

Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan, dan Penerapan MIPA
Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, 16 Mei 2009

**DETEKSI GAS C₂H₄ PERNAFASAN SEBAGAI *BIO-MARKER* PROSES LIPID
PEROKSIDASI DENGAN METODE SPEKTROSKOPI FOTOAKUSTIK LASER
(*DETECTION OF C₂H₄ GAS OF BREATH AS A BIOMARKER OF PROXIDATION LIPID
PROSES VIA LASER-BASED PHOTOACOUSTIC SPECTROSCOPY METHOD*)**

Mitrayana,¹ M.A.J. Wasono,¹ W. Rochmah²

Email: mitrayana@ugm.ac.id

Lab. Atom-Inti Jurusan Fisika FMIPA UGM

Bangsar Penyakit–Dalam RSU dr. Sardjito Yogyakarta, FKU UGM

Abstrak

Telah dilakukan penyelidikan konsentrasi gas etilen (C₂H₄) secara *real time* dan *insitu* dari gas pernafasan manusia. Penyelidikan gas etilen dimaksudkan untuk alat bantu bagi diagnosa efektifitas treatment bagi kontrol efek radikal bebas di dalam tubuh. Untuk mencapai tujuan tersebut digunakan tiga kelompok relawan, yaitu kelompok relawan sehat usia muda (< 30 tahun), relawan sehat usia lanjut (> 50 tahun), dan relawan sakit (> 50 tahun). Metode eksperimen yang digunakan adalah metode spektroskopi fotoakustik laser. Metode spektroskopi fotoakustik laser adalah sebuah metode untuk mendeteksi konsentrasi gas tertentu dengan memanfaatkan pengubahan tenaga radiasi laser termodulasi yang terserap oleh molekul menjadi sinyal akustik. Hasil eksperimen menunjukkan secara nyata adanya perbedaan mencolok antara konsentrasi gas etilen (C₂H₄) dari relawan sehat usia muda (25 ± 51) ppbv, usia tua (59 ± 20) ppbv dan sakit (99 ± 28) ppbv.

Kata kunci: Gas etilen (C₂H₄), spektrokopi fotoakustik laser, dan radikal bebas.

Abstract

The ethylene (C₂H₄) gas that exhausted from human has been studied in real time and in-situ. The purpose of the ethylene gas detection to help early diagnostic of the effectively of treatments on controlled of free radical on human body. To get the aim of this research, we use three groups of volunteers, i.e. healthy young (< 30 years), healthy old (> 50 years), and patients (> 50 years). The method of experiment that we used is laser-based photoacoustic spectroscopy. Laser based photoacoustic spectroscopy is a method that used the conversion of laser radiation energy modulated that absorbed by molecules to acoustic signal. The experiment result showed the real different of ethylene (C₂H₄) gas concentration between volunteer of healthy young (25 ± 51) ppbv, healthy old (59 ± 20) ppbv, and patient (99 ± 28) ppbv.

Key words: Ethylene (C₂H₄) gas, laser-based photoacoustic spectroscopy, and free radical.

PENDAHULUAN

Etilen merupakan *biomarker non-invasive* kerusakan radikal bebas pada manusia (Harren, dkk., 1999). Etilen dihasilkan melalui oksidasi asam lemak (*fatty acids*) ω-3 melalui proses *lipid peroxidation* (Sagai dan Ichinose, 1980). Dalam proses *lipid peroxidation*, asam lemak *polyunsaturated* bereaksi dengan radikal bebas untuk membentuk berbagai produk, termasuk *pentane*, ethane dan etilen.

Relevansi *biomarker non-invasive* kerusakan radikal bebas dalam kedokteran modern dapat dipahami dengan memperhatikan beberapa latar belakang radikal bebas. Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai suatu molekul dengan suatu elektron takberpasangan. Molekul-molekul reaktif tersebut dihasilkan secara kontinu di dalam sel-sel, misalnya sebagai hasil metabolisme (Zwart, dkk., 1998), dan penting sekali untuk tubuh manusia. Enzyme ‘*cytochrome P450*’ menggunakan reaktifitas radikal bebas untuk oksidasi katalitik senyawa *endogenous* dan *exogenous*

tertentu, dan reaktifitas radikal bebas tersebut digunakan juga untuk menetralkan mikro organisme asing untuk tubuh.

Akan tetapi, radikal bebas dapat juga berbahaya. Radikal bebas merupakan mediator luka untuk sel-sel. Vitamin A, C dan E, dan *beta-carotene*, merupakan antioxidants potensial, yang menolong untuk mengontrol perambatan kerusakan radikal bebas di dalam tubuh sebagai aksi *scavengers*, menetralkan radikal bebas. Kerusakan radikal bebas terlibat dalam berbagai penyakit dan ketidak teraturan (Sen, 1995) seperti *artiosclerosis*, penyakit *Parkinson*, penyakit *Alzheimer's*, *asthma*, dan *sclerosis* ganda (Zwart, dkk., 1998).

Metode spektroskopi fotoakustik laser dalam menganalisis gas lacakan dengan memanfaatkan potensinya untuk menyelidiki komposisi hembusan udara *via* pernafasan mulut memberikan informasi penting tentang bermacam-macam proses yang terjadi pada tubuh manusia (Miekisch dan Schubert, 2006). Dari segi medis, hal ini sangat menarik karena metode itu sangat berpotensi untuk memonitor berbagai proses metabolisme itu secara *noninvasive* dengan waktu tanggap yang cepat.

Dalam makalah ini akan diselidiki konsentrasi gas etilen (C₂H₄) secara *real time* dan *in-situ* dari pernafasan manusia sebagai alat bantu bagi diagnosa dini efektifitas treatment bagi kontrol efek radikal bebas di dalam tubuh.

1. Metode Eksperimen

Gas hembus didapat dari pernafasan lewat mulut dengan skema pengambilan gas ditunjukkan pada Gb. (1). Seperti terlihat pada gambar tersebut seluruh gas sampel yang hendak diselidiki dialirkan ke sel FA melalui *scrubber* KOH dan CaCl₂. Hal ini dilakukan guna menyerap uap air dan CO₂ yang dapat mengganggu kinerja serapan gas *biomarker* pada laser CO₂. Data yang terekam kemudian diproses secara *off-line*. Setelah masing-masing konsentrasi gas hembus diperoleh, baik dari gas hembus relawan sehat maupun relawan sakit (pasien) maka pemetaan kadar penentuan batas ambang suatu penyakit tertentu dapat ditentukan. Untuk validitas data maka data dari SFA ini dicek dengan membuat korelasi positif terhadap variabel konvensional dari uji darah setiap relawan (klinik Prodia Yogyakarta).

Jumlah relawan yang diuji gas hembus pernafasannya adalah sekitar 18 orang usia muda (usia antara 20 – 30 tahun) untuk kategori sehat bagi pria dan wanita, 34 orang usia lanjut (usia diatas 50 tahun) untuk kategori sehat bagi pria dan wanita, dan 24 orang relawan sakit (yang lagi menginap di Rumah Sakit Umum dr. Sardjito Yogyakarta). Jumlah pengukuran dilakukan dua kali (bolak-balik) dalam pemayaran garis laser untuk melihat konsistensi pola serapan laser. Namun untuk pengambilan nafas dari relawan (untuk satu orang relawan) hanya dilakukan satu kali. Hal ini dikarenakan keterbatasan dana, kondisi relawan dan waktu eksperimen. Setiap cuplikan biasanya memerlukan waktu kurang lebih 15 menit pengukuran, sehingga untuk pengukuran 60 orang kurang lebih memerlukan waktu 900 menit. Karena sumber laser yang digunakan adalah laser CO₂, maka jenis gas hembus *bio-marker* yang memungkinkan untuk dideteksi adalah etilen, aseton dan amonia.

Pengukuran konsentrasi gas etilen, aseton dan amonia dari gas hembus manusia itu dilakukan melalui dua tahap eksperimen. Tahap pertama adalah mengkalibrasi alat terhadap gas standar etilen, aseton dan amonia. Hasil dari kalibrasi ini adalah diperolehnya matrik hubungan antara konsentrasi gas yang dicari terhadap normalisasi sinyal pada tiap garis laser yang dipilih, yaitu garis-garis laser 10P14 untuk etilen, 10P20 untuk aseton, dan 10R14 untuk amonia. Tahap kedua adalah pengukuran konsentrasi gas hembus pernafasan relawan. Hasil dari eksperimen kedua ini adalah melihat apakah ada perbedaan pola keluaran sinyal dari relawan sehat dan relawan sakit.

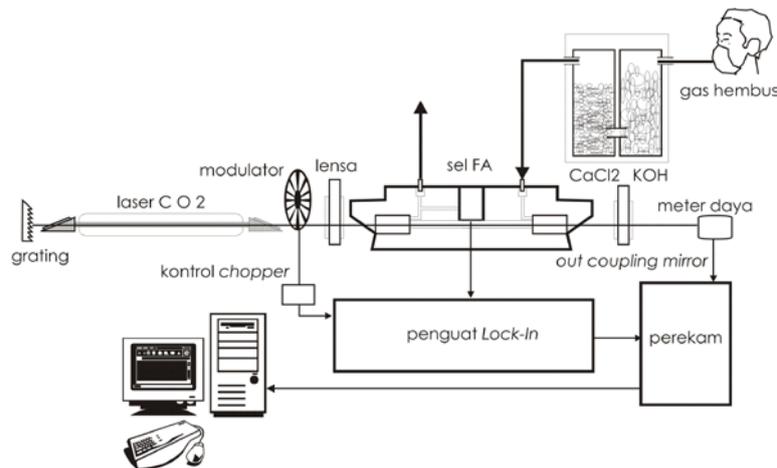
Matrik hubungan antara sinyal ternormalkan terhadap campuran gas dalam hal ini tiga jenis gas adalah:

$$\begin{pmatrix} (S/P)_1 \\ (S/P)_2 \\ (S/P)_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} K_{11} & K_{12} & K_{13} \\ K_{21} & K_{22} & K_{23} \\ K_{31} & K_{32} & K_{33} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} C_1 \\ C_2 \\ C_3 \end{pmatrix} \quad (1)$$

dengan $(S/P)_1$, $(S/P)_2$, dan $(S/P)_3$ masing-masing adalah normalisasi sinyal FA pada garis 10P14, 10P20 dan 10R14 untuk konsentrasi etilen (C_1), aseton (C_2), dan amonia (C_3). Sedangkan K_{ij} dengan faktor kalibrasi antara serapan garis laser i untuk konsentrasi gas j .

Analisa data dari hasil eksperimen dilakukan dengan menggunakan *software* origin untuk mendapatkan grafik kalibrasi untuk masing-masing gas standar etilen, aseton dan amonia pada seluruh serapan garis laser (pemayaran). Dari hasil grafik tersebut akan diperoleh data kalibrasi kesebandingan antara normalisasi sinyal pada suatu garis terhadap kosentrasi gas murni yang diuji (K_{ij}) untuk masing-masing gas etilen, aseton dan amonia. Setelah diperoleh matrik (K_{ij}) maka dengan menggunakan *software* Matlab akan diperoleh matrik invers dari (K_{ij}) yaitu $(K_{ij})^{-1}$. Dari matrik invers ini akan didapatkan hubungan konsentrasi gas campuran yang dicari terhadap nilai serapan gas pada garis yang diperoleh dari eksperimen, yaitu melalui hubungan

$$\begin{pmatrix} (C)_1 \\ (C)_2 \\ (C)_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} K_{11} & K_{12} & K_{13} \\ K_{21} & K_{22} & K_{23} \\ K_{31} & K_{32} & K_{33} \end{pmatrix}^{-1} \begin{pmatrix} (S/P)_1 \\ (S/P)_2 \\ (S/P)_3 \end{pmatrix} \quad (2)$$



Gambar 1 Skema pengambilan dan pengukuran gas hembus pernafasan orang dengan SFA laser CO₂.

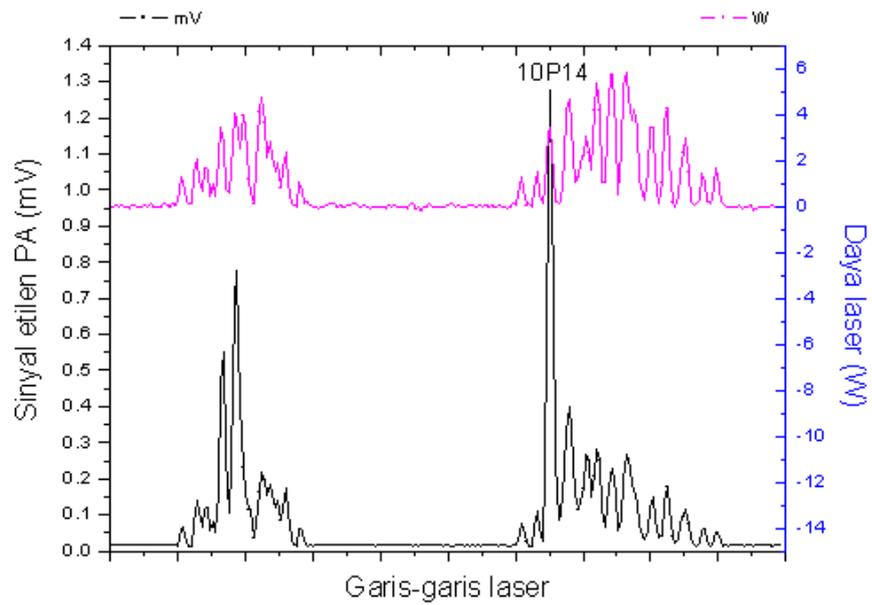
2. Hasil dan Pembahasan

Gambar (2) menunjukkan hasil efek pemayaran garis laser untuk etilen murni dengan konsentrasi 7 ppm pada sinyal yang terdeteksi. Nampak bahwa serapan tertinggi terjadi pada garis laser 10P14. Tinggi serapan gas etilen pada garis 10P14 dibandingkan dengan serapan pada garis-garis lain menjadi acuan dipilihnya normalisasi sinyal FA terhadap daya laser pada garis itu untuk dimasukkan dalam pers. (1).

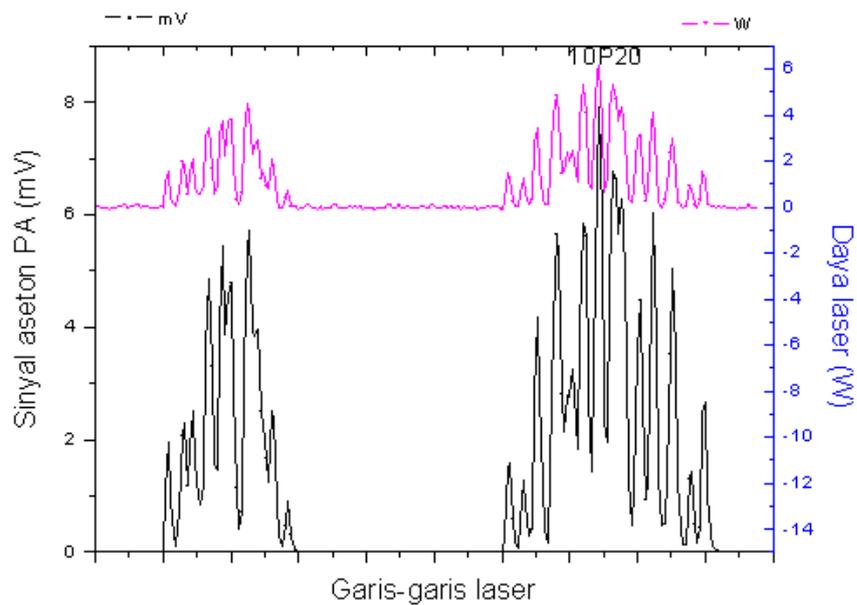
Gambar (3) menunjukkan hasil pemayaran garis laser untuk gas aseton murni dengan konsentrasi 7 ppm. Dengan cara yang sama dipilih normalisasi sinyal FA terhadap daya laser di garis 10P20 untuk dimasukkan pada pers. (1) untuk gas aseton, karena di garis itulah nampak terjadi serapan tertinggi.

Gambar (4) menunjukkan hasil pemayaran garis laser untuk gas amonia murni 7 ppm. Serapan terkuat nampak terjadi pada garis 10R14. Karena itulah pada garis ini dipilih sinyal ternomalkan yang dimasukkan dalam pers. (1) untuk amonia.

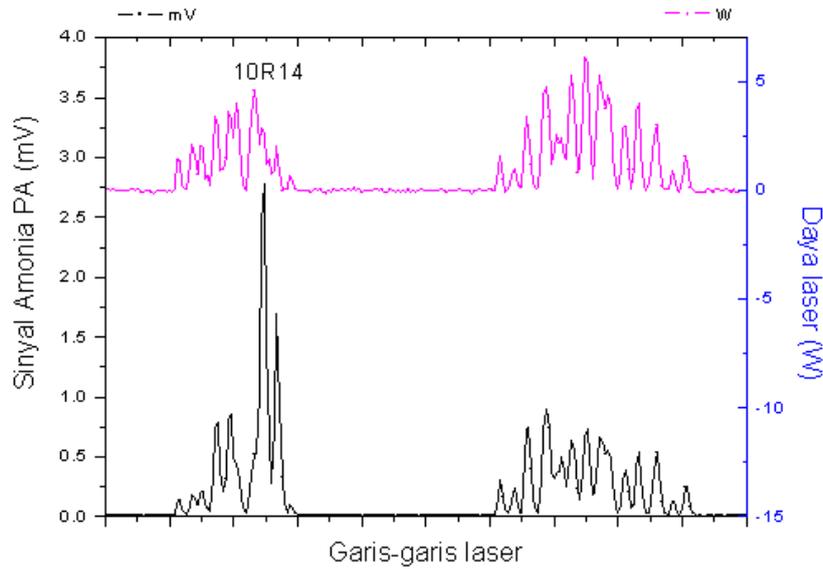
Dari ketiga gambar (2), (3) dan (4) serta dengan menggunakan persamaan gas multikomponen dengan menentukan terlebih dahulu penyerapan tertinggi yaitu 10P14 untuk etilen, 10P20 untuk aseton dan 10R14 untuk amonia, maka diperoleh matrik perhitungan konsentrasi untuk penentuan konsentrasi dari gas multi komponen dari emisi pernafasan gas hembus manusia sebagai berikut.



Gambar 2 Spektrum serapan garis laser CO₂ untuk gas standar C₂H₄ (Etilen) dengan konsentrasi 7 ppm.



Gambar 3 Spektrum serapan garis laser CO₂ untuk gas standar C₃H₆O (aseton) dengan konsentrasi 7 ppm.



Gambar 4 Spektrum serapan garis laser CO₂ untuk gas standar NH₃ (amonia) dengan konsentrasi 7 ppm.

$$\begin{pmatrix} C_{Etilen} (ppbv) \\ C_{Aseton} (ppbv) \\ C_{Amoniak} (ppbv) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 2,5 & -0,5 & -1,5 \\ -1 & 8,5 & -3 \\ -0,2 & -0,6 & 6,2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} (S/P)_{10P14} \\ (S/P)_{10P20} \\ (S/P)_{10R14} \end{pmatrix} \quad (3)$$

Dengan menggunakan matrik pada pers. (3) maka konsentrasi gas etilen, aseton dan amonia dari gas hembus pernafasan manusia dapat ditentukan.

Tabel (1) menunjukkan besar konsentrasi rata-rata gas *biomarker* etilen (C₂H₄) untuk berbagai kondisi relawan. Nampak dari tabel (1) tersebut hasil perbedaan nilai rata-rata untuk gas biomarker etilen baik karena perbedaan usia maupun kondisi kesehatan relawan.

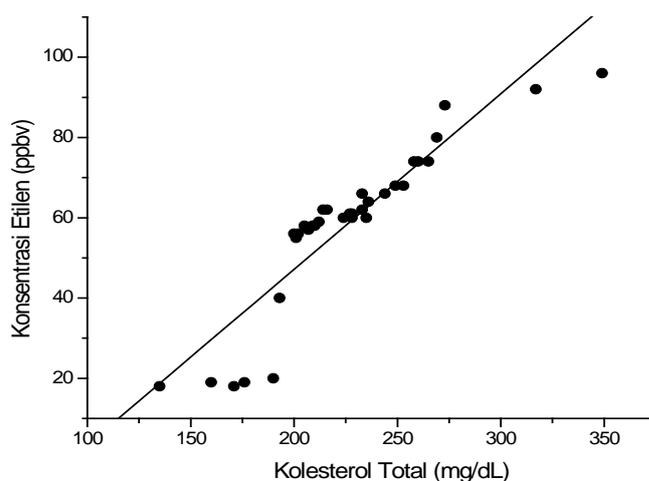
Gambar (5) menunjukkan grafik untuk memperlihatkan korelasi positif antara konsentrasi etilen hasil tes gas hembus pernafasan spektrometer fotoakustik (SFA) laser terhadap kolesterol total hasil tes darah lab. Prodia. Hasil korelasi positif ini ditunjukkan dengan nilai kelinearan $r^2 = 0,91027$ dan $P < 0.0001$ yang menunjukkan korelasi positif antara tingginya konsentrasi etilen pada pernafasan terhadap nilai kolesterol total yang ada pada darah.

Gambar (6) menunjukkan grafik untuk memperlihatkan korelasi positif antara konsentrasi etilen hasil tes gas hembus pernafasan SFA laser terhadap kolesterol total hasil tes darah lab. Prodia. Hasil korelasi positif ini ditunjukkan dengan nilai kelinearan $r^2 = 0,94498$ dan $P < 0.0001$ yang menunjukkan korelasi positif antara tingginya konsentrasi etilen pada pernafasan terhadap nilai kolesterol total yang ada pada darah.

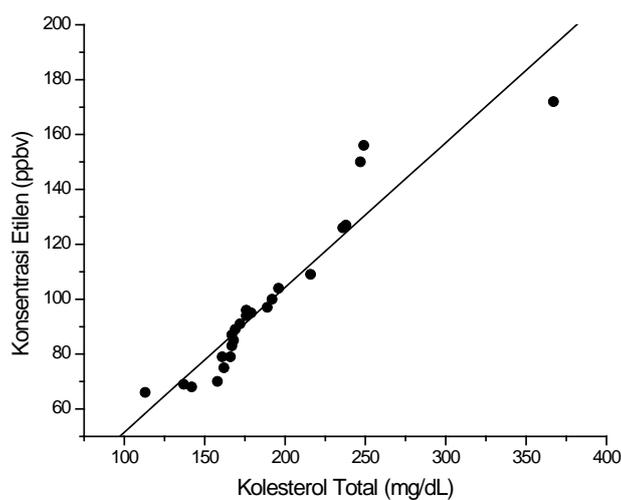
Adanya korelasi positif antara gas amonia dengan SGOT seperti yang ditunjukkan oleh grafik pada Gb. (5) dan (6) memberikan metode alternatif selain tes darah dalam membantu diagnosa dini penyakit seseorang, yaitu melalui pelacakan gas *biomarker* dari gas hembusan pernafasan.

Tabel 1 Tabel rata-rata konsentrasi gas biomarker etilen (C₂H₄) untuk berbagai kondisi relawan

Kondisi Relawan	Rata-rata Konsentrasi Etilen, C ₂ H ₄ (ppbv)
Sehat (usia < 30 th) (n = 18)	25 ± 51
Sehat (usia > 50 th) (n = 34)	59 ± 20
Pasien (n = 24)	99 ± 28



Gambar 5 Korelasi positif konsentrasi Etilen terhadap Kolesterol total relawan sehat (usia > 50 Tahun), dengan $r^2 = 0,91027$ dan $P < 0.0001$.



Gambar 6 Korelasi positif konsentrasi Etilen terhadap Kolesterol total relawan Pasien (usia > 50 Tahun), dengan $r^2 = 0,94498$ dan $P < 0.0001$.

KESIMPULAN

Telah berhasil dilakukan pendeteksian gas etilen (C_2H_4) dari pernafasan manusia dengan metode spektroskopi fotoakustik laser. Dari besar konsentrasi rerata gas etilen yang diemisikan dapat dibedakan kondisi relawan sehat usia muda (< 30 Tahun), relawan sehat usia tua (> 50 tahun) dan relawan pasien. Telah ditemukan pula korelasi positif antara besar konsentrasi etilen dari emisi pernafasan terhadap besar kolesterol total sebagai penanda adanya efek radikal bebas pada sel di dalam tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Harren, F.J.M., Berkelmans, H.W.A., Kuiper, K., Hekkert, S.L., Scheepers, P., Dekhuizen, R., Hollander, P., dan Parker, D.H.**, 1999, On-line photoacoustic detection of ethene in exhaled air as biomarker of ultraviolet radiation of the human skin. *App. Phys. Lett.*, 74:1761-1763.
- Miekisch, W., and Schubert, J.K.**, 2006, "From highly sophisticated analytical techniques to life-saving diagnostics: Technical developments in breath analysis", *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 25, No. 7.
- Sagai, M., dan Ichinose, T.**, 1980, Age related in lipid peroxidation as measured by ethane, ethylene, butane and pentane in respired gases of rats. *Life Sciences*, 27:731-738.
- Sen, C.K.**, 1995, Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of Applied Physiology*, 79(3):675-686.
- Zwart, L.L., Meerman, J.H.N., Commandeur, J.N.M., dan Vermeulen, N.P.E.**, 1998, Biomarkers of free radical damage, application in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(2):202-226.