

Analisis Kolorimetri Kadar Hemoglobin Darah dengan Metode Pencitraan Digital Menggunakan Desktop Scanner

Koekoeh Santoso^{1*}, Muhammad Agil², Ridzky Pratama³

¹Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

³Program Pendidikan Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK: Spektrofotometer adalah sistem baku berbasis kolorimetri dalam pengukuran kadar Hemoglobin (Hb). Penggunaan *scanner* untuk mengukur kadar Hb berbasis kolorimetri telah dilakukan sebagai sistem alternatif. Kurva baku kanal warna *scanner* yang paling curam adalah *blue*. Perbandingan kurva baku spektrofotometer dengan kanal warna *blue* menunjukkan nilai $y = 0.3131x + 0.0565$ dengan $R^2 = 0.9954$ dan angka konversi nilai absorbansi *desktop scanner* menjadi kadar Hb adalah 73.6. Hasil uji Pasangan T menghasilkan nilai p sebesar 0.325 atau tidak berbeda nyata pada $p > 0.05$.

Kata kunci:

desktop scanner, *imageJ*, kadar hemoglobin, kolorimetri.

■ PENDAHULUAN

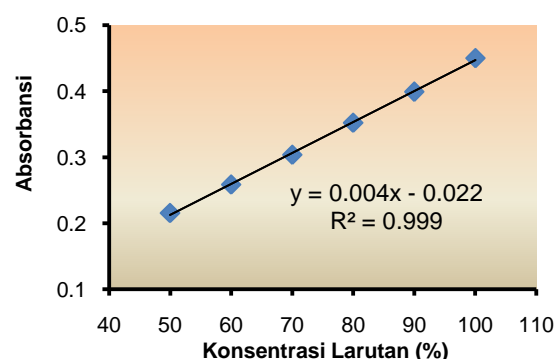
Spektrofotometer adalah sistem baku dalam pengukuran kadar Hemoglobin (Hb) berbasis kolorimetri (Ohta dan Robertson 2005; Frankhauser 2007), namun mahal dan memerlukan tenaga ahli, sehingga diperlukan sistem alternatif berbasis kolorimetri yang murah, mudah, dan cepat yaitu dengan memanfaatkan *desktop scanner* dan teknik pengolahan dan pengukuran citra menggunakan *ImageJ*.

■ BAHAN DAN METODE

Sebanyak 120 μ l darah kelinci ditambahkan dalam tabung reaksi berisi 30 ml reagen Drabkin yang dimodifikasi (Rezende *et al.* 2006), kemudian diencerkan dengan reagen hingga konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, dan 50% dalam tabung terpisah untuk membuat kurva standar. Masing-masing larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer Hitachi U-2001 pada panjang gelombang 540 nm. Dari masing-masing tabung tersebut diambil 25 μ l kesumur *microplate* dengan 5 kali pengulangan untuk dipindai menggunakan *desktop scanner* HP® Scanjet 7490c dan disimpan dalam bentuk *tagged image file format* (TIFF) agar dapat diproses dan diukur absorbansinya menggunakan *ImageJ*. Kadar Hb diperoleh dengan rumus $Hb = Abs \times 36.8$ g/dL. Hasil ini digunakan untuk mendapatkan konstanta yang digunakan melakukan konversi absorbansi *desktop scanner* menjadi kadar Hb. Analisa kuantitatif dilakukan menggunakan program Microsoft Excel 2010 untuk membuat grafik dan uji pasangan T menggunakan SPSS 19.0.

■ HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran absorbansi larutan yang diencerkan hingga konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, dan 50% dengan spektrofotometer menghasilkan kurva absorbansi $y = 0.00047 \times -0.0222$ dengan $R^2 = 0.9992$ (Gambar 1). *Scanner* telah digunakan untuk mengukur glukosa, kolesterol, dan kreatinin darah (De Morais dan De Lima 2014); diagnosa atherosklerosis (Mann *et al.* 2015); serta kandungan pati pada kentang (Matthews *et al.* 2004).



Gambar 1 Kurva absorbansi dari pengukuran hemoglobin darah kelinci menggunakan spektrofotometer

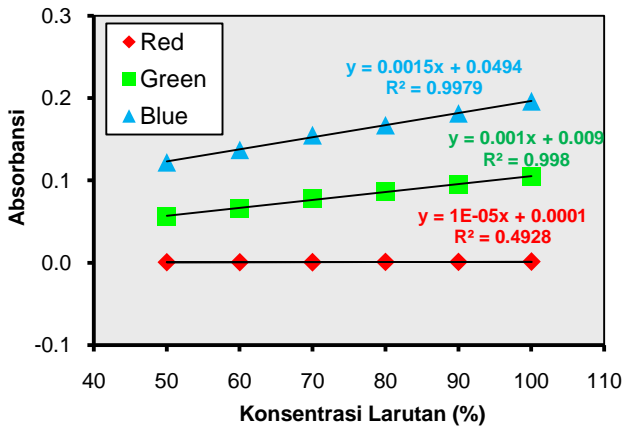
Hasil pengukuran menggunakan *scanner* menghasilkan kurva absorbansi untuk warna *R/red*, *G/green*, dan *B/blue*

Diterima : 28 Juli 2017

Direvisi : 14 Agustus 2017

Disetujui : 16 Agustus 2017

dengan kemiringan paling curam adalah *B/blue* (Gambar 2), sehingga dipilih untuk perhitungan selanjutnya karena kanal warna tersebut paling sensitif terhadap perubahan konsentrasi Hb (De Morais dan De Lima 2014).



Gambar 2 Kurva absorbansi dari pengukuran hemoglobin darah kelinci menggunakan *scanner* pada kanal warna *Red*, *Green* dan *Blue*

Hasil perbandingan absorbansi spektrofotometer dengan *desktop scanner* menunjukkan $y = 0.3131x + 0.0565$ dengan $R^2 = 0.9954$ dan diperoleh konstanta 73.6 untuk mengubah nilai absorbansi *desktop scanner* menjadi kadar Hb. Perbandingan kadar Hb dari *scanner* dan spektrofotometer dapat dilihat di Tabel 1. Hasil uji pasangan T menghasilkan nilai p sebesar 0.325.

Tabel 1 Absorbansi dan kadar hemoglobin darah kelinci yang didapatkan dari *scanner* dan spektrofotometer

Konsentrasi (%)	Abs Spektro	Abs Scanner	Hb Spektro (g/dL)	Hb Scanner (g/dL)
100	0.5 ± 0.08	0.2 ± 0.03	16.6 ± 2.85	14.4 ± 2.36
90	0.4 ± 0.07	0.2 ± 0.03	14.7 ± 2.41	13.4 ± 2.02
80	0.4 ± 0.06	0.2 ± 0.03	12.9 ± 2.21	12.3 ± 2.03
70	0.3 ± 0.05	0.2 ± 0.02	11.2 ± 1.75	11.4 ± 1.75
60	0.3 ± 0.03	0.1 ± 0.02	9.5 ± 1.29	10.1 ± 1.27
50	0.2 ± 0.03	0.1 ± 0.02	7.9 ± 1.06	8.9 ± 1.18

■ SIMPULAN

Kadar hemoglobin yang didapat dengan *scanner* dan spektrofotometer tidak ditemukan perbedaan yang signifikan pada tingkat kepercayaan 95%.

■ INFORMASI PENULIS

Penulis untuk Korespondensi

koekoehipb@gmail.com

Persetujuan Penulis

Semua penulis telah memberikan persetujuan terhadap versi akhir dari naskah ini.

■ UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Laboratorium Fisiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

■ PUSTAKA ACUAN

De Morais CLM, De Lima KMG. 2014. A colorimetric microwell method using a desktop scanner for biochemical assays. *Talanta*. 126:145-150.

Frankhauser DB. 2007. Spectrophotometer use. http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/Labs/Microbiology/Growth_Curve/Spectrophotometer.htm [diunduh 6 Februari 2015].

Kohl SK, Landmark JD, Stickle DF. 2006. Demonstration of absorbance using digital color image analysis and colored solutions. *J ChemEdu* 83(4):644-646.

Mann E, Kolusheva S, Yossef R, Porgador A, Aviram M, Jelinek R. 2015. Colorimetric polymer assay for the diagnosis of plasma lipids atherogenic quality in hypercholesterolemic patients. *Mol. Diagn. Ther.* 19:35-43.

Matthews KR, Landmark JD, Stickle DF. 2004. Quantitative assay for starch by colorimetry using a desktop scanner. *J ChemEdu*. 81(5):702-704.

Ohta N, Robertson A. 2005. *Colorimetry: Fundamentals and Applications*. West Sussex(GB): JohnWiley& Sons Ltd.

Rezende EI, Gomes FR, Malisch JL, Chappell MA, Garland T. 2006. Maximal oxygen consumption in relation to subordinate traits in lines of house mice selectively bred for high voluntary wheel running. *J Appl Physiol*. 101:477-485.