOLONGAN DARAH B

Spektra	Uji	Golongan Darah O dengan Golongan Darah B
Eksitasi Puncak Pertama	Uji F	Ditolak
	Uji t	Diterima
Eksitasi Puncak Kedua	Uji F	Diterima
	Uji t	Diterima
Eksitasi Puncak Kedua	Uji F	Diterima
	Uji t	Diterima

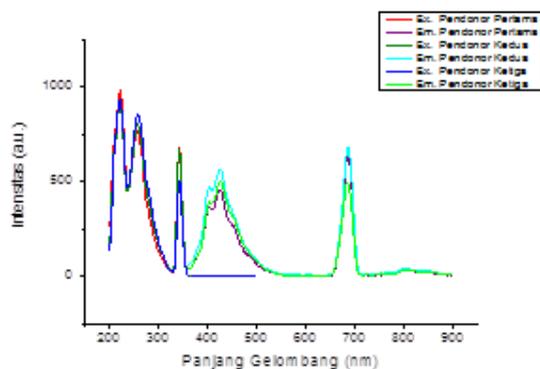
TABEL 2. HASIL UJI F DAN UJI T SETIAP PUNCAK EMISI SPEKTRA FLUOROSENS DARAH YANG MENGGUNAKAN PELARUT METANOL P.A GOLONGAN DARAH O DENGAN GOLONGAN DARAH B

Spektra	Uji	Golongan Darah O dengan Golongan Darah B
Eksitasi Puncak Pertama	Uji F	Diterima
	Uji t	Diterima
Eksitasi Puncak Kedua	Uji F	Diterima
	Uji t	Diterima
Eksitasi Puncak Kedua	Uji F	Diterima
	Uji t	Diterima

Pada Tabel 1 dan Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa seluruh puncak spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut metanol p.a golongan darah O tidak berbeda dengan spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut metanol p.a golongan darah B.

B. Uji Fluorosensi Darah dengan Pelarut Etanol 98%

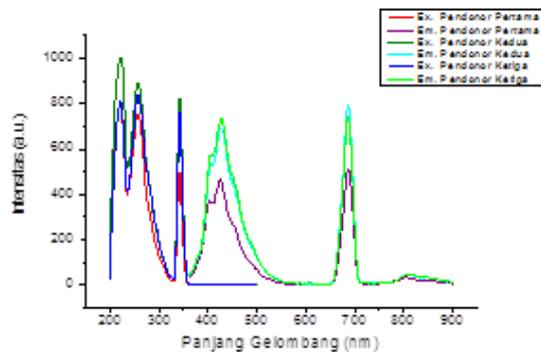
Setiap sampel tetes darah yang sudah diencerkan di uji fluorosensinya dengan menggunakan spektrofotometer fluorosens sebanyak tiga kali. Hasil spektra fluorosens dari golongan darah O dengan pelarut etanol 98% ditunjukkan pada Gambar 4 dan golongan darah AB dengan pelarut etanol 98% ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 4. Spektra Fluorosens Golongan Darah O dengan Pelarut Etanol 98%

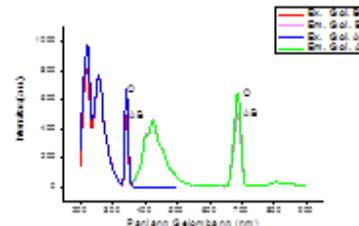
Berdasarkan Gambar 4 pada spektra eksitasi golongan darah O dengan pelarut etanol 98% terdapat tiga puncak di panjang gelombang 221 nm, 257 nm dan 342 nm. Spektra emisi golongan darah O dengan pelarut etanol 98% memiliki dua puncak di panjang gelombang 427 nm

dan 686 nm. Tidak terjadi pergeseran panjang gelombang pada setiap pedonor, hal ini menunjukkan bahwa spektra fluorosens golongan darah O dengan pelarut etanol 98% sama di setiap pedonor darah. Tidak terjadi pergeseran panjang gelombang pada setiap pedonor, hal ini menunjukkan bahwa spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut etanol 98% golongan darah O sama di setiap pedonor darah. Spektra fluorosens golongan darah AB dengan pelarut etanol 98% ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektra Fluorosens Golongan Darah AB dengan Pelarut Etanol 98%

Berdasarkan Gambar 5 pada spektra eksitasi golongan darah AB dengan pelarut etanol 98% terdapat tiga puncak di panjang gelombang 221 nm, 257 nm dan 342 nm. Spektra emisi golongan darah AB dengan pelarut etanol 98% memiliki dua puncak di panjang gelombang 427 nm dan 686 nm. Tidak terjadi pergeseran panjang gelombang pada setiap pedonor, hal ini menunjukkan bahwa spektra fluorosens golongan darah AB dengan pelarut etanol 98% sama di setiap pedonor darah. Spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut etanol 98% golongan darah O dengan golongan darah AB ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Spektra Fluorosens Darah dengan Pelarut Etanol 98% Golongan Darah O dan Golongan Darah B

Berdasarkan Gambar 6 pada spektra eksitasi golongan darah O dengan pelarut etanol 98% terdapat tiga puncak di panjang gelombang 221 nm, 257 nm dan 342 nm. Spektra emisi golongan darah O dengan pelarut etanol 98% memiliki dua puncak di panjang gelombang 427 nm dan 686 nm. Spektra eksitasi golongan darah AB dengan pelarut etanol 98% memiliki tiga puncak di panjang gelombang 221 nm, 257 nm dan 342 nm. Spektra emisi golongan darah AB dengan pelarut etanol 98% memiliki dua puncak di panjang gelombang 427 nm dan 686 nm. Spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut etanol 98% golongan darah O dan AB memiliki bentuk spektra yang sama dan memiliki puncak maksimum yang tidak berbeda. Untuk membuktikan bahwa spektra fluorosens golongan darah O dan AB yang menggunakan pelarut etanol 98% berbeda atau tidak maka dilakukan uji F dan t. Kesimpulan dari hasil uji F dan uji t pada setiap puncak eksitasi spektra

fluorosens darah yang menggunakan pelarut etanol 98% golongan darah O dengan golongan darah AB dapat dilihat pada Tabel 3. Kesimpulan dari hasil uji F dan uji t pada setiap puncak emisi spektra fluorosens darah yang menggunakan pelarut etanol 98% golongan darah O dengan golongan darah AB dapat dilihat pada Tabel 4.

TABEL 3. HASIL Uji F DAN Uji T SETIAP PUNCAK EKSTIASI SPEKTRA FLUOROSENS DARAH YANG MENGGUNAKAN PELARUT ETANOL 98% GOLONGAN DARAH O DENGAN GOLONGAN DARAH B

Spektra	Uji	Golongan Darah O dengan Golongan Darah B
Eksitasi Puncak Pertama	Uji F	Ditolak
	Uji t	Diterima
Eksitasi Puncak Kedua	Uji F	Diterima
	Uji t	Diterima
Eksitasi Puncak Kedua	Uji F	Diterima
	Uji t	Diterima

TABEL 4 HASIL Uji F DAN Uji T SETIAP PUNCAK EMISI SPEKTRA FLUOROSENS DARAH YANG MENGGUNAKAN PELARUT ETANOL 98% GOLONGAN DARAH O DENGAN GOLONGAN DARAH B

Spektra	Uji	Golongan Darah O dengan Golongan Darah B
Emisi Puncak Pertama	Uji F	Ditolak
	Uji t	Diterima
Emisi Puncak Kedua	Uji F	Ditolak
	Uji t	Diterima

Pada Tabel 3 dan Tabel 4 dapat disimpulkan bahwa seluruh puncak spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut etanol 98% golongan darah O tidak berbeda dengan spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut etanol 98% golongan darah B.

Hal ini menunjukkan bahwa spektra fluorosens larutan darah golongan darah O dan golongan darah AB tidak terdapat perbedaan dengan menggunakan pelarut etanol 98%.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, Dalam pelarut metanol p.a darah golongan O dan AB memiliki spektra eksitasi dengan puncak maksimum di panjang gelombang 210 nm, 255 nm, 277 nm dan spektra emisi dengan puncak maksimum di panjang gelombang 303 nm, 557 nm, 600 nm. Dalam pelarut etanol 98% darah golongan O dan AB memiliki spektra eksitasi dengan puncak maksimum di panjang gelombang 221 nm, 257 nm, 342 nm dan spektra emisi dengan puncak maksimum di panjang gelombang 427 nm, 686 nm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] S. Lowndes, Blood interference in fluorescence spectrum: Experiment, analysis and comparison with intraoperativemeasurements on brain tumor. 2010.
- [2] T. Kanchan and K. Krishan, "Blood Grouping," in Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine (Second Edition), Oxford: Elsevier, 2016, pp. 425–432.
- [3] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. R. Crouch, Principles of Instrumental Analysis, 6 edition. Belmont, CA: Cengage Learning, 2006.
- [4] P. Atkins and J. de Paula, Atkins' Physical Chemistry. Oxford University Press, 2010.