



Analisis Spektrum Raman pada Sampel Darah untuk Keperluan Forensik

I. R. Awaludin, A.N. Costrada, Herman, N.S. Aminah, M. Djamal

Artikel ini telah dipresentasikan pada kegiatan Seminar Nasional Fisika (Sinafi XI)

Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung, Indonesia

16 Agustus 2025

Abstrak

Dalam dunia forensik, identifikasi waktu kejadian suatu peristiwa kriminal merupakan aspek yang sangat penting untuk membantu penyelidikan. Darah adalah salah satu bukti biologis yang paling umum ditemukan di Tempat Kejadian Perkara (TKP). Salah satu metode yang sering digunakan untuk mendapatkan informasi garis waktu kejadian adalah dengan menganalisis bercak darah yang ditemukan di TKP. Salah satu instrumen yang dapat digunakan untuk menganalisis bercak darah adalah dengan spektroskopi Raman. Kelebihan alat ini adalah tidak bersifat merusak sampel, pengukurannya cepat dan akurat, serta dapat dilakukan pada sampel padat, cair, dan gas. Data darah yang diteliti adalah dari 20 orang volunteer yang setiap orang memberi sekitar 50 μL darah. Darah tersebut ditetaskan pada substrat *aluminium foil*, dan diukur setiap seminggu sekali, selama 16 minggu. Data hasil pengukuran spektroskopi Raman dilakukan *preprocessing* terlebih dahulu, sehingga datanya dapat dianalisis lebih lanjut. Didapat pola perubahan bentuk spektrum darah pada sampel yang sama dengan waktu pengukuran yang berbeda. Perbedaan bentuk spektrum disebabkan oleh adanya perubahan struktur hemoglobin yang mengalami oksidasi dan terdenaturasi, dari bentuk deoxyHb menjadi hemichrome. Analisis lebih lanjut dilakukan metode *Principal Component Analysis* (PCA). Berdasarkan hasil analisis PCA didapat bahwa bercak darah dapat diklasifikasikan berdasarkan subjek individunya dan berdasarkan perbedaan umur bercak darah tersebut. Hal ini dapat dimanfaatkan untuk mencari informasi tertentu untuk kepentingan forensik.

Kata Kunci: Bercak Darah · PCA · Spektroskopi Raman · Umur Darah

PENDAHULUAN

Dalam dunia forensik, identifikasi waktu kejadian suatu peristiwa kriminal merupakan aspek yang sangat penting untuk membantu penyelidikan (Boyd dkk, 2011). Darah adalah salah satu bukti biologis yang paling umum ditemukan di Tempat Kejadian Perkara (TKP). Salah satu metode yang sering digunakan untuk mendapatkan informasi garis waktu kejadian adalah dengan menganalisis bercak darah yang ditemukan di TKP. Umur bercak darah dapat memberikan petunjuk tentang kapan kejahatan terjadi dan mempersempit ruang lingkup penyelidikan.

Banyak metode telah digunakan untuk memperkirakan usia bercak darah, seperti *real-time reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR), *electron paramagnetic resonance* (EPR), *high-performance liquid chromatography* (HPLC), RNA degradation, pengukuran konsentrasi oksigen menggunakan elektroda Clark, dan lain-lain. Metode-metode tersebut sulit

✉ I. R. Awaludin
10219058@mahasiswa.itb.ac.id

A.N. Costrada
30223007@mahasiswa.itb.ac.id

Herman
herman@itb.ac.id

N.S. Aminah
nina@itb.ac.id

M. Djamal
mitra@itb.ac.id

Physics Study Program, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia

How to Cite: Awaludin, I.R., Costrada, A.N., Herman, H., Aminah, N.S., & Djamal, M. (2025). Analisis Spektrum Raman pada Sampel Darah untuk Keperluan Forensik. *Prosiding Seminar Nasional Fisika*, 4(1), 201 - 208. <https://proceedings.fisikaupi.id/index.php/sinafi/>

digunakan di lapangan atau mudah merusak sampelnya, sehingga membatasi pengambilan informasi lebih lanjut (Smith dan Dent, 2005).

Salah satu metode pengukuran yang dapat digunakan untuk kasus ini adalah dengan Spektroskopi Raman, metode ini bersifat *non-destruktif* atau tidak merusak sampel, pengambilan datanya cepat, dan memiliki kemampuan untuk mengidentifikasi molekul spesifik seperti setiap molekul memiliki *fingerpint* spektral yang unik (Doty dkk, 2016).

METODE

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode deskriptif analitis. Data yang diperoleh adalah spektrum Raman dari sampel yang diukur. Data kemudian dianalisis untuk mendapatkan informasi terkait penuaan pada spektrum Raman bercak darah.

Spektrometer Raman yang digunakan adalah The MacroRAMTM Raman Spektrometer, dengan panjang gelombang laser 785 nm, yang dapat diatur dayanya dari 7-450 mW pada skala dari 0% (mati) hingga 100% (daya penuh). Cahaya dari sumber laser melewati *filter bandpass*, kemudian difokuskan pada sampel di tengah kompartemen sampel. Dalam penelitian ini, laser ditembakkan selama 20 detik dan sebanyak 10 kali. Data hamburan dari laser tersebut yang telah bertumbukan dengan sampel akan disimpan pada komputer dalam bentuk spektrum, dengan sumbu x nya nilai Raman *shift* dan sumbu y nya nilai intensitas cahaya. Setiap satu sampel darah dilakukan pengukuran sebanyak 3 sampai 5 kali pengulangan pada titik yang berbeda. Sampel yang sama tersebut disimpan, dan setelah satu minggu berlalu dilakukan pengukuran lagi seperti sebelumnya.

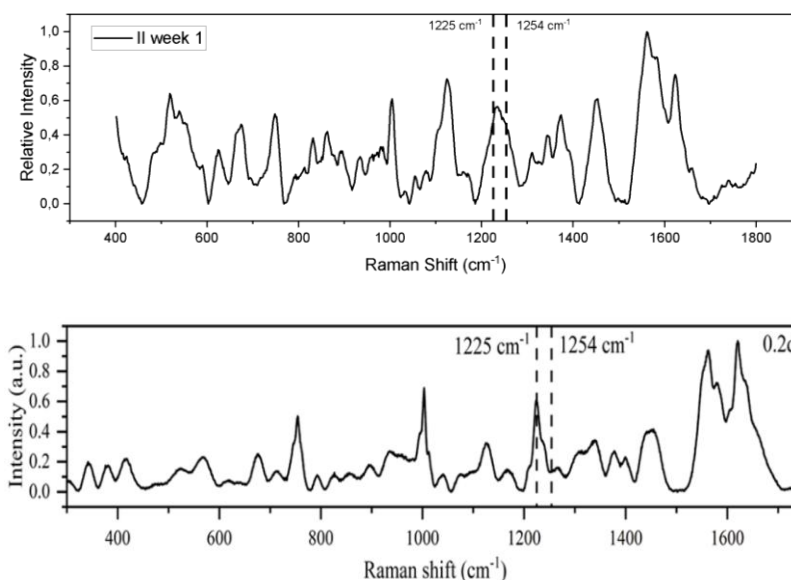
Data darah diperoleh dari 20 orang volunteer, darah diambil kira-kira sebanyak 50 μL dan langsung diletakan pada substrat aluminium foil. Setiap sampel dari tiap orang diukur setiap minggu selama 16 minggu. Setiap sampel tersebut diukur oleh spektroskopi Raman dan didapat data mentah atau *raw data*. Data mentah tersebut diolah atau di *preprocessing* terlebih dahulu untuk menampilkan spektrum yang sudah dikurangi *noise* nya dan lebih mudah untuk dianalisis. Tahap *preprocessing* tersebut berupa *cropping data*, *smothing data*, *baseline data*, dan *normalisasi data*. Sehingga data dari setiap sampel dapat dibandingkan dan dianalisis perbedaannya. Analisis lebih lanjut dilakukan *Principal Component Analysis* (PCA) untuk mengklasifikasikan setiap spektrum Raman tersebut.

Setiap spektrum Raman bercak darah yang didapat dari satu orang volunteer disatukan pada satu frame grafik pada Origin Lab. Dari sana dapat dilihat perubahan bentuk spektrum Raman seiring bertambahnya waktu. Selanjutnya menentukan nilai Raman *shift* yang memiliki perubahan puncak cukup signifikan dan sudah diketahui ada ikatan apa pada Raman *shift* tersebut berdasarkan tinjauan pustaka. Setelah itu, dicatat setiap nilai intensitasnya seiring bertambahnya waktu. Lalu plot data tersebut dengan sumbu y nya nilai intensitas relatif, dan sumbu x nya waktu bercak darah saat diukur (pengukuran setiap minggu). Raman *shift* yang akan digunakan untuk dianalisis lebih lanjut adalah Raman *shift* 1225 cm^{-1} dan 1254 cm^{-1} . Nilai intensitas pada Raman *shift* tersebut menunjukkan vibrasi yang terjadi pada ikatan pada struktur hemoglobin (Enejder dkk, 2002).

Untuk dapat mengklasifikasikan spektrum Raman pada waktu yang berbeda dan pada objek individu yang berbeda dilakukan metode PCA. Data yang digunakan untuk melakukan PCA ini adalah 3 data untuk setiap orang pada satu waktu tertentu. Pertama dilakukan PCA untuk spektrum Raman pada subjek individu yang sama tetapi pada waktu yang berbeda,

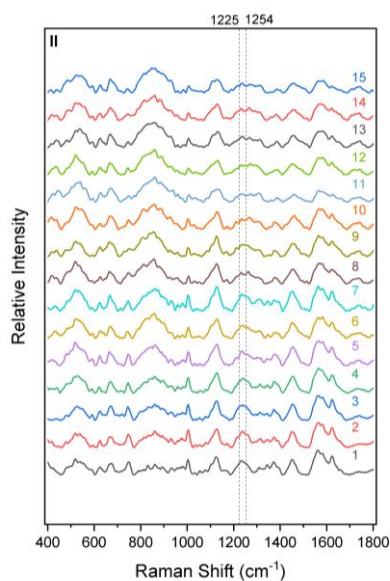
dengan beberapa variasi pengklasifikasian. Lalu yang kedua, dilakukan PCA untuk spektrum Raman pada waktu yang sama, yaitu minggu pertama pada subjek individu yang berbeda.

HASIL DAN PEMBAHASAN



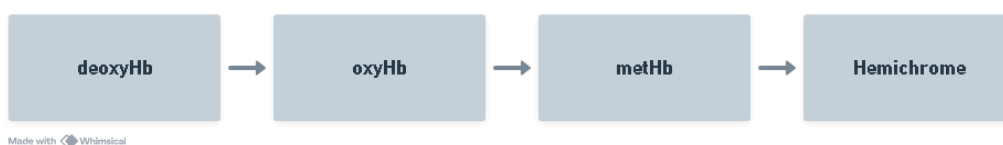
Gambar 1. Spektrum Raman Darah (Atkins dkk, 2017)

Gambar diatas adalah salah satu spektrum Raman yang didapat dari penelitian ini, gambar tersebut adalah spektrum Raman dari seseorang dengan inisial nama II dan diukur pada waktu seminggu setelah pengambilan darah. Walaupun struktur darah sangat kompleks tetapi dari gambar tersebut didapat spektrum yang memiliki kemiripan dengan spektrum darah dari referensi. Hal ini menunjukkan bahwa, spektrum dengan bentuk yang seperti ini adalah *fingerprint* dari sampel darah, walau pun ada beberapa puncak yang berbeda tinggi nya, tetapi pola puncaknya cukup mirip.



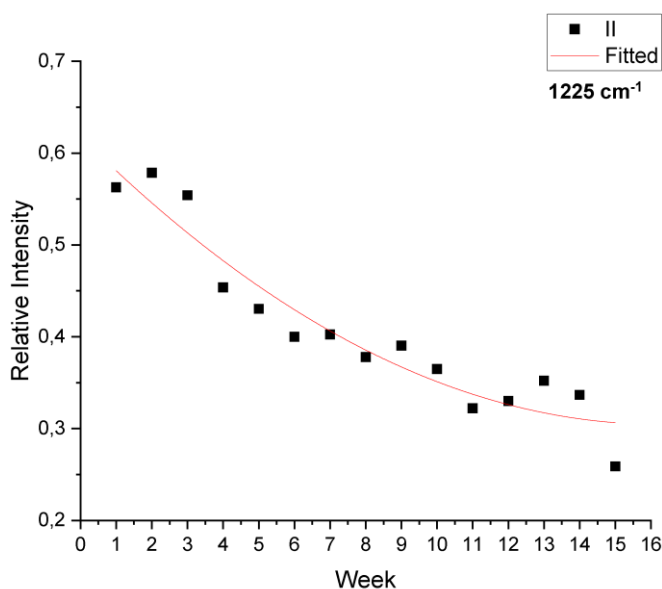
Gambar 2. Spektrum Raman darah sampel inisial II, selama 15 minggu

Gambar tersebut adalah 15 spektrum Raman dari sampel inisial nama II, untuk setiap minggu, sebanyak 15 minggu. Dari gambar tersebut dapat dilihat bahwa, ada perubahan nilai intensitas (puncak) yang cukup signifikan pada Raman *shift* 1225 cm^{-1} dan 1254 cm^{-1} (Takamura dkk, 2019). Untuk menentukan usia pada bercak darah dapat dilihat dari perubahan struktur hemoglobin nya. Hemoglobin dapat cukup dapat merepresentasikan keseluruhan darah karena hemoglobin terkandung sebanyak sepertiga dari sel darah merah. Dan sel darah merah terkandung sebanyak 45% dari keseluruhan darah. Selain itu juga, bentuk hemoglobin ketika sudah keluar dari dalam tubuh, akan mengalami perubahan bentuk seiring bertambahnya waktu. Hal ini terjadi karena ion besi pada hemoglobin cukup mudah teroksidasi oleh lingkungan. Bentuk hemoglobin berubah dari deoxyHb yang mengikat O_2 menjadi oxyHb, lalu ion Fe^{2+} yang tersisa pada oxyHb mengalami auto-oksidasi menjadi ion Fe^{3+} , struktur tersebut dinamakan metHb. metHb jika masi didalam tubuh, dapat kembali lagi menjadi deoxyHb dengan bantuan enzim *glutathione peroxidase*, namun kemampuan tersebut hilang. Seiring berjalannya waktu, dan terpapar oleh lingkungan, metHb berubah terdenaturasi menjadi HC. Ion besi pada HC tidak hanya mengikat atom O lagi, tetapi dapat mengikat juga distal histidine, sehingga struktur hemoglobin nya juga berubah (Zhang dkk, 2023).



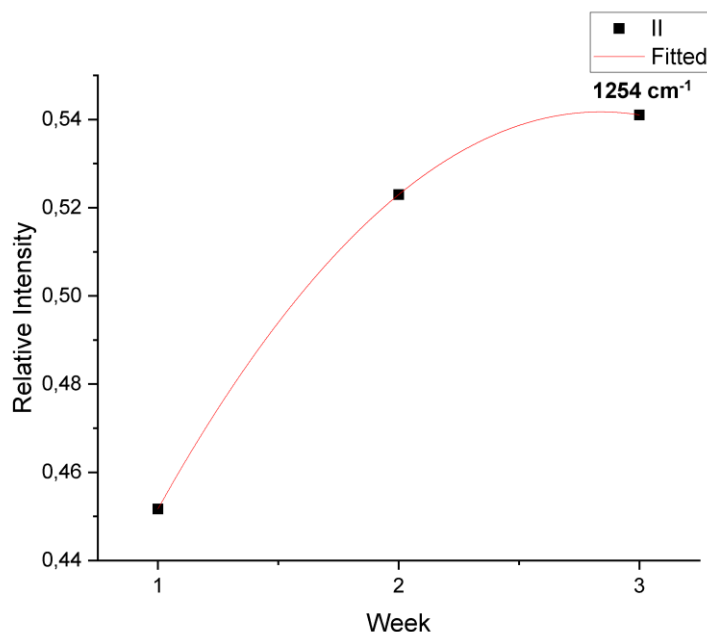
Gambar 3. Proses Perubahan Hemoglobin

Setiap perubahan bentuk pada hemoglobin, ikatan-ikatan antar atom penyusunnya juga akan berubah, hal ini mengakibatkan perubahan nilai hamburan Raman (Stokes dan anti-Stokes) yang ditangkap detektor. Sehingga puncak atau nilai intensitas yang muncul pada spektrum Raman nya juga ada yang berubah (Zadora dan Menzyk, 2018).



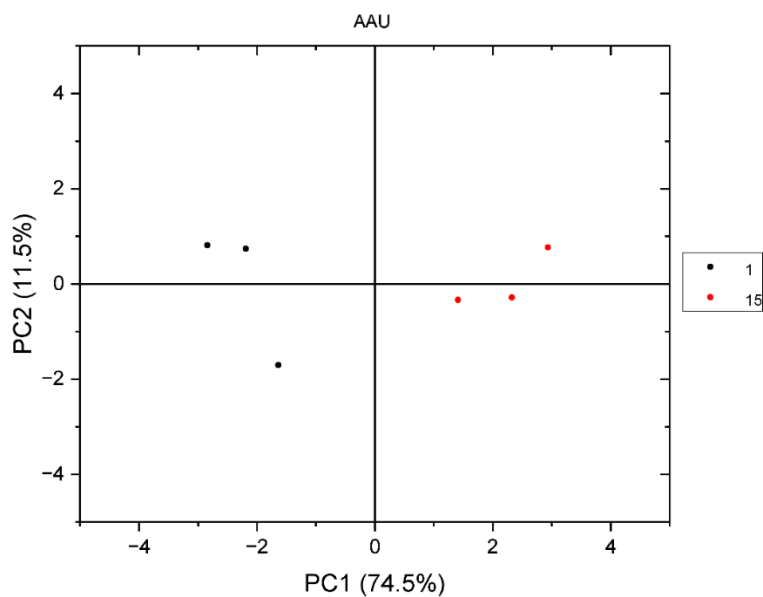
Gambar 4. Grafik perubahan nilai puncak pada Raman *shift* 1225 cm^{-1} pada sampel II

Dari gambar tersebut, dapat dilihat bahwa terjadi penurunan intensitas (nilai *peak*) pada Raman *shift* 1225 cm^{-1} . Menurut tabel II.1, pada sekitar Raman *shift* 1224 cm^{-1} ada vibrasi pada ikatan CmH deformasi (bengkok) yang menyangga CH₂ twisting mengalami peregangan. Lalu seiring berjalannya waktu intensitas di daerah ini menurun, yang menandakan bahwa ikatan tersebut menghilang, atau berubah ke dalam bentuk lain. Perubahan bentuk ikatan tersebut dapat disebabkan oleh karena adanya perubahan hemoglobin yang teroksidasi dan terpapar kondisi lingkungan sekitar, yang menyebabkan strukturnya juga berubah.



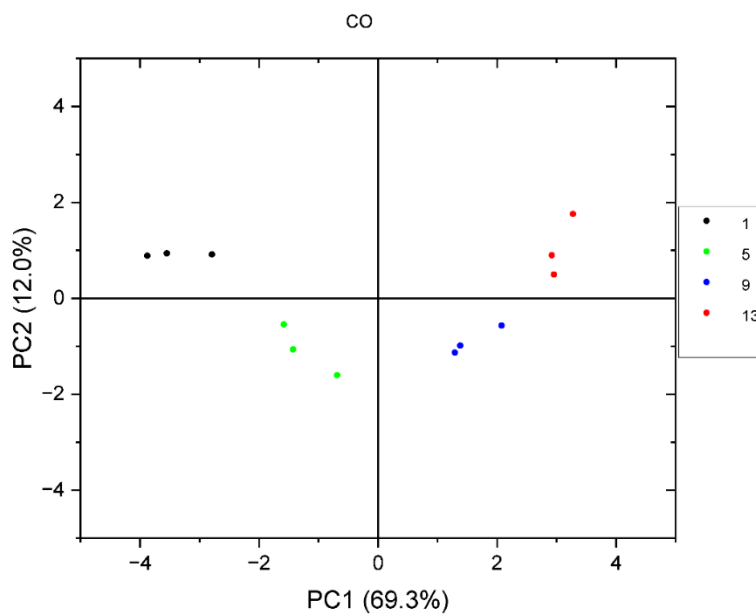
Gambar 5. Grafik perubahan nilai puncak pada Raman *shift* 1254 cm^{-1} pada sampel II

Dari gambar tersebut, dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan intensitas (nilai *peak*) pada Raman *shift* 1254 cm^{-1} yang cukup signifikan. Pada sekitar Raman *shift* 1254 cm^{-1} ada vibrasi pada ikatan C_mH deformasi (bengkok) yang mengalami peregangan. Lalu seiring berjalannya waktu intensitas di daerah ini meningkat, yang menandakan bahwa ikatan tersebut muncul atau bertambah, karena ada ikatan lain yang berubah menjadi ikatan tersebut. Perubahan bentuk ikatan tersebut dapat disebabkan oleh karena adanya perubahan hemoglobin yang teroksidasi dan terpapar kondisi lingkungan sekitar, yang menyebabkan strukturnya juga berubah. Ikatan yang muncul setelah bertambahnya umur bercak darah adalah adanya ikatan penyusun HC.

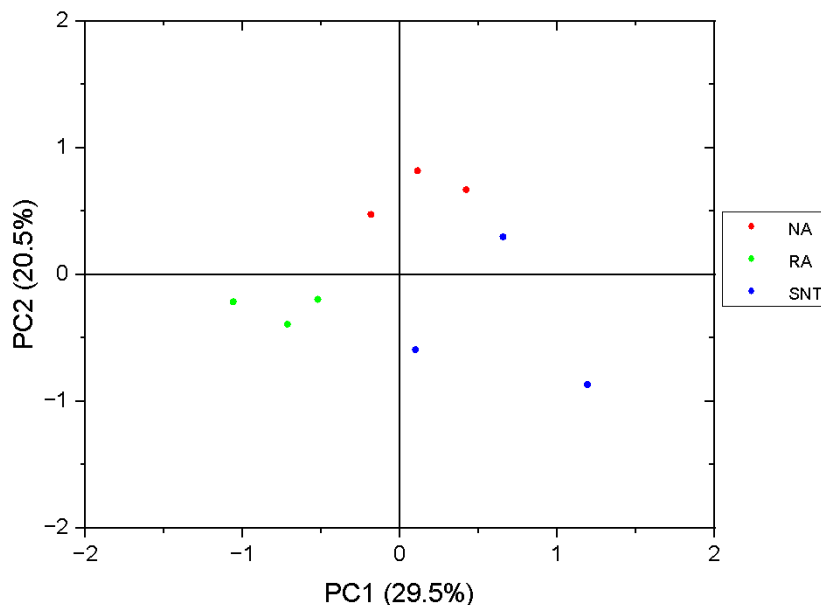


Gambar 6. Hasil PCA AAU minggu 1 dan 15

Selanjutnya, grafik dari hasil PCA dengan selisih 4 minggu sebagai berikut



Gambar 7. Hasil PCA CO minggu 1, 5, 9 dan 13



Gambar 8. PCA 3 orang NA, RA, dan SNT

Dari beberapa gambar grafik PCA dengan subjeknya terdiri dari 3 orang, dapat dilihat bahwa hasil PCA tersebut dapat mengklasifikasikan setiap 3 orang yang berbeda, dilihat dari persebaran titik titik pada grafik yang terpisah untuk warna yang berbeda. Misalkan pada gambar 24 memiliki nilai PC1 29,5% dan PC2 20,5% yang menandakan bahwa dengan 2 komponen utama tersebut dapat mewakili sebanyak 50% dari keseluruhan data spektrum Raman yang dilakukan PCA.

SIMPULAN

Terdapat perbedaan bentuk spektrum ketika dilakukan pengukuran bercak darah pada sampel yang sama di waktu yang berbeda. Bentuk spektrum pada pengukuran minggu pertama berbeda dengan bentuk spektrum pada minggu ke-15.

Didapat pola perubahan puncak pada Raman *shift* 1225 cm^{-1} , seiring bertambahnya waktu, nilai intensitasnya yang didapat semakin menurun. Sedangkan pada Raman *shift* 1254 cm^{-1} , seiring bertambahnya waktu, nilai intensitasnya meningkat. Kedua hal tersebut terjadi dikarenakan adanya perubahan struktur hemoglobin, dari deoxyHb menjadi oxyHb lalu menjadi metHb dan diakhir berubah menjadi HC (hemichrome). Perubahan struktur hemoglobin tersebut menyebabkan adanya vibrasi pada bentuk ikatan tertentu yang berubah menjadi vibrasi pada bentuk ikatan antar atom bentuk yang lain, sehingga menyebabkan adanya pergeseran puncak pada spektrum Raman bercak darah tersebut. Fenomena ini dapat digunakan untuk kepentingan forensik, dalam mencari tahu umur bercak darah pada suatu kejadian kejahatan atau kecelakaan tertentu.

Berdasarkan metode PCA, bercak darah dapat diklasifikasikan berdasarkan subjek individu yang berbeda dengan limit melakukan PCA pada 3 orang yang berbeda. Jika melakukan PCA pada subjek lebih dari 3 orang, akan didapat titik titik yang bersinggungan untuk orang yang berbeda. Lalu untuk klasifikasi berdasarkan waktu, metode PCA dapat mengklasifikasikan waktu atau umur bercak darah dengan limit sampai setiap selisih 4 minggu. Jika dilakukan

PCA pada waktu setiap 3 minggu akan didapat titik titik yang bersinggungan untuk minggu yang berbeda.

REFERENCES

- Atkins, C.G., Buckley, K., Blades, M.W. and Turner, R.F., 2017. Raman spectroscopy of blood and blood components. *Applied spectroscopy*, 71(5), pp.767-793.
- Boyd, S., Bertino, M.F. and Seashols, S.J., 2011. Raman spectroscopy of blood samples for forensic applications. *Forensic science international*, 208(1-3), pp.124-128.
- Doty, K.C., McLaughlin, G. and Lednev, I.K., 2016. A Raman “spectroscopic clock” for bloodstain age determination: the first week after deposition. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 408, pp.3993-4001.
- Enejder, A.M., Koo, T.W., Oh, J., Hunter, M., Sasic, S., Feld, M.S. and Horowitz, G.L., 2002. Blood analysis by Raman spectroscopy. *Optics letters*, 27(22), pp.2004-2006.
- Smith, E. and Dent, G., 2005. *Modern Raman spectroscopy: a practical approach*. John Wiley & Sons.
- Takamura, A., Watanabe, D., Shimada, R. and Ozawa, T., 2019. Comprehensive modeling of bloodstain aging by multivariate Raman spectral resolution with kinetics. *Communications Chemistry*, 2(1), p.115.
- Zadora, G. and Menzyk, A. (2018). In the pursuit of the holy grail of forensic science – Spectroscopic studies on the estimation of time since deposition of bloodstains. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Volume 105, 2018, Pages 137-165, ISSN 0165-9936, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.04.009>.
- Zhang, R., Wang, P., Chen, J., Tian, Y. and Gao, J., 2023. Age estimation of bloodstains based on Raman spectroscopy and chemometrics. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 290, p.122284.