

## LAPORAN PRAKTIKUM 3

### METABOLISME GLUKOSA, UREA, DAN TRIGLISERIDA (TEKNIK SPEKTROFOTOMETRI)

Nama : Atri Gustiana Gultom (147008017)  
Nini Chairani (147008021)

Tanggal Praktikum : 17 Maret 2015

#### Tujuan Praktikum :

- i) Mengerti prinsip-prinsip dasar mengenai teknik spektrofotometri (yaitu prinsip dasar alatnya, kuvet, standard, blanko, serta Hukum Beer-Lambert dll).
- ii) Latihan pembuatan dan penggunaan larutan stok
- iii) Kumpulkan data kadar glukosa, trigliserida dan urea darah
- iv) Latihan pembuatan dan interpretasi grafik
- v) Persiapan untuk praktikum Metabolisme II' di mana Anda akan mendesain dan melakukan percobaan yang berdasarkan teknik-teknik praktikum ini

#### Alat dan Bahan :

Tourniquet	Swab Alkohol	Tempat Pembuangan Yang Tajam
Jarum	EDTA	Tempat pembuangan yg kena darah
Pipet Mohr: (1ml & 5ml)	Urea	Kit pemeriksaan urea
Alat sentrifus klinik	Glukosa	Kit pemeriksaan glukosa
Alat spektrofotometer	Kuvet	Kit pemeriksaan trigliserida
Waterbath 37°C	Tabung reaksi dan rak	Pipet otomatis 10 $\mu$ l - 100 $\mu$ l
Pipet tetes	Kuvet plastik	alat spektrofotometer

**Cara Kerja :**

- **Siapkan larutan stok urea dan larutan stok glukosa**

**a. Larutan stok urea**

Siapkan 10mL larutan urea pada kadar 1,0 g/L (atau 100mg/dL)

$$\begin{aligned}\text{Jumlah bubuk urea yang dibutuhkan} &= 10 \times 1/1000 \\ &= 0,01 \text{ gram urea yang dibutuhkan}\end{aligned}$$

**b. Larutan stok glukosa**

Siapkan 50mL larutan glukosa 1,5 g/L (150 mg/dL)

$$\begin{aligned}\text{Jumlah bubuk glukosa yang dibutuhkan} &= 50 \times 1,5/1000 \\ &= 0,075 \text{ gram glukosa yang dibutuhkan}\end{aligned}$$

**Pengenceran untuk kurva kalibrasi (*Standard Curve*) dari larutan stok urea 100mg/dl tersebut:**

**a. UREA :**

1. Siapkan 20 mg/dl standard urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned}V_1 &= (V_2 \times C_2) / C_1 \\ &= (20 \times 10) / 100 \\ &= 2 \text{ ml}\end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 2ml larutan stok urea + 8ml aquades

2. Siapkan 30 mg/dl standard urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned}V_1 &= (V_2 \times C_2) / C_1 \\ &= (30 \times 10) / 100 \\ &= 3 \text{ ml}\end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 3ml larutan stok urea + 7ml aquades

3. Siapkan 40 mg/dl standard urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned}V_1 &= (V_2 \times C_2) / C_1 \\ &= (40 \times 10) / 100 \\ &= 4 \text{ ml}\end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 4ml larutan stok urea + 6ml aquades

4. Siapkan 50 mg/dl standard urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned} V1 &= (V2 \times C2) / C1 \\ &= (50 \times 10) / 100 \\ &= 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 5ml larutan stok urea + 5ml aquades

5. Siapkan 60 mg/dl standard urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned} V2 &= (V1 \times C1) / C2 \\ &= (60 \times 10) / 100 \\ &= 6 \text{ ml} \end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 6ml larutan stok urea + 4ml aquades

Protap pemeriksaan glukosa, protein dan urea menggunakan spektrofotometri :

	<b>GLUKOSA</b>	<b>PROTEIN</b>	<b>UREA</b>
volume reagensia kit	1000µl reagensia glukosa	1000µl reagensia	1000µl reagensia <b>A</b> , inkubasi pertama 1000µl reagensia <b>B</b>
volume sampel atau standard	10µl	10µl	10µl
konsentrasi standard	100mg/dl	200mg/dl	40mg/dl
periode dan temperatur inkubasi	10 min @ 37°C	10 min @ 37°C	5 min @ 25°C <b>** 2X**</b>
periksa pada λ =	500nm	530nm	600nm

**Persiapan panjang gelombang max :**

**Urea :**

- Untuk melakukan pemeriksaan absorbansi urea menggunakan spektrofotometri harus dibuat terlebih dahulu larutan blanko dan larutan standar urea berdasarkan petunjuknya pada kit urea.

- Menyiapkan 40 mg/dl standard urea dan tentukan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV/Vis dengan  $\lambda$  : 500-700 nm
- Menggunakan panjang gelombang maksimum ini untuk penentuan absorbansi kurva standard dan sampel

**Pengenceran untuk kurva kalibrasi (*Standard Curve*) dari larutan stok glukosa 150mg/dl**

**b. GLUKOSA :**

1. Siapkan 80 mg/dl standard glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned} V_2 &= (V_1 \times C_1) / C_2 \\ &= (80 \times 10) / 150 \\ &= 5,33 \text{ ml} \end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 5,33ml larutan stok urea + 4,67ml aquades

2. Siapkan 90 mg/dl standard glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned} V_2 &= (V_1 \times C_1) / C_2 \\ &= (90 \times 10) / 150 = 6 \text{ ml} \end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 6ml larutan stok urea + 4ml aquades

3. Siapkan 100 mg/dl standard glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned} V_2 &= (V_1 \times C_1) / C_2 \\ &= (100 \times 10) / 150 \\ &= 6,67 \text{ ml} \end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 6,67ml larutan stok urea + 3,33ml aquades

4. Siapkan 110 mg/dl standard glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned} V_2 &= (V_1 \times C_1) / C_2 \\ &= (110 \times 10) / 150 \\ &= 7,33 \text{ ml} \end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 7,33ml larutan stok urea + 2,67ml aquades

5. Siapkan 120 mg/dl standard glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$\begin{aligned} V_2 &= (V_1 \times C_1) / C_2 \\ &= (120 \times 10) / 150 \\ &= 8 \text{ ml} \end{aligned}$$

✓ Dibutuhkan 8ml larutan stok urea + 2ml aquades

## Persiapan panjang gelombang max :

### Glukosa :

- Menyiapkan 100 mg/dl standard glukosa dan tentukan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV/Vis dengan  $\lambda$  : 400-600 nm
- Menggunakan panjang gelombang maksimum ini untuk penentuan absorbansi kurva standard dan sampel

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Panjang gelombang maksimal larutan standar urea 40ml menggunakan spektrofotometri yaitu  $\lambda = 689,5$  nm. Dengan menggunakan panjang gelombang tersebut diatas, maka dilakukan pemeriksaan absorbansi pada setiap larutan standar urea yang telah dibuat. Sehingga diperoleh data pada tabel dibawah ini :

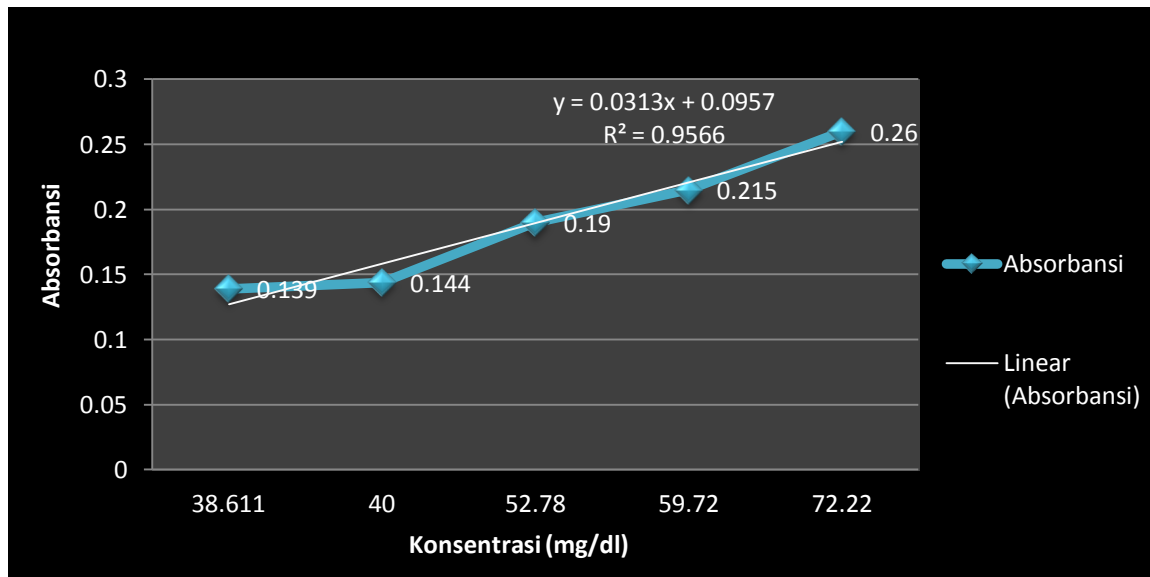
### 1. Pemeriksaan Urea

**Tabel 1.1. Data hasil kalibrasi larutan standar glukosa**

Konsentrasi yang diinginkan [mg/dl]	Absorbansi	Konsentrasi yang didapat [mg/dl]
20	0,139	38,611
30	0,260	72,22
40	0,144	40
50	0,215	59,72
60	0,190	52,78
Blanko	0	0

Berdasarkan data hasil pada table 1.1. di atas dapat dibuat grafik hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi larutan tiap kuvet.

**Gambar 1.1.** Kurva data kalibrasi larutan standard urea



Untuk mencari konsentrasi yang di dapat pada larutan standar digunakan rumus:

$$C \text{ larutan} = \frac{A \text{ larutan}}{A \text{ Standar}} \times C \text{ Standar}$$

Dimana:

C = Konsentrasi larutan

A = Absorbansi

Larutan standar yang digunakan adalah larutan dengan konsentrasi 40 mg/dl dengan nilai absorbansi 0,144. Panjang gelombang pada larutan dengan konsentrasi 40 mg/dl dijadikan sebagai patokan untuk mengukur panjang gelombang pada larutan urea yang lain, yaitu dengan konsentrasi 20 mg/dl, 30 mg/dl, 50 mg/dl, dan 60 mg/dl.

Berdasarkan grafik di atas dapat dilihat bahwa garis persamaan regresi linear yang ditunjukkan oleh persamaan  $y = 0.031x + 0.095$  dan nilai  $R^2 = 0.956$ . Dimana garis tersebut hampir berbanding lurus dengan kurva konsentrasi glukosa percobaan. Kurva konsentrasi standard menunjukkan adanya korelasi positif yang ditunjukkan dengan nilai Nilai  $R^2$  yang hampir mendekati 1, artinya ada hubungan yang hampir sangat kuat, dimana peningkatan nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan. Semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai absorbansi. Nilai absorbansi hampir berbanding lurus dengan konsentrasi yang diperoleh. Meskipun kurva konsentrasi glukosa percobaan tidak membentuk

garis lurus sempurna seperti persamaan gradient diatas, tetapi kurva membentuk garis eksponensial yang hampir mendekati bentuk gradien garis lurus. Artinya, hasil yang diperoleh hampir sesuai dengan hukum Lambert Beer.

Konsentrasi sampel dalam suatu larutan dapat ditentukan dengan rumus yang diturunkan dari hukum Lambert Beer ( $A = a \cdot b \cdot c$  atau  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ ). Namun dalam praktikum kali digunakan cara lain untuk menentukan konsentrasi suatu spesi yang ada dalam suatu larutan yakni dengan *cara kurva kalibrasi*. Cara ini sebenarnya masih tetap bertumpu pada hukum Lambert Beer yakni **absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi**. Jadi, berdasarkan hukum Lambert Beer kurva konsentrasi yang diperoleh seharusnya berbanding lurus dengan konsentrasi membentuk gradient garis lurus.

Kondisi berikut adalah keabsahan hukum Beer. Cahaya yang digunakan harus monokromatis, bila tidak demikian maka akan diperoleh dua nilai absorbansi pada dua panjang gelombang. Hukum tersebut tidak diikuti oleh larutan yang pekat. Konsentrasi lebih tinggi untuk beberapa garam tidak berwarna justru mempunyai efek absorbansi yang berlawanan. Larutan yang bersifat memancarkan pendar-flour atau suspensi tidak selalu mengikuti hukum Beer. Jika selama pengukuran pada larutan encer terjadi reaksi kimia seperti polimerisasi, hidrolisis, asosiasi, atau disosiasi, maka hukum Beer tidak berlaku.

Jadi, berdasarkan uraian di atas urea memiliki salah satu ciri di atas sehingga tidak didapatkan kurva kalibrasi yang membentuk gradient garis lurus.

Berdasarkan data hasil di atas, maka dapat disimpulkan bahwa:

- Kurva konsentrasi standard urea hampir memenuhi hukum Lambert Beer
- Semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai absorbansi.
- Beberapa hal yang menyebabkan ketidaksesuaian hasil adalah:
  - Kesalahan praktikan dalam proses pembuatan larutan dan pengenceran
  - Larutan yang digunakan kurang homogen
  - Terjadi reaksi terjadi reaksi kimia seperti polimerisasi, hidrolisis, asosiasi, atau disosiasi akibat larutan yang telah tercampur regensia terlalu lama dibiarkan dibiarkan di udara terbuka.

## 2. Pemeriksaan Glukosa

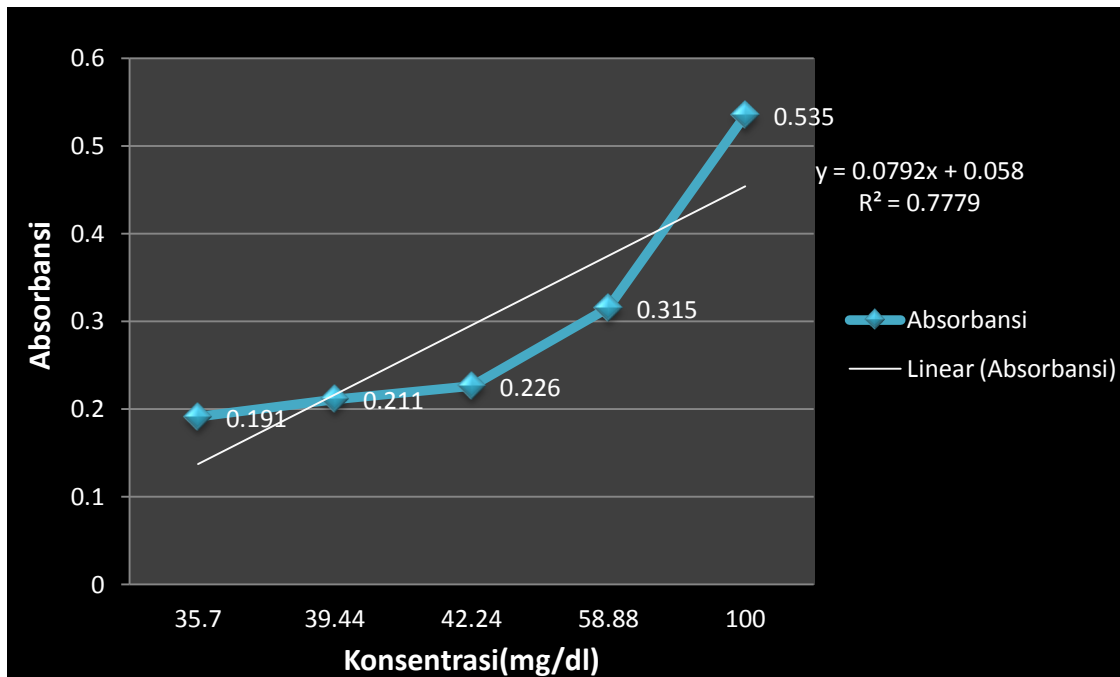
### a. Larutan glukosa berdasarkan konsentrasi yang diminta.

Panjang gelombang maksimal menggunakan larutan standar glukosa 100 ml yaitu  $\lambda = 479,0$  nm. Dengan menggunakan panjang gelombang diatas dilakukan pemeriksaan absorbansi pada setiap larutan standar urea yang telah dibuat. Dan diperoleh datanya pada tabel dibawah ini :

Tabel 2.1. Data hasil kalibrasi larutan standar glukosa

Konsentrasi yang diinginkan [mg/dl]	Absorbansi	Konsentrasi yang didapat [mg/dl]
80	0,191	35,70
90	0,211	39,44
100	0,535	100
110	0,315	58,88
120	0,226	42,24
Blanko	0	0

Gambar 2.1. Kurva hasil kalibrasi larutan standar glukosa



Untuk mencari konsentrasi yang di dapat pada larutan standar digunakan rumus:

$$C \text{ larutan} = \frac{A \text{ larutan}}{A \text{ Standar}} \times C \text{ Standar}$$

Dimana:

C = Konsentrasi larutan

A = Absorbansi

Larutan standar yang digunakan adalah larutan dengan konsentrasi 100 mg/dl dengan nilai absorbansi 0,535. Panjang gelombang pada larutan dengan konsentrasi 100 mg/dl dijadikan sebagai patokan untuk mengukur panjang gelombang pada larutan glukosa yang lain, yaitu dengan konsentrasi 80 mg/dl, 90 mg/dl, 110 mg/dl, dan 120 mg/dl.

Berdasarkan grafik di atas dapat dilihat bahwa garis persamaan regresi linear yang ditunjukkan oleh persamaan  $y = 0.079x + 0.058$  dan nilai  $R^2 = 0.777$  hampir berbanding lurus dengan kurva konsentrasi glukosa percobaan. Kurva konsentrasi standard menunjukkan adanya korelasi positif yang ditunjukkan dengan nilai Nilai  $R^2$  yang hampir mendekati 1, artinya ada hubungan yang hampir sangat sempurna, dimana peningkatan nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan. Dimana Semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai absorbansi. Nilai absorbansi hampir berbanding lurus dengan konsentrasi yang diperoleh. Meskipun kurva konsentrasi glukosa percobaan tidak membentuk garis lurus sempurna seperti persamaan gradient diatas, tetapi kurva membentuk garis eksponensial yang hampir mendekati bentuk gradien garis lurus. Artinya, hasil yang diperoleh hampir sesuai dengan hukum Lambert Beer.

Kondisi berikut adalah keabsahan hukum Beer. Cahaya yang digunakan harus monokromatis, bila tidak demikian maka akan diperoleh dua nilai absorbansi pada dua panjang gelombang. Hukum tersebut tidak diikuti oleh larutan yang pekat. Konsentrasi lebih tinggi untuk beberapa garam tidak berwarna justru mempunyai efek absorbansi yang berlawanan. Larutan yang bersifat memancarkan pendar-flour atau suspense tidak selalu mengikuti hukum Beer. Jika selama pengukuran pada larutan encer terjadi reaksi kimia seperti polimerisasi, hidrolisis, asosiasi, atau disosiasi, maka hukum Beer tidak berlaku. Jadi, berdasarkan uraian di atas urea memiliki salah satu ciri di atas sehingga tidak didapatkan kurva kalibrasi yang membentuk gradient garis lurus.

Berdasarkan data hasil di atas dapat disimpulkan bahwa:

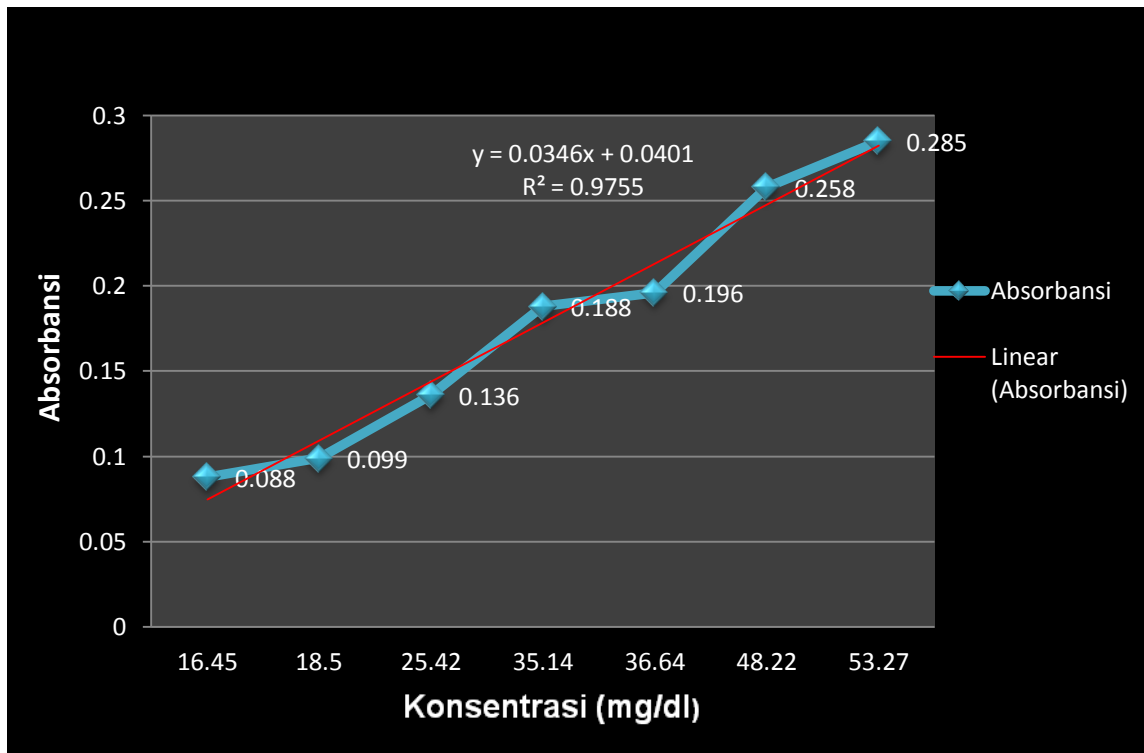
- Kurva konsentrasi standard urea hampir memenuhi hukum Lambert Beer
- Semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai absorbansi.
- Beberapa hal yang menyebabkan ketidaksesuaian hasil adalah:
  - Kesalahan praktikan dalam proses pembuatan larutan dan pengenceran
  - Larutan yang digunakan kurang homogen
  - Terjadi reaksi terjadi reaksi kimia seperti polimerisasi, hidrolisis, asosiasi, atau disosiasi akibat larutan yang telah tercampur regensia terlalu lama dibiarkan dibiarkan di udara terbuka.

### Larutan pengenceran glukosa untuk faktor 4, 8, 16, 32, 64, dan 128

**Tabel 2.2.** Data Hasil pengukuran kalibrasi pengukuran larutan sampel pengenceran glukosa *double dilution* ( Konsentrasi stok glukosa 150 mg/dl)

<b>Faktor</b>	<b>Konsentrasi yang diprediksi (mg/dl)</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>Konsentrasi yang didapat (mg/dl)</b>
2	75	0,136	25,42
4	37.5	0,088	16,45
8	18.75	0,285	53,27
16	9.375	0,258	48,22
32	4,687	0,188	35,14
64	2.343	0,196	36,64
128	1.17	0,099	18,50

**Gambar 2.2.** Kurva Hasil pengukuran larutan sampel glukosa double dillution



Grafik pemeriksaan Absorbansi konsentrasi glukosa menunjukkan hasil yang kurang sesuai dengan hukum *Beer-Lambert*  $A = \epsilon dc$ . Nilai absorbansi yang didapat hampir berbanding lurus dengan konsentrasi glukosa yang diperiksa, terlihat pada beberapa titik nilai absorbansi menyentuh gradien garis lurus.

Berdasarkan grafik di atas dapat dilihat bahwa garis persamaan regresi linear yang ditunjukkan oleh persamaan  $y = 0.034x + 0.040$  dan nilai  $R^2 = 0.975$  hampir berbanding lurus dengan kurva konsentrasi glukosa percobaan. Kurva konsentrasi standard menunjukkan adanya korelasi positif yang ditunjukkan dengan nilai Nilai  $R^2$  yang hampir mendekati 1, artinya ada hubungan yang hampir sangat sempurna, dimana peningkatan nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan. Semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai absorbansi. Nilai absorbansi hampir berbanding lurus dengan konsentrasi yang diperoleh. Meskipun kurva konsentrasi glukosa percobaan tidak membentuk garis lurus sempurna seperti persamaan gradient diatas, tetapi kurva membentuk garis eksponensial yang hampir mendekati bentuk gradien garis lurus. Artinya, hasil yang diperoleh hampir sesuai dengan hukum Lambert Beer.

Nilai absorbansi yang kurang linear ini disebabkan kurang homogenya larutan pada kuvet yang mempengaruhi konsentrasi larutan. Volume larutan glukosa yang dibutuhkan sangat sedikit yaitu 10 µl sehingga memungkinkan tidak bercampur seluruhnya dengan reagen pada saat memasukkan ke dalam tabung reaksi larutan, selain itu waktu persiapan sampel di kuvet dengan pengukuran absorbansi di spektrofotometer juga lama yang mengakibatkan larutan kurang homogen. Kesalahan juga dapat terjadi pada saat pengkalibrasian spektrofotometer yang digunakan.

Berdasarkan data hasil di atas dapat disimpulkan bahwa:

- Kurva konsentrasi standard urea hampir memenuhi hukum Lambert Beer
- Semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai absorbansi.
- Beberapa hal yang menyebabkan ketidaksesuaian hasil adalah:
  - Kesalahan praktikan dalam proses pembuatan larutan dan pengenceran
  - Larutan yang digunakan kurang homogen
  - Terjadi reaksi terjadi reaksi kimia seperti polimerisasi, hidrolisis, asosiasi, atau disosiasi akibat larutan yang telah tercampur reagensia terlalu lama dibiarkan dibiarkan di udara terbuka.

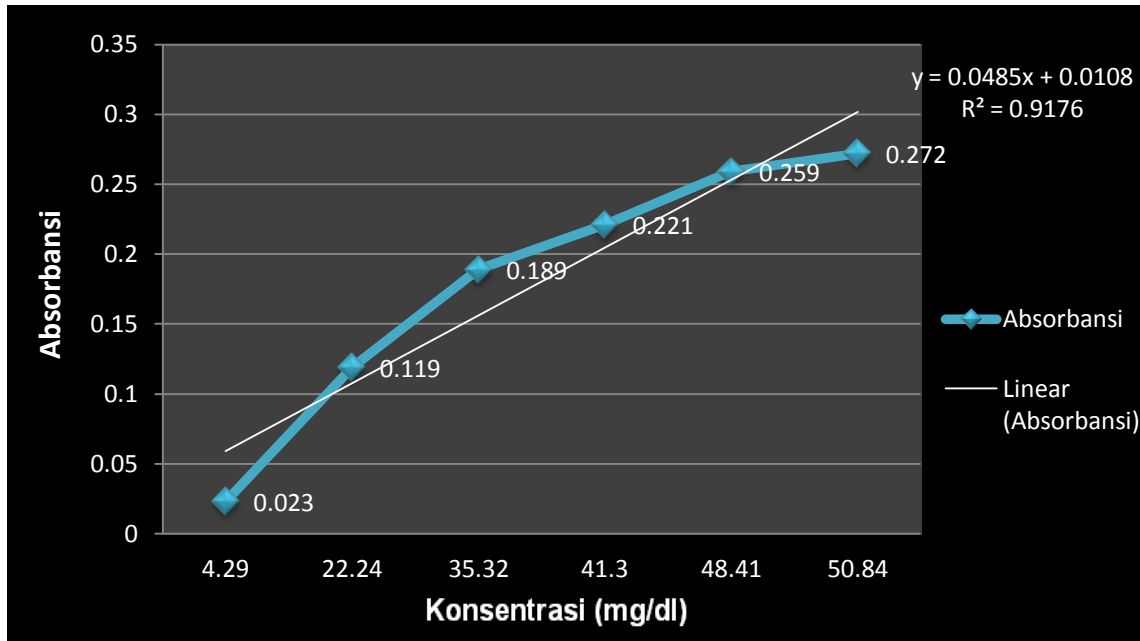
**b. Larutan pengenceran glukosa untuk pengenceran double dilution 0,1X; 0,01X; 0,001X, 0,3X, 0,03X, dan 0,003X.**

**Tabel 2.3.** Data hasil pengukuran kalibrasi larutan sampel pengenceran glukosa Glukosa *desimal dilution* (Konsentrasi stok glukosa 150 mg/dl)

<b>Pengenceran</b>	<b>Faktor</b>	<b>Konsentrasi yang diprediksi (mg/dl)</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>Konsentrasi yang didapat (mg/dl)</b>
0,1X	10	15	0,259	48,41
0,01X	100	1,5	0,221	41,30
0,001X	1000	0,15	0,023	4,29
0,3X	3	50.0	0,119	22,24
0,03X	30	5.0	0,272	50,84

0,003X	300	0,5	0,189	35,32
--------	-----	-----	-------	-------

**Gambar 2.3.** Kurva hasil pengukuran larutan sampel pengenceran glukosa decimal dilution



Berdasarkan grafik di atas dapat dilihat bahwa garis persamaan regresi linear yang ditunjukkan oleh persamaan  $y = 0.048x + 0.010$  dan nilai  $R^2 = 0.917$  hampir berbanding lurus dengan kurva konsentrasi glukosa percobaan. Kurva konsentrasi standard menunjukkan adanya korelasi positif yang ditunjukkan dengan nilai Nilai  $R^2$  yang hampir mendekati 1, artinya ada hubungan yang hampir sangat sempurna, dimana peningkatan nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan. Semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai absorbansi. Nilai absorbansi hampir berbanding lurus dengan konsentrasi yang diperoleh. Meskipun kurva konsentrasi glukosa percobaan tidak membentuk garis lurus sempurna seperti persamaan gradient diatas, tetapi kurva membentuk garis eksponensial yang hampir mendekati bentuk gradien garis lurus. Artinya, hasil yang diperoleh hampir sesuai dengan hukum Lambert Beer.

Nilai absorbansi hampir berbanding lurus dengan konsentrasi yang diperoleh. Meskipun kurva konsentrasi glukosa percobaan tidak membentuk garis lurus seperti persamaan gradient

diatas, tetapi kurva membentuk garis eksponensial yang hampir mendekati bentuk gradien garis lurus. Artinya, hasil yang diperoleh hampir sesuai dengan hukum Lambert Beer.

Nilai absorbansi yang kurang linear ini disebabkan kurang homogenya larutan pada kuvet yang mempengaruhi konsentrasi larutan. Volume larutan glukosa yang dibutuhkan sangat sedikit yaitu 10 µl sehingga memungkinkan tidak bercampur seluruhnya dengan reagen pada saat memasukkan ke dalam tabung reaksi larutan, selain itu waktu persiapan sampel di kuvet dengan pengukuran absorbansi di spektrofotometer juga lama yang mengakibatkan larutan kurang homogen. Kesalahan juga dapat terjadi pada saat pengkalibrasian spektrofotometer yang digunakan.

Berdasarkan data hasil di atas dapat disimpulkan bahwa:

- Kurva konsentrasi standard urea hampir memenuhi hukum Lambert Beer
- Semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai absorbansi.
- Beberapa hal yang menyebabkan ketidaksesuaian hasil adalah:
  - Kesalahan praktikan dalam proses pembuatan larutan dan pengenceran
  - Larutan yang digunakan kurang homogen
  - Terjadi reaksi terjadi reaksi kimia seperti polimerisasi, hidrolisis, asosiasi, atau disosiasi akibat larutan yang telah tercampur reagensia terlalu lama dibiarkan dibiarkan di udara terbuka.

### 3. Pemeriksaan Plasma darah

**Tabel 3.1.** Perbandingan Konsentrasi sampel Glukosa dan Urea yang dihitung pada grafik kalibrasi dan yang dihitung dengan rumus pada reagensia test kit

<b>Pemeriksaan Sampel serum plasma</b>	<b>Absorbansi pada grafik kalibrasi</b>	<b>Konsentrasi pada grafik kalibrasi</b>	<b>Absorbansi pada rumus reagensia test kit</b>	<b>Konsentrasi pada reagensia test kit</b>
<b>Glukosa ( kirana)</b>	0,197	36,82 mg/dl	0,225	90,36 mg/dl
<b>Urea ( yunita)</b>	0,311	86,38 mg/dl	0,167	127,23 mg/dl

**Tabel 3.2.** Perbandingan Konsentrasi sampel Glukosa dan Urea yang dihitung pada grafik kalibrasi dan yang dihitung dengan rumus pada reagensia test kit

<b>Pemeriksaan Sampel pengenceran Glukosa</b>	<b>Absorbansi pada grafik kalibrasi</b>	<b>Konsentrasi pada grafik kalibrasi</b>	<b>Absorbansi pada rumus reagensia test kit</b>	<b>Konsentrasi pada reagensia test kit</b>
0,1X	0,259	48,41	0,306	122,89
0,01X	0,221	41,30	0,246	98,79
0,001X	0,023	4,29	0,023	9,23
0,3X	0,119	22,24	0,208	83,53
0,03X	0,272	50,84	0,218	87,55
0,003X	0,189	35,32	0,234	93,98
Faktor 2	0,136	25,42	0,215	86,35
Faktor 4	0,088	16,45	0,203	81,53
Faktor 8	0,285	53,27	0,262	105,22
Faktor 16	0,258	48,22	0,317	127,31
Faktor 32	0,188	35,14	0,243	97,59
Faktor 64	0,196	36,64	0,242	97,19
Faktor 128	0,099	18,50	0,114	45,78

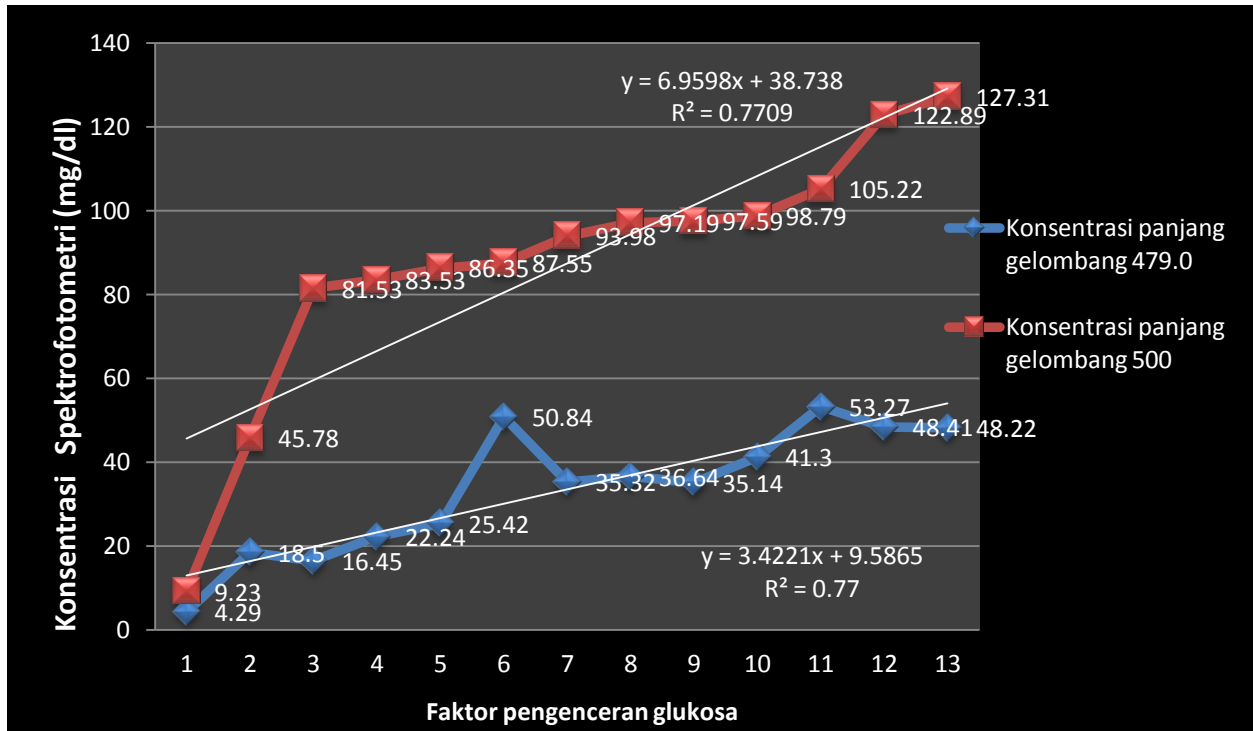
Menghitung konsentrasi sampel glukosa dengan grafik kalibrasi menggunakan panjang gelombang maksimal larutan 100mg/dl yaitu  $\lambda = 479,0$  nm sedangkan dengan rumus reagensia pada test kit menggunakan panjang gelombang  $\lambda = 500$  nm.

Rumus yang digunakan yaitu

$$C \text{ sampel} = (A \text{ sampel} / A \text{ standar}) \times C \text{ standar}$$

Dimana : C = konsentrasi larutan

A = Absorbansi



**Gambar 3.** Kurva hasil pengukuran konsentrasi-absorbansi larutan sampel glukosa menggunakan panjang gelombang  $\lambda = 479$  nm (ditunjukkan dengan garis grafik warna biru) dan panjang gelombang  $\lambda = 500$  nm (ditunjukkan dengan garis grafik warna merah)

Berdasarkan grafik yang diperoleh, pengukuran konsentrasi-absorbansi larutan sampel glukosa menggunakan  $\lambda = 479$  nm diperoleh nilai  $y = 3.422x + 9.586$  dan  $R^2 = 0.77$  menunjukkan bahwa ada hubungan korelasi positif antara absorbansi dengan konsentrasi dengan nilai  $R^2$  mendekati 1 (0.77).

Berdasarkan grafik yang diperoleh, pengukuran konsentrasi-absorbansi larutan sampel glukosa menggunakan  $\lambda = 500$  nm diperoleh nilai  $y = 6.959x + 38.73$  dan nilai  $R^2 = 0.770$ , menunjukkan bahwa ada hubungan korelasi positif antara absorbansi dengan konsentrasi dengan nilai  $R^2$  mendekati 1 (0.77).

Berdasarkan perbandingan absorbansi glukosa dengan panjang gelombang berbeda, kedua hasil yang didapatkan hampir membentuk gradient garis lurus. Sehingga hasil yang didapatkan hampir sesuai dengan hukum Lambert Beer.

**Berdasarkan data hasil di atas dapat disimpulkan bahwa:**

- Terdapat perbedaan pengukuran konsentrasi-absorbansi larutan sampel glukosa menggunakan  $\lambda = 479$  nm (menggunakan grafik kalibrasi) dengan  $\lambda = 500$  nm (menggunakan rumus reagensia test kit)
- Hasil konsentrasi yang di dapat menggunakan rumus pada regensia kit cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan grafik kalibrasi.
- Konsentrasi yang didapat dengan menggunakan rumus reagensia test kit dan grafik kalibrasi, kedua-duanya hampir memenuhi hukum Lambert-Beer
- Nilai  $R^2$  yang mendekati 1 menunjukkan bahwa data yang yang diperoleh semakin akurat.

**Tabel 4 Hasil pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea plasma mahasiswa**

detil <sup>2</sup> mhs (berapa lama sejak makan; rata-rata apa yg dimakan; jenis kelamin; umur)	GLUKOSA		TRIGLISERIDA		UREA	
	A	kadar	A	kadar	A	kadar
<b>1. Yunita Wannur azah</b> Jenis kelamin : perempuan Usia : 28 tahun Makanan : makan ifumie Waktu : 1jam sebelum pemeriksaan	-	-	<b>0,313</b>	<b>82,37</b>	<b>0,311</b>	<b>236,95</b>
<b>2. Kirana patrolina</b> Jenis kelamin : perempuan Usia : 32 tahun Makanan : makan nasi putih dengan ikan teri sambal+susu anlene Waktu : 3 jam sebelum pemeriksaan	<b>0,197</b>	<b>79,11</b>	<b>0,241</b>	<b>63,42</b>	-	-

## **GLUKOSA**

Berdasarkan hasil praktikkum, didapat kadar glukosa Kirana Patrolina 79,11 mg/dl. Dari data tersebut masih dalam batas normal. Karena kadar glukosa darah 2 jam setelah makan adalah  $< 200\text{mg/dl}$ . Interpretasi kadar glukosa yang normal pada kit berkisar antara 75-115 mg/dl.

Pada saat makanan dikunyah, makanan akan bercampur dengan air liur yang mengandung enzim ptialin (suatu  $\alpha$  amilase yang disekresikan oleh kelenjar parotis di dalam mulut). Enzim ini menghidrolisis pati (salah satu polisakarida) menjadi maltosa dan gugus glukosa kecil yang terdiri dari tiga sampai sembilan molekul glukosa. Makanan berada di mulut hanya dalam waktu yang singkat dan mungkin tidak lebih dari 3-5% dari pati yang telah dihidrolisis pada saat makanan ditelan. Sekalipun makanan tidak berada cukup lama dalam mulut untuk dipecah oleh ptialin menjadi maltosa, tetapi kerja ptialin dapat berlangsung terus menerus selama satu jam setelah makanan memasuki lambung, yaitu sampai isi lambung bercampur dengan zat yang disekresikan oleh lambung. Selanjutnya aktivitas ptialin dari air liur dihambat oleh zat asam yang disekresikan oleh lambung. Hal ini dikarenakan ptialin merupakan enzim amilase yang tidak aktif saat PH medium turun di bawah 4,0.

Sehingga untuk mencapai hati tempat glukosa berubah menjadi glukogen diperlukan waktu yang lebih lama. Makanan dari lambung harus melewati usus lalu dialirkan oleh darah ke hati. Selain itu kadar glukosa dipengaruhi oleh pola makan dan perbedaan aktivitas mahasiswa tersebut dalam kesehariannya. Kesalahan lain yang mungkin menyebabkan perbedaan ini adalah proses pembuatan larutan ke dalam kuvet dan juga homogenisasi larutan.

## **TRIGLISERIDA**

Hasil pengukuran sampel darah saudara Kirana Kadar trigliserida yang diperoleh berkisar antara 63-83 mg/dl. Berdasarkan data tersebut menunjukkan kadar trigliserida saudara Kirana masih dalam batas normal karena masih  $< 150\text{mg/dl}$ .

Interpretasi kadar trigliserida yang normal berkisar  $< 150\text{ mg/dl}$  sedangkan kadar trigliserida suspect resiko arterosklerosis menurut kit berkisar  $> 150\text{ mg/dl}$ . Sedangkan untuk penderita berkisar  $\geq 200\text{ mg/dl}$

Makanan yang dikonsumsi akan masuk ke dalam tubuh untuk diolah dalam sistem pencernaan. Dalam proses tersebut, makanan yang mengandung lemak dan kolesterol akan diurai secara alami menjadi trigliserida, kolesterol, asam lemak bebas, dan fosfolipid. Senyawa-senyawa di atas akan didistribusikan ke seluruh tubuh melalui sistem peredaran darah untuk memenuhi kebutuhan tubuh. Karena sifatnya yang sukar larut dalam cairan seperti darah, kolesterol berikatan dengan protein membentuk partikel yang bernama lipoprotein. Dalam bentuk inilah kolesterol dan lemak yang ada disalurkan ke seluruh tubuh. Trigliserid adalah salah satu bentuk lemak yang diserap oleh usus setelah mengalami hidrolisis. Interpretasi hasil pemeriksaan laboratorium terhadap trigliserid (Normal < 150 mg/dL ;Batas tinggi 150 – 199 mg/dL ;Tinggi ≥ 200 mg/dL).

## **UREA**

Dari hasil praktikum kadar urea yang diperoleh dari saudara Yunita adalah 236, 95 mg/dl. Jika dibandingkan dengan interpretasi konsentrasi kadar urea dalam plasma darah normal pada kit berkisar antara 10-50 mg/dl. Dari data nilai ini bisa dikatakan konsentrasinya trigliserida praktikan terlalu tinggi ataupun tidak normal. Data tersebut dapat dimungkinkan terjadi kesalahan disebabkan kesalahan dalam pencampuran larutan ke dalam kuvet.

Urea merupakan produk limbah dari banyak organisme hidup, dan merupakan komponen organik utama urin manusia. Urea merupakan hasil deaminasi oksidatif asam amino. Deaminasi oksidatif merupakan proses pemecahan (hidrolisis) asam amino menjadi asam keto dan ammonia ( $\text{NH}_4^+$ ). Hal ini karena pada akhir rantai reaksi yang memecah asam amino yang membentuk protein. Asam amino dimetabolisme dan diubah dalam hati menjadi ammonia,  $\text{CO}_2$ , air dan energi. Ammonia merupakan racun bagi sel-sel, sehingga harus dikeluarkan dari tubuh. Seorang dewasa biasanya mengeluarkannya sekitar 25 gram urea per hari. Setiap kondisi yang mengganggu penghapusan urea oleh ginjal dapat menyebabkan uremia, penumpukan urea dan limbah nitrogen lainnya dalam darah yang bisa berakibat fatal. Untuk membalikkan kondisi, baik penyebab gagal ginjal harus dihapus dengan menjalani dialisis darah untuk menghapus kotoran dari darah.

**SARAN:**

1. Ada baiknya laporan kami salah atau benarnya diberitahu agar kami mengetahui letak kesalahan dan kami dapat memperbaikinya.
2. Jika memungkinkan tiap-tiap mahasiswa dilatih untuk menggunakan alat-alat dalam praktikum khususnya spektrofotometri.