

Laporan praktikum biomedik 3 BM 506

**METABOLISME GLUKOSA, UREA DAN TRIGLISERIDA  
(TEKNIK SPEKTROFOTOMETER)**

**Kelompok : Melya susanti  
Sunarti**

**Hari/tanggal : Selasa, 17 maret 2015**

**TUJUAN PRAKTIKUM**

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

**I. PRINSIP DASAR SPEKTROFOTOMETRI**

Spektrofotometri adalah suatu metode analisis yang berdasarkan pada pengukuran

serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombang yang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dan detector vacuum phototube atau tabung foton hampa. Metode ini berhubungan dengan penggunaan Hukum Lambert, dimana konsentrasi dari suatu cairan/larutan mempengaruhi banyaknya cahaya yang melewati suatu larutan. Alat yang digunakan adalah spektrofotometer, yaitu suatu alat yang digunakan untuk menentukan suatu senyawa baik secara kuantitatif maupun kualitatif dengan mengukur transmitan ataupun absorban dari suatu zat cair serta fungsi dari konsentrasi.

Prinsip kerja spektrofotometri berdasarkan hukum Lambert-Beer. Bila cahaya monokromatik, melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan. Transmittans adalah perbandingan intensitas cahaya yang di transmisikan ketika melewati sampel dengan intensitas cahaya mula-mula sebelum melewati sampel.

## II. LATIHAN PEMBUATAN LARUTAN STOK

Larutan stok glukosa: 50 ml larutan glukosa 1,5 g/L (150mg / dL)

Jumlah bubuk glukosa yang di butuhkan **0,075g**

Larutan stok urea: 10 ml larutan urea 1,0g/L (100mg / dL)

Jumlah bubuk urea yang di butuhkan **0,01g**

### ALAT DAN BAHAN

- |            |                  |
|------------|------------------|
| 1. Glukosa | 4. Gelas beker   |
| 2. Urea    | 5. Tabung reaksi |
| 3. Air     |                  |

### Cara Kerja

1. Timbang kadar glukosa sebanyak 0,075 g didalam wadah ( gelas beker) menggunakan timbangan digital
2. Tambahkan aquades sebanyak 49,925 ml, kemudian di aduk sampai semua glukosa larut
3. Cara yang sama untuk pemebuatan larutan stok urea, urea yang dibutuhkan 0,01gr ditambahkan aquades sampai 10ml

Larutan stok ini akan digunakan dalam praktikum pengenceran untuk kurva kalibrasi

## III. PENGECERAN UNTUK KURVA KALIBRASI UREA DAN GLUKOSA DENGAN MENGGUNAKAN LARUTAN STOK

Alat dan bahan:

- |                                    |                              |
|------------------------------------|------------------------------|
| 1. Larutan stok (urea dan glukosa) | 4. Pipet mohr                |
| 2. Aquades                         | 5. Rak/ tempat tabung reaksi |
| 3. Tabung reaksi                   | 6. pengaduk                  |
| 4. Spektrofotometer                |                              |

### Cara Kerja:

1. Membuat perhitungan untuk menentukan jumlah larutan stok yang dipakai agar didapatkan konsentrasi pengenceran yang diminta sesuai penuntun.
2. Lakukan pengenceran berdasarkan perhitungan yang sudah dibuat

Pada praktikum ini memakai larutan stok glukosa dan urea yang sudah di siapkan sebelumnya, pengenceran dilakukan dalam beberapa konsentrasi  
 Missal : 80mg/dl standar glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H<sub>2</sub>O

$$V1. N1 = V2.N2$$

$$x. 150 = 10. 80$$

$$x = 800/150; x = 5, 3334 \text{ ml}$$

Dibutuhkan **5,334 ml** larutan stok glukosa dan **4,666 ml** Aquades

Perhitungan pengenceran yang lain dirangkum dalam tabel pengenceran larutan standar

Data hasil perhitungan untuk pengenceran Pengenceran Larutan Standar glukosa

Nomor	Larutan standar	Jumlah zat terlarut	Jumlah pelarut	Volume akhir
I	80mg/dl	5,3334 ml	4,666 ml	10 ml
II	90mg/dl	6 ml	4 ml	10 ml
III	100mg/dl	6,667 ml	3,333 ml	10 ml
IV	110mg/dl	7,33 ml	2,667 ml	10 ml
V	120mg/dl	8 ml	2ml	10 ml

Data hasil perhitungan untuk pengenceran Pengenceran Larutan Standar urea

Nomor	Larutan standar	Jumlah zat terlarut	Jumlah pelarut	Volume akhir
I	20mg/dl	2 ml	8 ml	10 ml
II	30mg/dl	3 ml	7 ml	10 ml
III	40mg/dl	4 ml	6 ml	10 ml
IV	50mg/dl	5 ml	5 ml	10 ml
V	60mg/dl	6 ml	4 ml	10 ml

3. Menyiapkan larutan diatas untuk selanjutnya dianalisa dengan spektrofotometer
  - a. Siapkan 7 buah kuvet di dalam wadah kuvet, 1 kuvet untuk blank, 1 kuvet untuk standar, 5 kuvet untuk sampel

Banyak Kuvet Yang Disiapkan Untuk Spektrofotometri

Jenis reagen	blanko	standar	sampel
Reagen glukosa	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l
Larutan standar	-	10 $\mu$ l	-
80mg/dl	-	-	10 $\mu$ l
90mg/dl	-	-	10 $\mu$ l
100mg/dl			10 $\mu$ l
110mg/dl			10 $\mu$ l
120mg/dl			10 $\mu$ l

- b. Hidupkan spektrofotometer, kuvet yang pertama kali dimasukkan adalah kuvet blanko, tekan autozero, kmudian akan muncul nilai absorbansi nol pada layar spektrofotometer
- c. Kemudian ukur larutan standar
- d. Setelah itu masukkan kuvet sampel 100mg/dl, catat panjang gelombang yang menunjukkan absorbansi larutan.
- e. Kemudian baru diukur tiap sampel yang akan diukur absorbansinya secara bergantian,
- f. Print hasil pengukuran absorbansi tiap larutan yang akan dianalisa
- g. Cara yang sama untuk pengukuran absorbansi larutan urea

### Hasil Persiapan Gelombang Maksimal Glukosa

Didapatkan  $\lambda = 479\text{nm}$  pada konsentrasi 100mg/dl, sebagai panjang gelombang maksimal, Nilai absorbansi tiap larutan pada  $\lambda = 479\text{nm}$  dirangkum dalam tabel 1.

$$C \text{ Sampel} = \frac{\Delta A \text{ Sampel}}{\Delta A \text{ Standar}} \times C \text{ Standar}$$

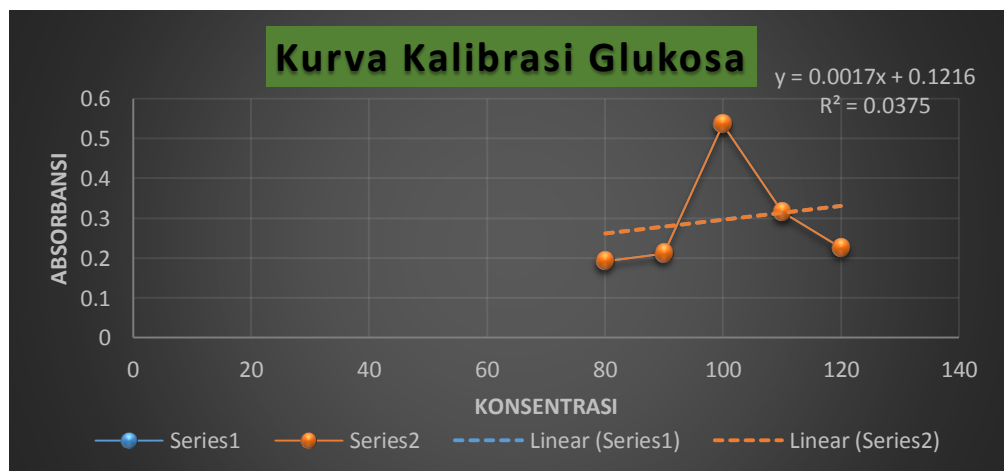
C sampel : konsentrasi sampel larutan  
 $\Delta A$  sampel = Absorbansi sampel larutan  
 $\Delta A$  standar = Absorbansi standar  
C standar = konsentrasi standar yang

**Tabel 1:** Hasil Pengukuran Absorbansi Pengenceran Untuk Kurva Kalibrasi

Dengan  $\lambda = 479\text{nm}$

Mg/dl	Absorbansi
80	0,191
90	0,211
100	0,5355
110	0,315
120	0,226
blanko	-
standar	0,535

**Gambar 1.** Kurva Kalibrasi Glukosa



Kesimpulan :

- Garis linear pada kurva kalibrasi agak menaik, menunjukkan ada hubungan antara konsentrasi dan nilai absorbansi, namun hubungannya lemah karena terlihat nilai R2 yang jauh dari nilai 1
- Nilai absorbansi tidak semuanya mengikuti hukum lambert beer, karena peningkatan konsentrasi tidak selalu diikuti peningkatan nilai absorbansi, hanya ada 3 titik pada hasil praktikum ini yang menunjukkan peningkatan konsentrasi sedangkan 2 nilai absorbansi pada konsentrasi 110 dan 110 menunjukkan penurunan, hal ini bisa disebabkan oleh kejenuhan larutan. Sehingga tidak bisa mengabsorpsi cahaya secara maksimal
- Dapat di simpulkan bahwa hasil praktikum ini sesuai pada hukum lambert beer, namun tidak pada semua konsentrasi

### **Membandingkan Konsentrasi Glukosa Yang Dihitung Berdasarkan Kurva Kalibrasi Dan Rumus Kit Pada Decimal Dilution Dan Doubling Dlution**

**Tabel 2.** Konsentrasi Pengenceran Decimal Dilution Glukosa berdasarkan kurva kalibrasi ( $\lambda = 479.0 \text{ nm}$ )

Pengenceran	Konsentrasi glukosa	Absorbansi
0,1x	80.82	0.259
0,01x	58.47	0.221
0,001x	-58	0.023
0,3x	-1.52	0.119
0,03x	88,47	0.272
0,003x	39.64	0.189

**Tabel 3.** Konsentrasi Pengenceran decimal dilution Glukosa berdasarkan kit ( $\lambda = 500 \text{ nm}$ ) abs standar 0,249

Pengenceran	Konsentrasi glukosa	Absorbansi
0,1x	122.89	0.306
0,01x	98.79	0.246
0,001x	9.23	0.023
0,3x	83.53	0.208
0,03x	87.55	0.218
0,003x	93.98	0.234

**Tabel 4.** Konsentrasi Pengenceran doubling solution Glukosa berdasarkan kit ( $\lambda = 500 \text{ nm}$ ) dan ABS standar 0.249

Faktor Pengenceran	Konsentrasi glukosa	Absorbansi
Faktor 2	86.34	0.215
Faktor 4	81.53	0.203
Faktor 8	105.22	0.262
Faktor 16	127.31	0.317
Faktor 32	97.59	0.243
Faktor 64	97.18	0.242
Faktor 128	45.78	0.114

**Tabel 5.** Konsentrasi Pengenceran doubling dilution Glukosa berdasarkan kurva kalibrasi ( $\lambda = 479.0 \text{ nm}$ )

Faktor Pengenceran	Konsentrasi glukosa	Absorbansi
Faktor 2	8.47	0.136
Faktor 4	-19.76	0.088
Faktor 8	96.12	0.285
Faktor 16	2.098	0.258
Faktor 32	1.525	0.188
Faktor 64	1.590	0.196
Faktor 128	0.795	0.099

**Kesimpulan :**

- Terdapat perbedaan nilai konsentrasi pada larutan yang dihitung dengan kurva kalibrasi dengan larutan standar 100ml pada panjang gelombang 479nm dengan konsentrasi larutan yang dihitung berdasarkan rumus kit dengan ( $\lambda = 500 \text{ nm}$ )
- Secara keseluruhan tampak konsentrasi yang dihitung berdasarkan rumus kit lebih besar di dibandingkan dengan nilai konsentrasi yang di hitung berdasarkan kurva kalibrasi
- Perbedaan nilai konsentrasi yang didapatkan bisa karena, larutan diukur pada panjang gelombang yang berbeda
- Menurut teori perbedaan cuvet pada tiap larutan sampel juga mempengaruhi nilai absorbansi.juga perbedaan kuvet sampel dan blanko
- Dinding cuvet tidak bersih (tersentuh jari pemakai) juga mempengaruhi nilai asorbansi, karena bisa menghambat penyerapan cahaya

- Pada beberapa pengukuran didapatkan nilai absorbansi yang negatif, bisa karena persamaan kalibrasi yang didapatkan dari nilai absorbansi yang tidak semua titik mengikuti hukum Lambert Beer.

### Hasil Persiapan Gelombang Maksimal Urea

Didapatkan  $\lambda = 689,5\text{nm}$  pada konsentrasi 40mg/dl, panjang gelombang ini dipakai untuk mengukur absorbansi larutan standar yang lain. Nilai absorbansi larutan 40mg/dl pada panjang gelombang  $\lambda = 689,5\text{nm}$  dipakai sebagai absorbansi standar yaitu **0,144**, konsentrasi yang didapatkan dipakai sebagai konsentrasi standar.

**Tabel 6 :** Hasil Pengukuran Absorbansi Pengenceran Urea Untuk Kurva Kalibrasi

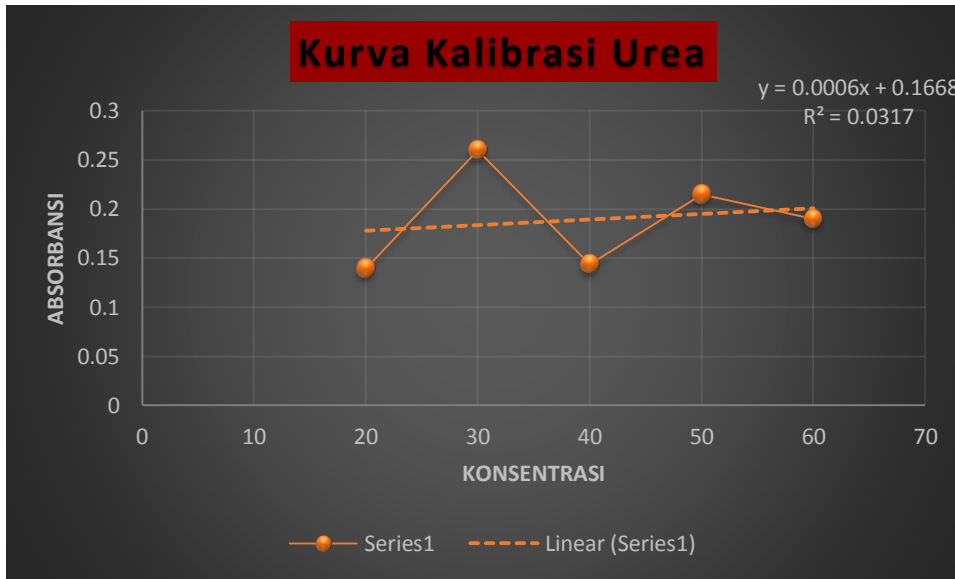
Mg/dl	Absorbansi
20	0,139
30	0,260
40	0,144
50	0,215
60	0,190
blanko	-
standar	0,144

Rumus untuk mendapatkan Nilai konsentrasi sampel

$$C \text{ Sampel} = \frac{\Delta A \text{ Sampel}}{\Delta A \text{ Standar}} \times C \text{ Standar}$$

C sampel = konsentrasi sampel larutan  
 $\Delta A$  sampel = Absorbansi sampel larutan  
 $\Delta A$  standar = Absorbansi standar  
 C standar = konsentrasi standar yang diketahui

**Gambar 2 : Hasil Kurva Kalibrasi Pengenceran Urea**



Kesimpulan gambar :

1. Terlihat pada kurva garis linear sedikit menaik, hal ini menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansi
2. Jika diperhatikan perkonsentrasi dari hasil percobaan ini hanya ada dua nilai absorbansi yang menunjukkan peningkatan dengan meningkatnya nilai konsentrasi, yaitu pada konsentrasi 30, 50 berarti kedua titik ini mengikuti hukum Lambert Beer.
3. Namun terlihat penurunan nilai absorbansi pada konsentrasi 40, 60 ini menunjukkan ketidaksesuaian dengan hukum Lambert Beer.
4. Kurva kalibrasi pada praktikum ini menunjukkan Nilai  $R=0,0317$  jauh dari Nilai 1, berarti hubungan antara absorbansi dan konsentrasi tidak kuat, bisa karena memang tidak semua titik yang mengikuti hukum Lambert Beer.
5. Didapatkannya nilai absorbansi yang tidak mengikuti hukum Lambert Beer bisa karena dinding kuvet yang tersentuh oleh jari, sehingga menghambat penyerapan cahaya oleh larutan.

Protap pemeriksaan glukosa, protein dan urea menggunakan spektrofotometri :

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

**Tabel 7:** Data Hasil Absorbansi Urea, Glukosa, Dan Triglicerida Dari Plasma Darah

Praktikan	Glukosa		Urea		Triglicerida	
	kirana	yunita	kirana	yunita	Kirana	yunita
Absorban	0,225 pada $\lambda$ = <b>500nm</b>	-	-	0,167 pada $\lambda$ = <b>600 nm</b>	0,313	0,241
Absorban	0.197 pada $\lambda$ = <b>479nm</b>			0,311 pada $\lambda$ = <b>689,5nm</b>		
Kurva 1a	44,35	-	-			
Kurva 1b		-	-	240,33		
Rumus kit	90,36	-	-	127,23	205,92	158,55

- **Perhitungan Konsentrasi Glukosa Sesuai Kurva Kalibrasi**  
 $y = 0,0017x + 0,1216$   
 $x = 0,197 - 0,1219 / 0,0017$   
 $x = 44,35 \text{ mg/dl}$
- **Perhitungan Konsentrasi Glukosa Sesuai Kit**  
**Konsentrasi = absorban sampel/absorban standar pada  $\lambda = 500 \text{ nm}$  x**  
**konsentrasi standar kit**  
 $= 0,225 / 0,249 \times 100$   
 $= 90,36 \text{ mg/dl}$
- **Perhitungan Konsentrasi urea Sesuai Kurva Kalibrasi**  
 $y = 0,0006x + 0,1668$   
 $x = 0,311 - 0,1668 / 0,0006$   
 $x = 240,33 \text{ mg/dl}$
- **Perhitungan Konsentrasi urea Sesuai Kit**  
**Konsentrasi = absorban sampel/absorban standar pada  $\lambda = 600 \text{ nm}$  x**  
**konsentrasi standar kit**  
 $= 0,167 / 0,105 \times 80$   
 $= 127,23 \text{ mg/dl}$

**Tabel 8: Hasil pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea plasma mahasiswa**

detail <sup>2</sup> mhs (berapa lama sejak makan; rata-rata apa yg dimakan; jenis kelamin; umur)	GLUKOSA ( $\lambda : 500 \text{ nm}$ )		TRGLISERID A ( $\lambda : 500 \text{ nm}$ )		UREA ( $\lambda : 600 \text{ nm}$ )	
	A	kadar	A	kadar	A	kadar
<b>1. Yunita Wannur azah</b>  Jenis kelamin : perempuan	-	-	0,241	158,55 mg/dl	0,167	127,23 mg/dl

Usia : 28 tahun Makanan : makan ifumie Waktu : 1jam sebelum pemeriksaan						
<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	0,225	90,36 mg/dl	0,313	205,92 mg/dl	-	-

Kesimpulan:

1. Glukosa diukur pada ( $\lambda$ : **500nm**), praktikan kirana menunjukkan hasil **90,36mg/dl**. Nilai ini menunjukkan Nilai hipoglikemia karena Nilai glukosa untuk pemeriksaan random adalah 120-200mg/dl . Hal ini bisa terjadi karena pemeriksaan dilakukan setelah beberapa jam praktikan makan, sehingga glukosa yang dihasilkan dari metabolisme karbohidrat sudah masuk ke sel yang dibantu oleh insulin.

Selain itu kadar glukosa dipengaruhi oleh pola makan, besar porsi dan aktivitas mahasiswa tersebut dalam kesehariannya. Kesalahan lain yang mungkin menyebabkan perbedaan ini adalah proses pembuatan larutan ke dalam kuvet dan juga homogenisasi larutan.

2. Kadar trigliserida yang diperoleh dari hasil pengukuran sampel adalah 158,55 mg/dl dan 205,92 mg/dl, perbedaan ini bisa terjadi Karena faktor makanan yang dikonsumsi sebelumnya, usia dan Makanan yang dikonsumsi setiap harinya.

Trigliserida 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  $\geq$  200

mg/dL). Dari data di atas praktikan 1 ada pada Nilai konsentrasi trigliserida pada batas tinggi, dan praktikan 2 ada pada nilai konsentrasi trigliserida yang tinggi. Nilai ini bisa dipengaruhi oleh kesalahan dalam pembuatan persiapan sampel yang akan diukur.

3. Kadar urea yang diperoleh 127, 23 mg/dl, kadar urea normal adalah pada kisaran 15 – 45 mg/dl. Dari hasil praktikum didapatkan Nilai kadar urea yang sangat tinggi, jauh diatas kadar normal, Nilai ini kemungkinan besar salah karena secara klinis praktikan tidak menunjukkan gejala uremia. Nilai urea yang tinggi bisa disebabkan kesalahan dalam pembuatan larutan yang akan diukur. Amonia 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. Penjelasan lanjut tentang laporan praktikum praktikan, akan sangat membantu praktikan untuk mengetahui kesalahan, dan meningkatkan pemahaman tentang praktikum
2. agar alat praktikumnya lebih banyak lagi sehingga praktikan berkesempatan untuk mencoba sendiri.