

Spektra Fluorosens Darah Golongan A dan B dalam Pelarut Metanol dan Etanol

Estu Yoga Elmi Gesa, 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—Uji fluoresensi senyawa telah digunakan untuk mempelajari darah manusia yang berguna untuk penentuan penyakit. Darah dapat mengemisikan spektra fluoresens yang berbeda dalam kondisi lingkungan yang berbeda. Karena itu perlu dilakukan studi mengenai darah dengan spektrofotometer fluoresens untuk mengetahui spektra fluoresens darah. Penentuan spektra fluoresens darah golongan A dan B dalam pelarut metanol dan etanol telah dilakukan. Hasil yang didapat adalah golongan darah A dan golongan B memiliki spektra yang sama dalam pelarut metanol. Dalam pelarut metanol darah golongan A dan B 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 A dan golongan B memiliki spektra yang sama dalam pelarut etanol. Dalam pelarut etanol darah golongan A dan B 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 A; Golongan darah B.

I. PENDAHULUAN

Darah adalah jaringan hidup yang sangat kompleks. Darah mengandung banyak sel-sel darah dan plasma darah. Bagian seluler merupakan 45% dari volume darah dan termasuk sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit. Sel darah merah (*erythrocytes*) berfungsi untuk mentransportasikan oksigen ke seluruh tubuh, sel darah putih (*leukocytes*) berfungsi untuk sistem kekebalan tubuh, dan trombosit (*platelet*) yang berfungsi dalam pembekuan darah. Sisanya 55% adalah plasma darah, yang merupakan 92% air dan melakukan beberapa fungsi dalam tubuh. Plasma bertindak sebagai media transportasi untuk sel-sel darah dan mengandung albumin, *fibrinogen* (penting untuk pembekuan darah), globulin dan antibodi [1].

Darah manusia unik untuk setiap individu. Darah digunakan dalam penyelidikan forensik. Darah adalah bukti yang paling sering ditemukan dan salah satu yang paling penting dalam penyelidikan forensik. Dalam praktek klinis, khususnya yang berkaitan dengan transplantasi organ, transfusi darah dan obat-obatan, sangat penting untuk menentukan darah dari pasien [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

fluorosens yang berbeda dalam kondisi lingkungan yang berbeda [3].

Fluoresensi adalah terpancarnya sinar oleh suatu zat fluorofor 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 dan etanol 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 A dari 3 orang pendonor darah yang telah dipastikan golongan darahnya dengan antisera komersial, darah golongan B dari 3 orang pendonor darah yang telah dipastikan golongan darahnya dengan antisera komersial, etanol 98%, dan metanol.

B. Pembuatan Larutan Darah dengan Pelarut Metanol dan Etanol

Sampel yang digunakan adalah darah golongan A dari 3 orang pendonor darah dan darah golongan B dari 3 orang pendonor darah. Setiap satu orang diambil darahnya sebanyak 3 tetes (masing-masing 2mg-10mg). Untuk pelarut metanol, masing-masing darah dilarutkan dengan metanol dan ditimbang massa darah yang mengendap untuk menghitung massa darah yang terlarut. Masing-masing darah diencerkan dengan metanol hingga konsentrasi 0,0011 mg/mL. Untuk pelarut etanol, masing-masing darah dilarutkan dengan etanol dan ditimbang massa darah yang mengendap untuk menghitung massa darah yang terlarut. Masing-masing darah diencerkan dengan etanol hingga konsentrasi 0,1 mg/mL.

C. Uji Fluorosensi Larutan Darah yang Sudah Dibuat

3 tetes darah yang sudah diencerkan dengan masing-masing pelarut diuji 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 $\lambda_{eks} = 200-800$, $\lambda_{em} = 200-900$ nm untuk menentukan parameter eksitasi dan emisi maksimum. Setiap tetes darah di uji 3x menggunakan spektrofotometer fluoresens.

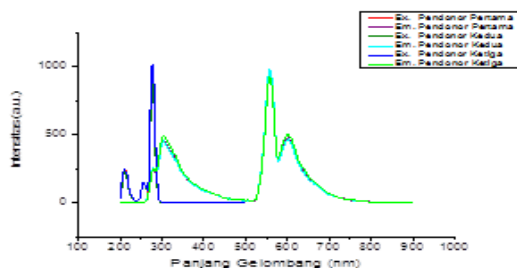
D. Uji F dan Uji t

Uji F dilakukan untuk mengetahui apakah kedua spektrum fluoresens pada setiap pendonor darah yang dibandingkan sebanding atau tidak. Uji t dilakukan untuk mengetahui apakah golongan darah mempengaruhi spektrum fluoresens pada setiap pendonor darah yang dibandingkan. Kedua uji dikerjakan menggunakan *Microsoft Excel 2013*. Dua puluh tujuh data spektrum fluoresens 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

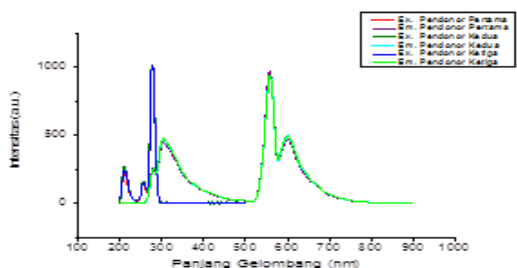
A. Uji Fluorosensi Darah dengan Pelarut Metanol

Setiap sampel tetes darah yang sudah diencerkan di uji fluoresensinya dengan menggunakan spektrofotometer fluoresens sebanyak tiga kali. Hasil spektra fluoresens dari golongan darah A dengan pelarut metanol ditunjukkan pada Gambar 1 dan golongan darah B dengan pelarut metanol ditunjukkan pada Gambar 2.



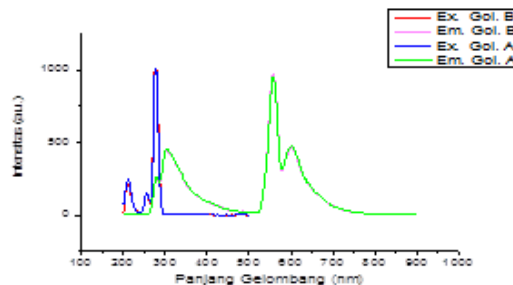
Gambar 1. Spektra Fluorosens Golongan Darah A dengan Pelarut Metanol

Berdasarkan Gambar 1 pada spektra eksitasi golongan darah A dengan pelarut metanol terdapat tiga puncak di panjang gelombang 210 nm, 255 nm dan 277 nm. Spektra emisi golongan darah A dengan pelarut metanol 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 fluoresens larutan darah yang menggunakan pelarut metanol golongan darah A sama di setiap pendonor darah. Spektra fluoresens golongan darah B dengan pelarut metanol ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektra Fluorosens Golongan Darah B dengan Pelarut Metanol

Berdasarkan Gambar 2 pada spektra eksitasi golongan darah B dengan pelarut metanol terdapat tiga puncak di panjang gelombang 210 nm, 255 nm dan 277 nm. Spektra emisi golongan darah B dengan pelarut metanol 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 fluoresens golongan darah B dengan pelarut metanol sama di setiap pendonor darah. Spektra fluoresens golongan darah A yang menggunakan pelarut metanol memiliki puncak yang sama dengan golongan darah B yang menggunakan pelarut metanol, spektra fluoresens larutan darah yang menggunakan pelarut metanol golongan darah A dengan golongan darah B ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektra Fluorosens Darah dengan Pelarut Metanol Golongan Darah A dan Golongan Darah B

Berdasarkan Gambar 3 pada spektra eksitasi golongan darah A dengan pelarut metanol terdapat tiga puncak di panjang gelombang 210 nm, 255 nm dan 277 nm. Spektra emisi golongan darah A dengan pelarut metanol memiliki tiga puncak di panjang gelombang 303 nm, 557 nm dan 600 nm. Spektra eksitasi golongan darah B dengan pelarut metanol memiliki tiga puncak di panjang gelombang 210 nm, 255 nm dan 277 nm. Spektra emisi golongan darah B dengan pelarut metanol memiliki tiga puncak di panjang gelombang 303 nm, 557 nm dan 600 nm. Spektra fluoresens larutan darah yang menggunakan pelarut metanol golongan darah A dengan golongan darah B memiliki bentuk spektra yang sama dan memiliki puncak maksimum yang sama. Untuk membuktikan bahwa spektra fluoresens golongan darah A dan B yang menggunakan pelarut metanol berbeda atau tidak maka dilakukan uji F dan t. Kesimpulan dari hasil uji F dan uji t pada setiap puncak eksitasi spektra fluoresens darah yang menggunakan pelarut metanol golongan darah A dengan golongan darah B dapat dilihat pada Tabel 1. Kesimpulan dari hasil uji F dan uji t pada setiap puncak emisi spektra fluoresens darah yang menggunakan pelarut metanol golongan darah A dengan golongan darah B dapat dilihat pada Tabel 2.

TABEL 1. HASIL Uji F DAN Uji T SETIAP PUNCAK EKSITASI SPEKTRA FLUOROSENS DARAH YANG MENGGUNAKAN PELARUT METANOL GOLONGAN DARAH A DENGAN GOLONGAN DARAH B

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

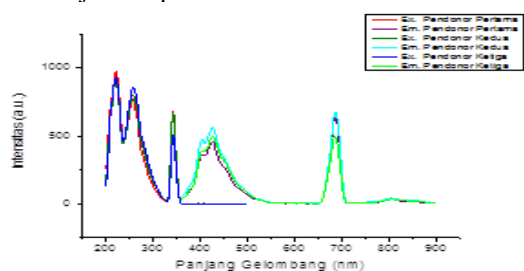
TABEL 2. HASIL Uji F DAN Uji T SETIAP PUNCAK EMISI SPEKTRA FLUOROSENS DARAH YANG MENGGUNAKAN PELARUT METANOL GOLONGAN DARAH A DENGAN GOLONGAN DARAH B

Spektra	Uji	Golongan Darah A 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 golongan darah A tidak berbeda dengan spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut metanol golongan darah B.

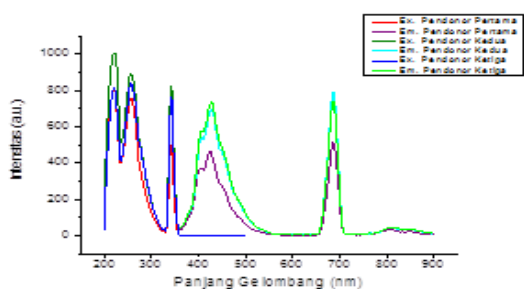
B. Uji Fluorosensi Darah dengan Pelarut Etanol

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



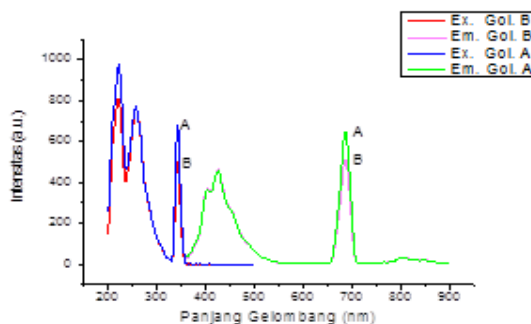
Gambar 4. Spektra Fluorosens Golongan Darah A dengan Pelarut Etanol

Berdasarkan Gambar 4 pada spektra eksitasi golongan darah A dengan pelarut etanol terdapat tiga puncak di panjang gelombang 221 nm, 257 nm dan 342 nm. Spektra emisi golongan darah A dengan pelarut etanol memiliki dua puncak di panjang gelombang 427 nm dan 686 nm. Tidak terjadi pergeseran panjang gelombang pada setiap pendonor, hal ini menunjukkan bahwa spektra fluorosens golongan darah A dengan pelarut etanol sama di setiap pendonor darah. Tidak terjadi pergeseran panjang gelombang pada setiap pendonor, hal ini menunjukkan bahwa spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut etanol golongan darah A sama di setiap pendonor darah. Spektra fluorosens golongan darah B dengan pelarut etanol ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektra Fluorosens Golongan Darah B dengan Pelarut Etanol

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



Gambar 6. Spektra Fluorosens Darah dengan Pelarut Etanol Golongan Darah A dan Golongan Darah B

Berdasarkan Gambar 6 pada spektra eksitasi golongan darah A dengan pelarut etanol terdapat tiga puncak di panjang gelombang 221 nm, 257 nm dan 342 nm. Spektra emisi golongan darah A dengan pelarut etanol memiliki dua puncak di panjang gelombang 427 nm dan 686 nm. Spektra eksitasi golongan darah B dengan pelarut etanol memiliki tiga puncak di panjang gelombang 221 nm, 257 nm dan 342 nm. Spektra emisi golongan darah B dengan pelarut etanol memiliki dua puncak di panjang gelombang 427 nm dan 686 nm. Spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut etanol golongan darah A dan B memiliki bentuk spektra yang sama dan memiliki puncak maksimum yang tidak berbeda. Untuk membuktikan bahwa spektra fluorosens golongan darah A dan B yang menggunakan pelarut etanol 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 golongan darah A dengan golongan darah B dapat dilihat pada Tabel 3. Kesimpulan dari hasil uji F dan uji t pada setiap puncak emisi spektra fluorosens darah yang menggunakan pelarut etanol golongan darah A dengan golongan darah B dapat dilihat pada Tabel 4.

TABEL 3. HASIL Uji F DAN Uji T SETIAP PUNCAK EKSITASI SPEKTRA FLUOROSENS DARAH YANG MENGGUNAKAN PELARUT ETANOL GOLONGAN DARAH A DENGAN GOLONGAN DARAH B

Spektra	Uji	Golongan Darah A 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 Golongan Darah A dengan Golongan Darah B

Spektra	Uji	Golongan Darah A 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 golongan darah A tidak berbeda dengan spektra fluorosens larutan darah yang menggunakan pelarut etanol golongan darah B. Hal ini menunjukkan bahwa spektra fluorosens larutan darah golongan darah A dan golongan darah B tidak terdapat perbedaan dengan menggunakan pelarut etanol.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, Dalam pelarut metanol darah golongan A dan B 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 darah golongan A dan B 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.