

LAPORAN PRAKTIKUM BIOMEDIK IV

Judul Praktikum : *Metabolisme Glukosa, Urea dan Trigliserida (Teknik Spektrofotometri)*
Nama Praktikan : Aditya Candra
Debby Mirani Lubis
Tgl Praktikum : 31 Oktober 2013
Pukul : 08.00-11.00

I. Tujuan Praktikum :

1. Mengetahui dan melatih cara pembuatan larutan stok urea dan glukosa dalam konsentrasi yang diinginkan serta cara pengenceran dengan double dilution dan decimal dilution
2. Mempelajari prinsip dan cara kerja Spektrofotometri serta alat dan bahan yang dibutuhkan untuk memperoleh konsentrasi glukosa, urea dan trigliserida dengan spektrofotometer
3. Mengetahui cara menghitung konsentrasi sampel berdasarkan jumlah/nilai serapannya yang didapat dari spektrofotometri dengan menggunakan persamaan hukum Beer-Lambert
4. Membandingkan nilai konsentrasi sampel yang di dapat dengan perhitungan manual dengan konsentrasi sampel yang didapat dari Spektrofotometri
5. Membuat grafik perbandingan hasil antar grup praktikan serta hasil yang didapat antara perhitungan manual dengan spektrofotometri .

II. Pendahuluan:

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. Alat yang digunakan adalah spektrofotometer, yaitu suatu alat yang digunakan untuk menentukan suatu senyawa baik secara kuantitatif maupun kualitatif dengan mengukur transmittan ataupun absorban dari suatu cuplikan sebagai fungsi dari konsentrasi.

III. Cara Kerja

1. Pembuatan larutan stok

- a. Larutan stok urea 10 ml pada kadar 10 g/L atau 1000 mg/dL

Jumlah bubuk urea yang dibutuhkan = $10 \times 10/1000 = 0.1 \text{ g}$

- b. Larutan stok glukosa 10 ml pada kadar 100 mM

Jumlah bubuk glukosa yang dibutuhkan $0,01 \text{ L} \times 0,1 \text{ mol/liter} \times 180 \text{ g/mol} = 0,18 \text{ g}$

→ kedua larutan stok tersebut diencerkan dengan *doubling and decimal dilution*

2. Pembuatan sampel plasma

a. 1 mL darah disentrifuge kemudian diambil plasmanya sebanyak 10 μ l

→ diperiksa nilai serapannya dari spektrofotometri kemudian dihitung konsentrasinya masing-masing dengan persamaan hukum Beer-Lambert (glukosa, urea dan trigliserida)

Bahan	Blanko	Standart	Sampel
Volume reagensia Kit	1000 μ l reagensia glukosa	1000 μ l reagensia glukosa	1000 μ l reagensia glukosa
Volume sampel plasma	-	-	10 μ l
Volume standart	-	10 μ l	-
Volume aquades	10 μ l	-	-
Periode dan temperature inkubasi	10 min@ 37°C	5 min@ 37°C	10 min@ 37°C
Panjang gelombang λ = 500nm			
Konsentrasi standart		100mg/dl	

Kemudian untuk larutan glukosa dengan berbagai konsentrasi pengenceran dilakukan pemeriksaan seperti diatas. Hasil pemeriksaan seperti pada tabel dibawah ini:

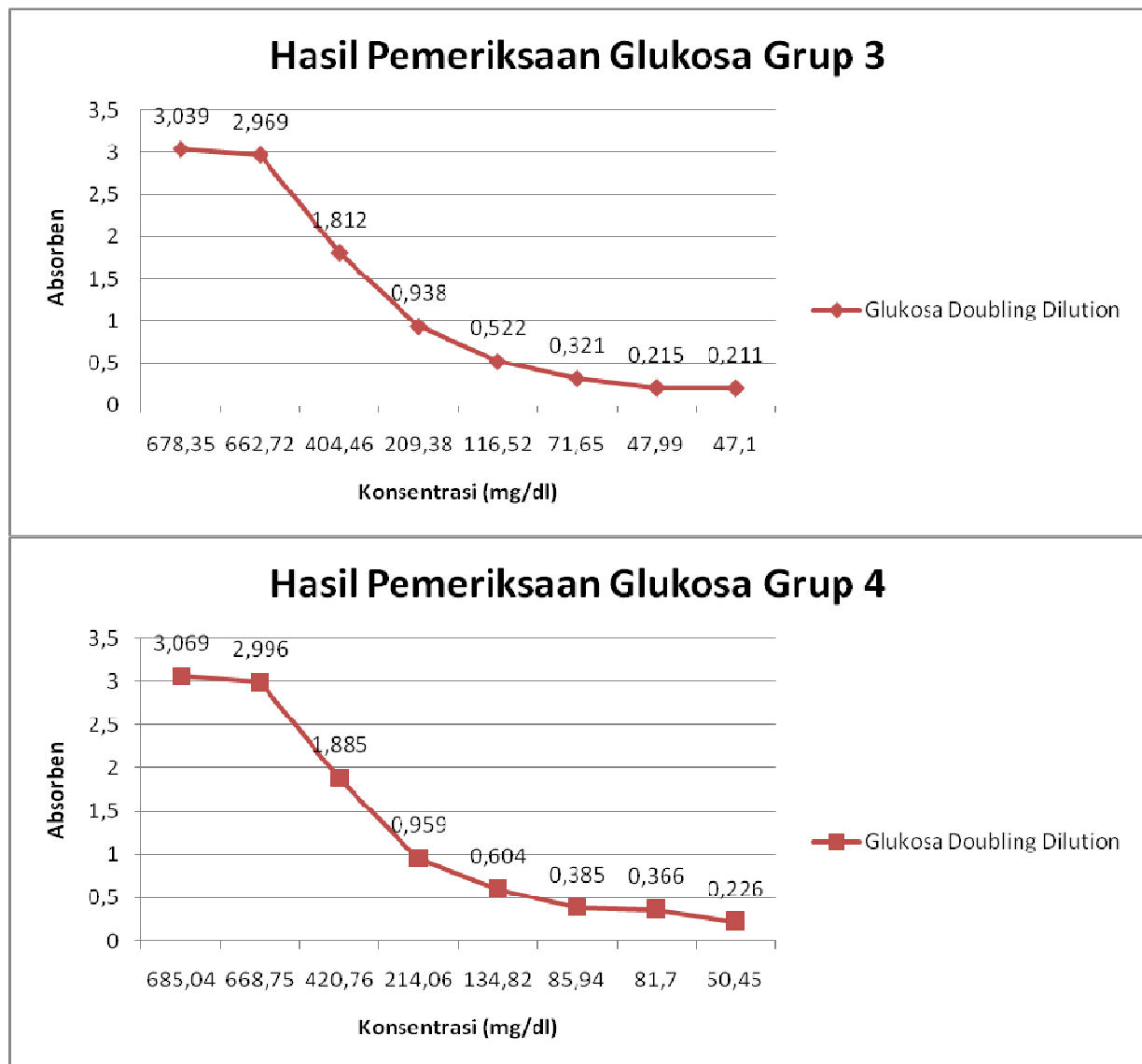
1. Glukosa

Tabel 1a : Glukosa - data untuk kalibrasi doubling dilution

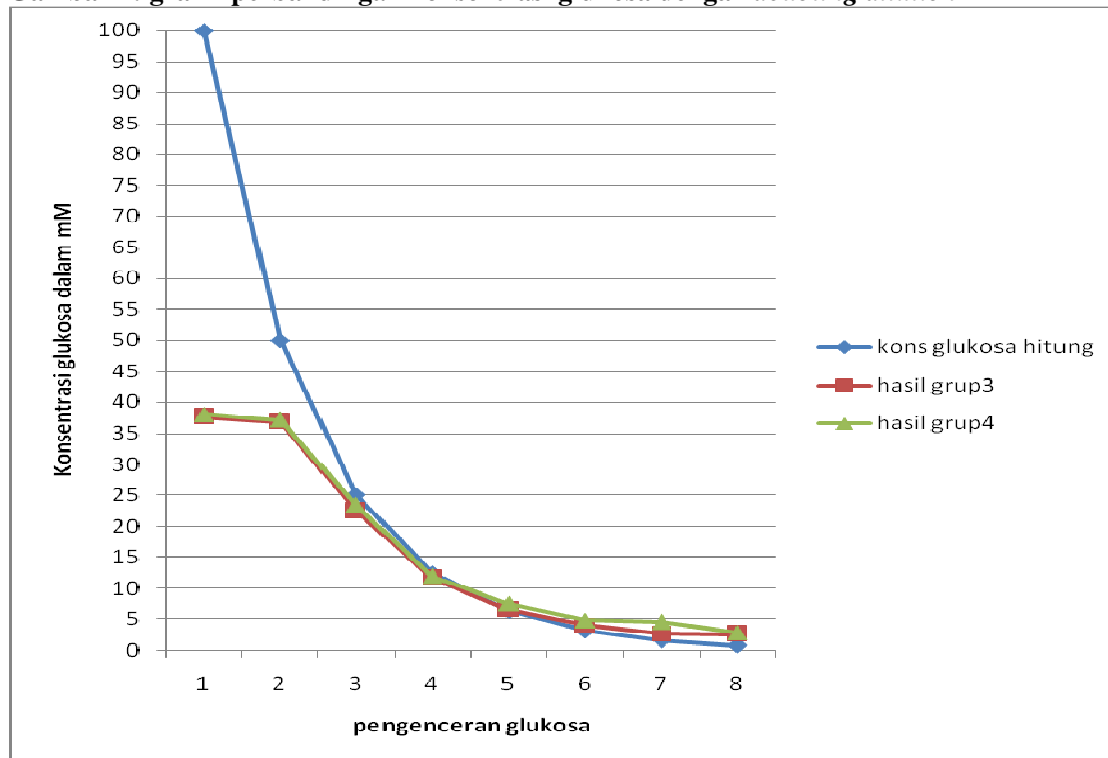
Konsentrasi stok glukosa = 100mM

Faktor	Konsentrasi glukosa berdasarkan hitungan manual (dalam mM)	Grup 3			Grup 4		
		serapan	Konsentrasi berdasarkan nilai serapan (dalam mM)	Konsentrasi dalam mg/dl	serapan	Konsentrasi berdasarkan nilai serapan (dalam mM)	Konsentrasi Dalam mg/dl
1	100.00	3.039	37.66	678.35	3.069	38.03	685.04
2	50.00	2.969	36.79	662.72	2.996	37.12	668.75
4	25.00	1.812	22.45	404.46	1.885	23.36	420.76
8	12.50	0.938	11.62	209.38	0.959	11.88	214.06
16	6.25	0.522	6.47	116.52	0.604	7.48	134.82
32	3.13	0.321	3.98	71.65	0.385	4.77	85.94
64	1.56	0.215	2.66	47.99	0.366	4.54	81.7
128	0.78	0.211	2.61	47.1	3.069	2.80	50.45
Blanko	0	0	0		0	0.002	0
standart	5.55	0,448	5.55	100	0,448	5.55	100

Gambar 1. Hasil pemeriksaan glukosa dengan nilai serapan grup 3 dan 4 (doubling dilution)



Gambar 2: grafik perbandingan konsentrasi glukosa dengan *doubling dilution*



Kesimpulan:

1. Dari tabel dan grafik di atas dapat dilihat bahwa ada perbedaan konsentrasi glukosa antara hasil hitung manual dengan hasil spektrofotometri
2. Hasil konsentrasi glukosa yang didapat grup 3 tidak jauh berbeda dengan hasil grup 4
3. Perbedaan ini menunjukkan bahwa mahasiswa tidak dapat membuktikan hukum Beer-Lambert, mungkin disebabkan kesalahan mahasiswa dalam membuat larutan stok dan pengenceran

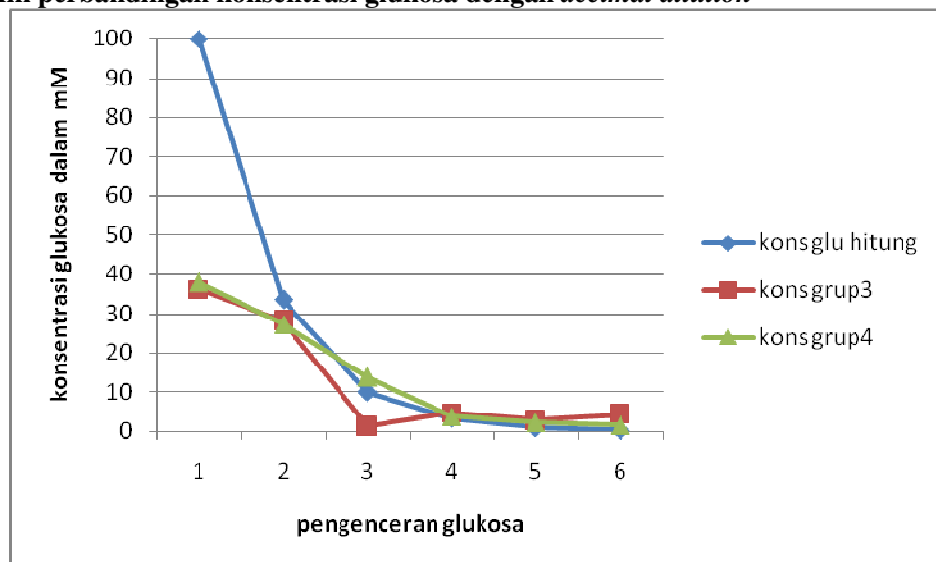
Tabel 1b . Glukosa- data untuk kalibrasi decimal dilution

Konsentarsi Stok glukosa = 100mM

Faktor	Konsentrasi	Grup 3			Grup 4		
		serapan	Konsentrasi dalam mM		serapan	Konsentrasi dalam mM	
1	100	2.921	36.19	652.01 mg/dl	3.057	37.88	682.37 mg/dl
3	33.5	2.267	28.09	506.03 mg/dl	2.202	27.28	491.52 mg/dl
10	10	0.095	1.18	21.21 mg/dl	1.118	13.85	249.55 mg/dl
30	3.35	0.384	4.76	85.71 mg/dl	0.301	3.73	67.19 mg/dl
100	1	0.223	2.76	49.78 mg/dl	0.178	2.21	39.73 mg/dl
300	0.335	0.34	4.21	75.89 mg/dl	0.124	1.54	27.68 mg/dl

Blanko	0	0	0	0	0	0	0
standar	5.55	0.448	5.55	100mg/dl	0.448	5.55	100 mg/dl

Gambar 3: Grafik perbandingan konsentrasi glukosa dengan *decimal dilution*



Kesimpulan:

1. Dari tabel dan grafik di atas dapat dilihat bahwa ada perbedaan konsentrasi glukosa antara hasil hitung manual dengan hasil spektrofotometri
2. Hasil konsentrasi glukosa yang didapat grup 3 tidak jauh berbeda dengan hasil grup 4, namun pada pengenceran ke 3 grup 3 didapat hasil yang tidak sesuai, hal ini mungkin disebabkan kesalahan dalam penyusunan/label dari sampel
3. Perbedaan ini menunjukkan bahwa mahasiswa tidak dapat membuktikan hukum Beer-Lambert, mungkin disebabkan kesalahan mahasiswa dalam membuat larutan stok dan pengenceran

2. Urea

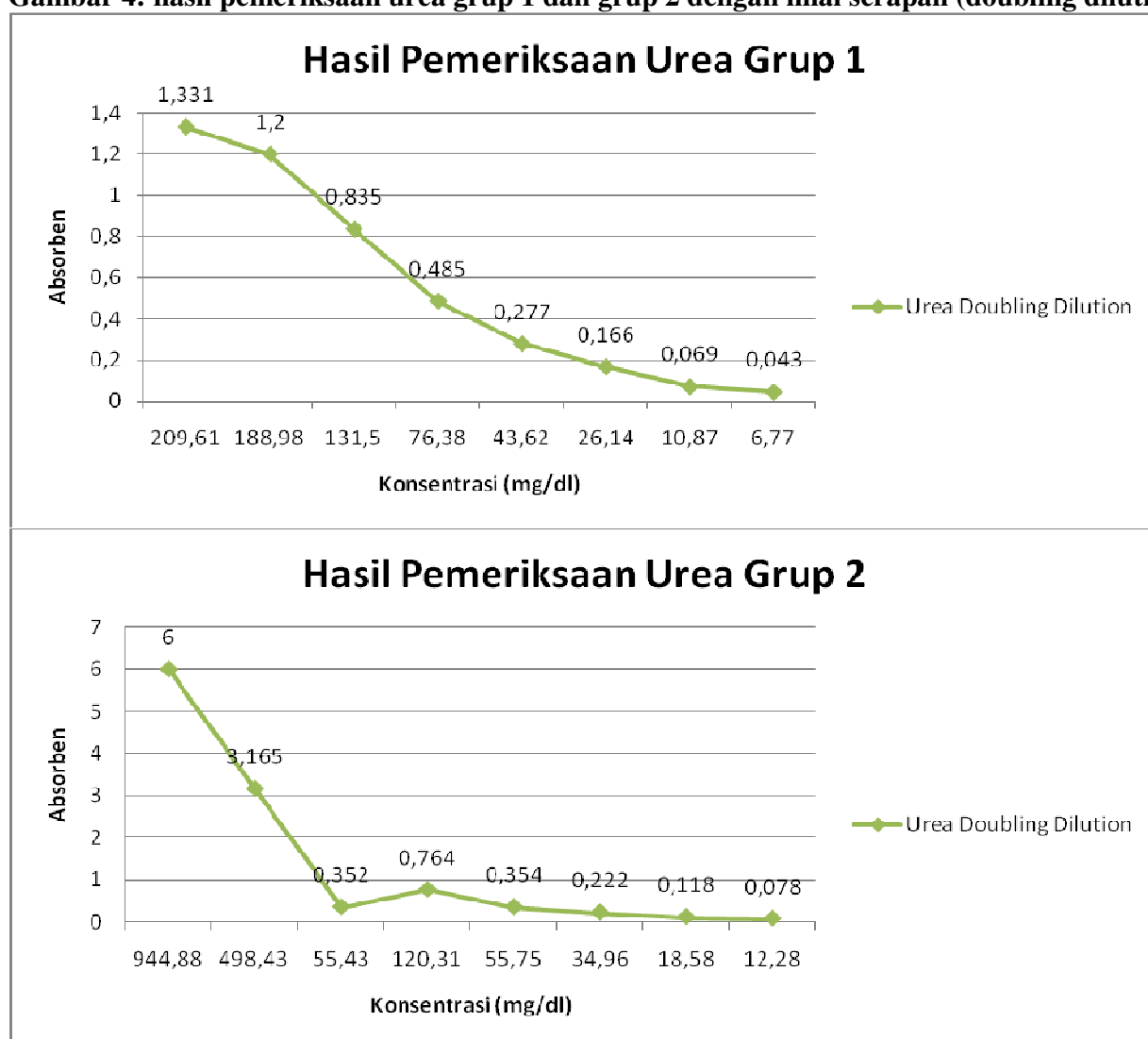
Tabel 2b . Urea- data untuk kalibrasi doubling dilution

Konsentrasi Stok Urea = 1000 mg/dl

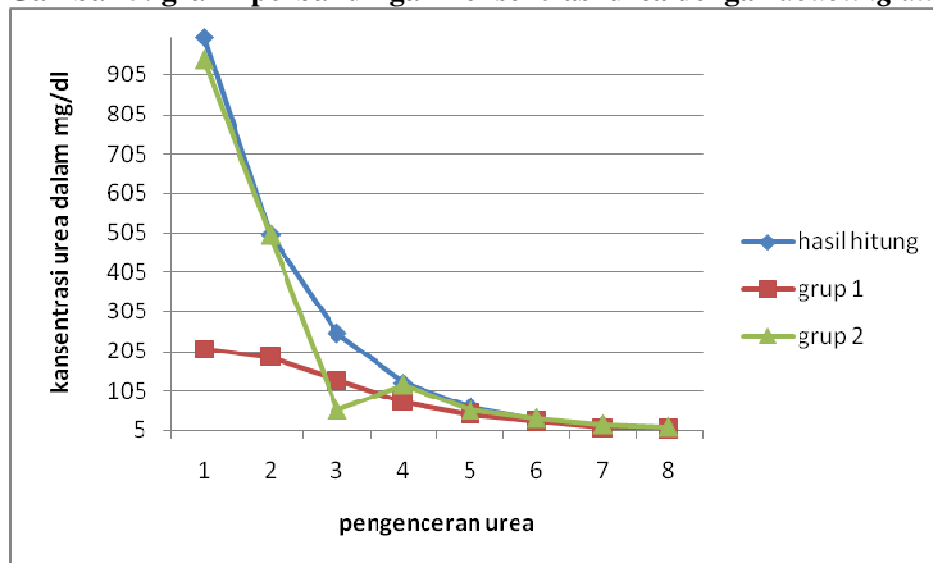
Faktor	Konsentrasi yang dihitung dalam mg/dl	Grup 1		Grup 2	
		Nilai Serapan	Konsentrasi yang Didapat dalam mg/dl	Nilai Serapan	Konsentrasi yang Didapat dalam mg/dl
1	1000	1.331	209.61	6	944.88
2	500	1.2	188.98	3.165	498.43
4	250	0.835	131.5	0.352	55.43

8	125	0.485	76.38	0.764	120.31
16	62.5	0.277	43.62	0.354	55.75
32	31.25	0.166	26.14	0.222	34.96
64	15.63	0.069	10.87	0.118	18.58
128	7.81	0.043	6.77	0.078	12.28
Blanko	0	0	0	0	0
Sampel	40	0.254	40	0.254	40

Gambar 4: hasil pemeriksaan urea grup 1 dan grup 2 dengan nilai serapan (doubling dilution)



Gambar 5: grafik perbandingan konsentrasi urea dengan *doubling dilution*



Kesimpulan:

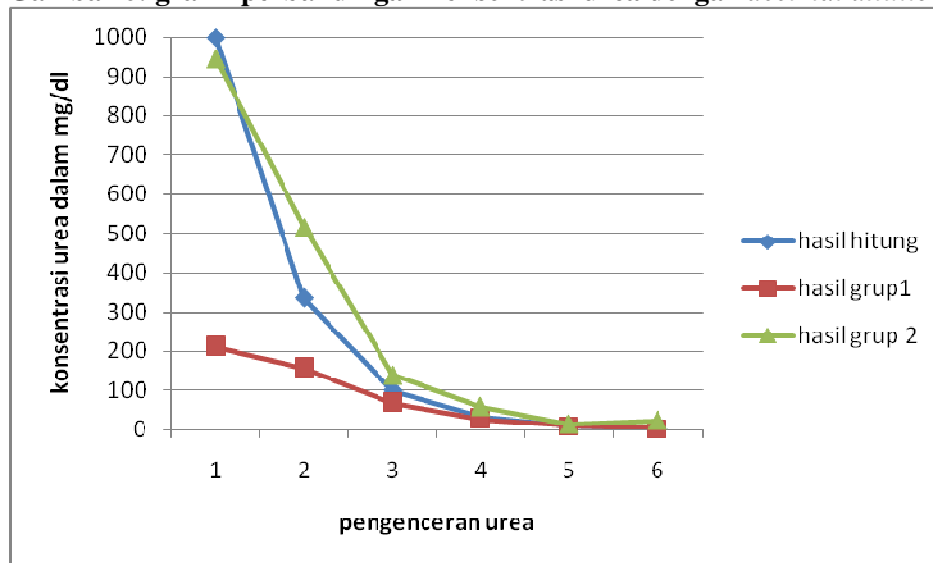
1. Dari tabel dan grafik di atas dapat dilihat bahwa ada perbedaan konsentrasi urea antara hasil hitung manual dengan hasil grup 1
2. Hasil konsentrasi urea yang didapat grup 2 tidak jauh berbeda dengan hasil hitung, namun pada pengenceran ke 3 grup 2 didapat hasil yang tidak sesuai, hal ini mungkin disebabkan kesalahan dalam penyusunan/label dari sampel
3. Perbedaan grup 1 ini menunjukkan bahwa mahasiswa tidak dapat membuktikan hukum Beer-Lambert, mungkin disebabkan kesalahan mahasiswa dalam membuat larutan stok dan pengenceran sedangkan grup 2 sudah melakukan pengenceran dengan baik (dapat membuktikan hukum Beer-Lambert)

Tabel 2b . Urea- data untuk kalibrasi decimal dilution

Konsentrasi stok urea 1000 mg/dl

Faktor	Konsentrasi yang diinginkan dalam mg/dl	Grup 1		Grup 2	
		Nilai Serapan	Konsentrasi yang Didapat dalam mg/dl	Nilai Serapan	Konsentrasi yang Didapat dalam mg/dl
1	1000	1.338	210.71	6	944.88
3	335	0.992	156.22	3.286	517.48
10	100	0.429	67.56	0.88	138.58
30	33.5	0.166	26.14	0.367	57.8
100	10	0.061	9.61	0.092	14.49
300	3.35	0.021	3.31	0.152	23.94
Blanko	0	0	0	0	0
Sampel	40	0.254	40	0.254	40

Gambar 6: grafik perbandingan konsentrasi urea dengan *decimal dilution*



Kesimpulan:

1. Dari tabel dan grafik di atas dapat dilihat bahwa ada perbedaan konsentrasi urea antara hasil hitung manual dengan hasil grup 1
2. Hasil konsentrasi urea yang didapat grup 2 tidak jauh berbeda dengan hasil hitung, namun pada pengenceran ke 5 dan 6 grup 1 didapat hasil yang lebih mendekati hasil hitung daripada hasil grup 2,
3. Perbedaan grup 1 pada pengenceran ke 1-4 ini menunjukkan bahwa mahasiswa tidak dapat membuktikan hukum Beer-Lambert, mungkin disebabkan kesalahan mahasiswa dalam membuat larutan stok dan pengenceran sedangkan grup 2 sudah melakukan pengenceran cukup baik (dapat membuktikan hukum Beer-Lambert)

Tabel 3 Konsentrasi glukosa dan urea dalam plasma yang dibaca pada grafik 1a s/d 2b, serta yang dihitung melalui rumus kit

	Glukosa				Urea			
	Absorben glukosa		Konsentrasi glukosa		Absorben urea		Konsentrasi urea	
	Aditya	Ichwan	Aditya	Ichwan	Ramadhan	Seri	Ramadhan	Seri
Serapan sampel	0,353	1,061			0,007	0,194		
Dari grafik 1a/2a	3,039	3,069	209,08	622,29	1,331	6	5,26	32,33
Dari grafik 1b/2b	2,921	3,057	217,53	624,73	1,338	6	5,23	32,33

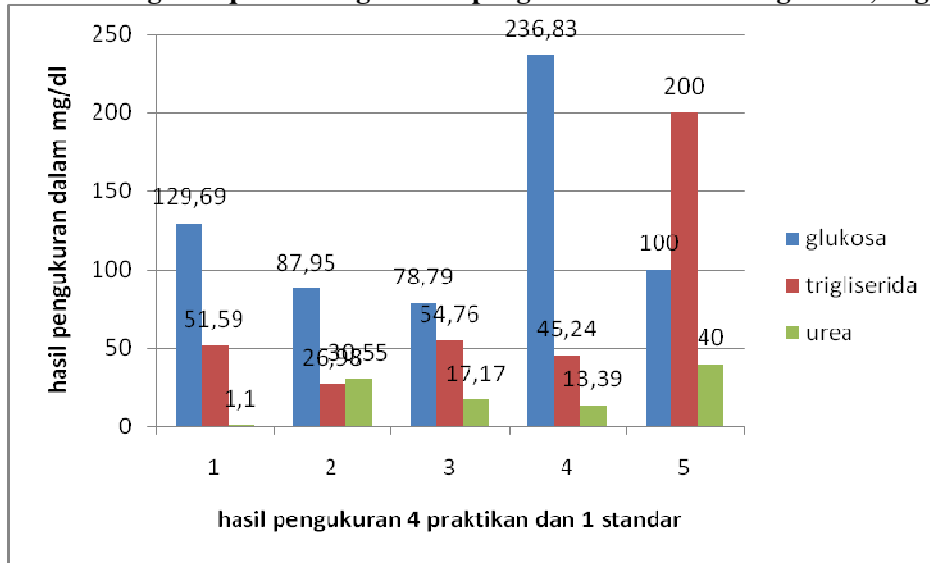
Dari rumus kit	0,448	0,448	78,79	236,83	0,245	0,254	1,1	30,55
----------------	-------	-------	-------	--------	-------	-------	-----	-------

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa larutan standar dengan rumus kit akan menunjukkan hasil konsentrasi yang lebih akurat dibandingkan dengan hasil yang di dapat dari larutan standar dari grafik 1a/2a dan 1b/2b. Hal ini mungkin disebabkan oleh larutan tersebut tidak sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan.

Tabel 4 Hasil pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea plasma mahasiswa

Detil Mahasiswa (berapa lama sejak makan, rata-rata apa yang dimakan, jenis kelamin, umur)	Glukosa		Trigliserida		Urea	
	A	Kadar	A	Kadar	A	Kadar
1. Ramadhan (laki-laki) 25 tahun (Nasi putih 2 piring + soto ayam + 1 gelas teh manis hangat)	0.581	129.69 mg/dl	0.065	51.59 mg/dl	0.007	1.1 mg/dl
2. Seri (perempuan) tahun (Nasi putih + ikan 1 ekor + 1 gelas bandrek susu)	0.394	87.95 mg/dl	0.034	26.98 mg/dl	0.194	30.55 mg/dl
3. Aditya (laki-laki) tahun (Nasi putih + ikan 1 ekor + kue 2 buah + 1 gelas teh manis dingin)	0.353	78.79 mg/dl	0.069	54.76 mg/dl	0.109	17.17 mg/dl
4. Ichwan (laki-laki) 26 tahun (Roti abon 2 buah)	1.061	236.83 mg/dl	0.057	45.24 mg/dl	0.085	13.39 mg/dl
5. Standar	0.448	100 mg/dl	0.252	200 mg/dl	0.254	40 mg/dl

Gambar 7: grafik perbandingan hasil pengukuran konsentrasi glukosa, trigliserida dan urea plasma



Dari grafik di atas di dapat perbedaan konsentrasi glukosa, trigliserida dan urea plasma antara mahasiswa (1-4) dan standar (5). Hal ini mungkin disebabkan perbedaan makanan, adanya penyakit yang diderita atau kesalahan dalam membuat sampel plasma yang akan diukur ataupun kesalahan dalam pengukuran (alat yang tidak dikalibrasi).

IV. Kesimpulan

1. Absorbansi berbanding lurus dengan Konsentrasi sesuai dengan Hukum Lambert-Beer.
2. Konsentrasi larutan dapat dihitung dengan membandingkannya dengan larutan standar yang tersedia dengan menggunakan hukum Beer-Lambert
3. Perbedaan hasil konsentrasi dari sampel dengan konsentrasi yang diinginkan dapat disebabkan oleh berbagai faktor, misalnya: pembuatan larutan stok yang kurang benar takaran dan homogenitasnya ataupun waktu dan suhu inkubasi yang tidak sesuai dengan teori

Saran :

Pada praktikum kali ini dan selanjutnya mudah-mudahan diperhatikan sebaiknya sebelum melakukan percobaan alat yang akan digunakan harus dalam keadaan bersih agar diperoleh hasil maksimal. Pada saat meletakkan larutan dalam tabung atau kuvet hendaknya diberi label dengan benar agar tidak terjadi kesalahan dalam pembacaan dengan spektrofotometer.