

LAPORAN PRAKTIKUM

METABOLISME GLUKOSA, UREA, DAN PROTEIN

(TEKNIK SPEKTROFOTOMETRI)

Nama : T.M. Reza Syahputra

Henny Gusvina Batubara

Tgl Praktikum : 14 April 2016

Tujuan Praktikum :

1. Mengerti prinsip-prinsip dasar mengenai teknik spektrofotometri (yaitu prinsip dasar alatnya, kuvet, standard, blanko, serta Hukum Beer-Lambert, dll.)
2. Latihan pembuatan dan penggunaan larutan stok.
3. Kumpulkan data kadar glukosa, urea, dan protein.
4. Latihan pembuatan dan interpretasi grafik.
5. Persiapan untuk praktikum “Metabolisme II” di mana akan mendesain dan melakukan percobaan yang berdasarkan teknik-teknik praktikum ini.

Pendahuluan: Spektrofotometri merupakan salah satu dari beberapa teknik yang sering dipakai secara rutin di laboratorium biokimia. Pada dasarnya, dengan teknik spektrofotometri kita dapat mengukur jumlah cahaya yang melewati sampel larutan. Jumlah cahaya yang diserap oleh larutan sampel berkaitan dengan konsentrasi unsur tertentu di dalam larutan sampel tersebut. Teknik ini dapat digunakan untuk memonitor perubahan warna (yaitu perubahan pada jumlah cahaya yang diserap) yang kualitatif dan mengukur konsentrasi bahan secara kuantitatif.

Ingatlah dari bahan kuliah spektrofotometri: $A = \epsilon dc$

dimana c = konsentrasi larutan itu (satuan adalah M),

ϵ = koefisien absorpsi molar ($M^{-1}cm^{-1}$),

d = jarak dilalui cahaya (cm),

A = serapan

Ingatlah pula Hukum Beer-Lambert, untuk larutan standard (LS): $A_{LS} = \epsilon d c_{LS}$

menyusun kembali: $A_{LS} / c_{LS} = \epsilon d$ (persamaan 1)

Sama juga dengan larutan sampel (LX): $A_{LX} = \epsilon d c_{LX}$ dan $A_{LX} / c_{LX} = \epsilon d$ (persamaan 2)

Dari persamaan 1 dan 2 kita bisa menulis $A_{LS} / c_{LS} = A_{LX} / c_{LX}$

menyusun kembali: $c_{LX} = A_{LX} \cdot c_{LS} / A_{LS}$ (persamaan 3)

Akibatnya, Anda bisa menghitung c_{LX} ketika Anda sudah mengetahui nilai A_{LX} , c_{LS} dan A_{LS} .

Cara Kerja :

Alat dan Bahan :

Tourniquet	Swab alcohol	Tempat pembuangan yang tajam
Jarum	EDTA	Tempat pembuangan yang kena darah
Alat sentrifus klinik	Urea	Kit pemeriksaan urea
Alat spektrofotometer	Glukosa	Kit pemeriksaan glukosa
Micropipet	Kuvet	Kit pemeriksaan protein
Tabung reaksi dan rak		

Pemeriksaan Glukosa, Protein, dan Urea.

1. Persiapan Sampel

- 1 ml darah diambil ke dalam wadah yang berisi EDTA. Menggunakan alat sentrifugasi klinik untuk memisahkan sel-sel darah dari plasma. Akan diperoleh $\pm 500 \mu\text{l}$ plasma tapi hanya $10 \mu\text{l}$ dibutuhkan untuk pemeriksaan glukosa, protein, dan urea.
- Siapkan pengenceran glukosa seperti kegiatan praktikum sebelumnya sebagai sampel glukosa (untuk membandingkan konsentrasi yang diprediksi / perhitungan dengan konsentrasi yang diperoleh dengan spektrofotometer).

- Optional:** Pemeriksaan terhadap glukosa, protein serta urea berdasar reaksi enzim (lihat lampiran). Aktivitas enzim dipengaruhi oleh suhu, jangan biarkan pekerjaan Anda terlalu

lama dimeja kerja setelah masa inkubasi selesai. Secepat mungkin langsung dilakukan pengukuran absorbansi setelah masa inkubasi selesai. Oleh karena periode reaksi harus diatur dengan baik, kerjakan setiap bagian satu per satu (yaitu inkubasi untuk sampel-sampel pengenceran *doubling*, maupun pemeriksaan glukosa, protein dan urea).

3. Cara persiapan sampel plasma untuk pemeriksaan glukosa, protein dan urea, atau sampel pengenceran *doubling* (glukosa atau urea) dicatat di bawah ini:

Protap pemeriksaan glukosa, protein dan urea menggunakan spektrofotometer

	GLUKOSA	PROTEIN	UREA
Volume reagensia kit	1000 µl reagensia glukosa	1000 µl reagensia A Inkubasi 5 min 250 µl reagensia B	1000 µl reagensia A, inkubasi 5 min 1000 µl reagensia B
Volume sampel atau standard	10 µl	20 µl	10 µl
Konsentrasi standard	100 mg/dl	200 mg/dl	40 mg/dl
Periode dan temperatur inkubasi	10 min @ 20 ⁰ C	10 min @ 37 ⁰ C	5 min @ 25 ⁰ C **2X**
Periksa pada λ =	500 nm	540 nm	600 nm

Siapkan larutan stok urea dan larutan stok glukosa

a. Larutan stok urea: siapkan 10 mL larutan urea pada kadar 1,0 g/L (atau 100mg/dL)

Jumlah bubuk urea yang dibutuhkan = $10 \times 1/1000$

= 0,01 gram urea yang dibutuhkan + 10ml H₂O.

b. Larutan stok glukosa: siapkan 10 mL larutan glukosa 1,5 g/L (150 mg/dL)

Jumlah bubuk glukosa yang dibutuhkan = $10 \times 1,5/1000$

= 0,015 gram glukosa yang dibutuhkan + 10ml H₂O.

a. UREA

Pembuatan Larutan Stok dan Pengenceran Larutan Urea

1. Tabung Stok : 2 ml larutan stok

2. Tabung F2 : double dilution faktor 2, dengan mengambil 1 ml dari tabung stok ditambah 1 ml H₂O.
3. Tabung F4 : double dilution faktor 4, dengan mengambil 1 ml dari tabung F2 ditambah 1 ml H₂O.
4. Tabung F8 : double dilution faktor 8, dengan mengambil 1 ml dari tabung F4 ditambah 1 ml H₂O.
5. Tabung F16 : double dilution faktor 16, dengan mengambil 1 ml dari tabung F8 ditambah 1 ml H₂O.
6. Tabung F32 : double dilution faktor 32, dengan mengambil 1 ml dari tabung F16 ditambah 1 ml H₂O.
7. Tabung F64 : double dilution faktor 64, dengan mengambil 1 ml dari tabung F32 ditambah 1 ml H₂O.
8. Tabung F128 : double dilution faktor 128, dengan mengambil 1 ml dari tabung F64 ditambah 1 ml H₂O.

Menyiapkan 8 buah kuvet yang diisi masing masing 10 µl dari tiap tabung dilution yang telah disiapkan sebelumnya.

Persiapan panjang gelombang max :

UREA :

- Siapkan 1 kuvet blanko yang berisi 10 µl H₂O dan 8 kuvet yang berisi 8 jenis konsentrasi larutan urea yang telah diencerkan sebelumnya.
- Mengisi 1000 µl reagen R1a menggunakan micropipette ke dalam 9 kuvet tersebut.
- Isi kuvet dicampur menggunakan pipet dan diinkubasi pada suhu ruangan (20-25 °C) selama 5 menit.
- Mengisi 1000 µl reagen R2 menggunakan micropipette ke dalam 9 kuvet tersebut.
- Isi kuvet dicampur menggunakan pipet dan diinkubasi pada suhu ruangan (20-25 °C) selama 10 menit.



Gambar Kuvet Urea.

- Untuk melakukan pemeriksaan absorbansi urea menggunakan spektrofotometri harus dibuat terlebih dahulu larutan blanko dan larutan standard urea berdasarkan petunjuknya pada kit urea.
- Siapkan larutan standard kit urea dan tentukan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV/Vis dengan λ : 500-700 nm.
- Setelah didapat panjang gelombang maksimum, gunakan panjang gelombang maksimum ini untuk penentuan absorbansi kurva standard dan sampel.

Didapatkan panjang gelombang maksimal larutan standar kit urea menggunakan spektrofotometri yaitu $\lambda = 695 \text{ nm}$. Dengan menggunakan panjang gelombang maksimal dilakukan pemeriksaan absorbansi pada setiap larutan standar urea yang telah dibuat.

Langkah kerja Kalibrasi Larutan standard:

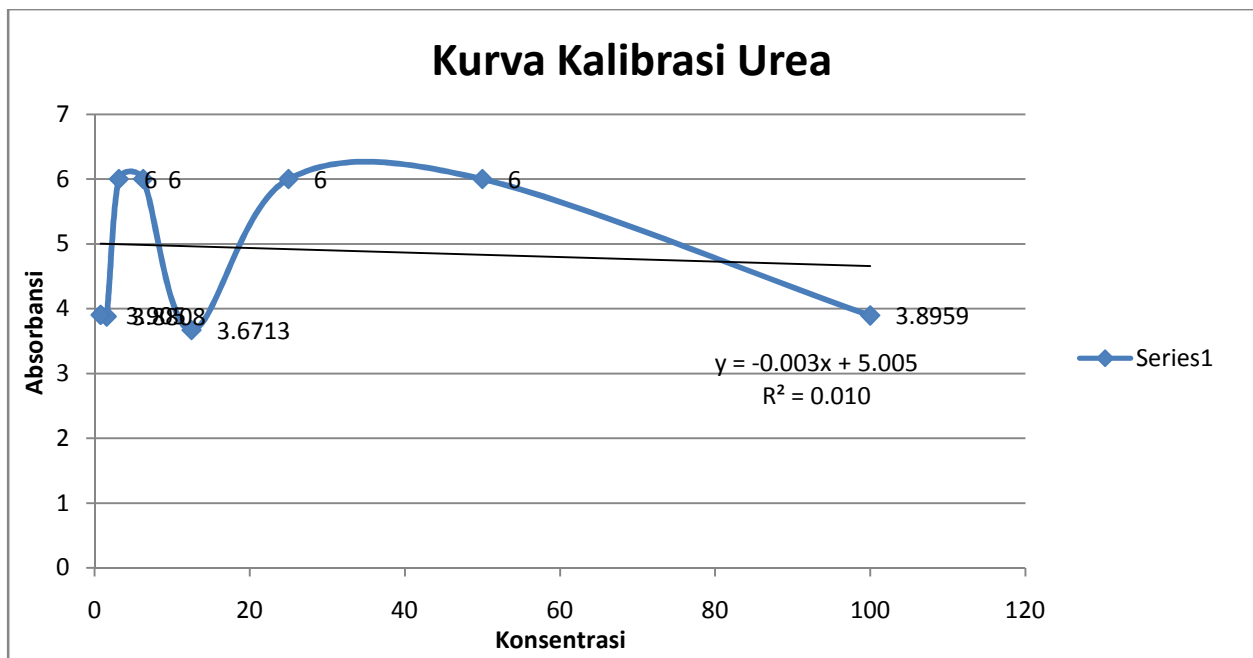
- a. Pengukuran absorbansi 8 kuvet berisi larutan urea standard dilakukan dibandingkan blanko dengan panjang gelombang 695 nm.
- b. Menghitung konsentrasi yang diperoleh dari pengukuran absorbansi dengan membandingkannya terhadap absorbansi standar urea kit (konsentrasi diketahui 80 mg/dl).

$$C_{\text{sampel}} = \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standard}}} \times 80 \text{ mg/dl}$$

- c. Membuat tabel kalibrasi hasil absorbansi larutan standard urea dan garis korelasi konsentrasi-absorbansi.

Tabel 1. Data Kalibrasi Larutan Standard Urea

Kuvet	Konsentrasi yg diinginkan (mg/dl)	Absorbansi	Konsentrasi yg didapat (mg/dl)	
Blanko Standard Kit Stok	0	0.0002		
	80	2.1438		
	100	3.8959	145.38	
	Faktor 2	6	223.90	
	Faktor 4	25	6	223.90
	Faktor 8	12.5	3.6713	137.00
	Faktor 16	6.25	6	223.90
	Faktor 32	3.125	6	223.90
	Faktor 64	1.5625	3.8808	144.82
	Faktor 128	0.78125	3.9050	145.72



Pembahasan :

Konsentrasi larutan standar yang digunakan adalah 40 mg/dl dan absorbansi standar yang digunakan adalah absorbansi larutan **Blank yaitu 0,0002**. Larutan standar kit urea dijadikan patokan karena memiliki **panjang gelombang maksimal**.

Dari grafik diatas didapat persamaan regresi yaitu $Y = -0,003x + 5,005$ dengan nilai $R^2 = 0,010$. Hal ini menunjukkan bahwa grafik kalibrasi tidak linear dan hasil yang diperoleh tidak akurat.

Untuk mengetahui apakah suatu unsur memenuhi Hukum Beer-Lambert atau tidak maka perlu ditentukan grafik kalibrasi absorbansi vs konsentrasi. Hukum Beer-Lambert hanya dapat dipenuhi jika dalam range (cakupan) konsentrasi hasil kalibrasi berupa garis lurus, jadi kita hanya bekerja pada linear range. Seringkali sampel yang dianalisa akan memiliki absorbansi yang lebih tinggi dari pada larutan standar. Jika kita berasumsi bahwa kalibrasi tetap linier pada konsentrasi yang lebih tinggi. Hukum Beer-Lambert menyatakan absorbansi cahaya berbanding lurus dengan konsentrasi dan ketebalan bahan/medium. Semakin pekat konsentrasi sebuah senyawa maka semakin banyak cahaya yang akan diserap.

Dari grafik diatas dapat kita lihat bahwa konsentrasi larutan tidak berbanding lurus dengan absorbansinya, terdapat konsentrasi larutan yang tinggi namun absorbansinya rendah sehingga didapatkan grafik yang naik turun karena data yang diperoleh tidak linear.

Kesimpulan :

- Larutan standar urea diatas tidak memenuhi hukum Beer-Lambert karena hasil kalibrasi tidak berupa garis lurus.
- Ketidak sesuaian larutan standar dengan hukum Beer-Lambert dikarenakan oleh beberapa faktor diantaranya kesalahan dalam membuat larutan, larutan yang dibuat tidak tercampur dengan baik sehingga hasilnya tidak homogen.
- Dalam pembuatan sebuah larutan, harus dilakukan secara teliti dan berhati-hati agar hasil konsentrasi yang diinginkan bisa sesuai dengan konsentrasi yang didapat. Kesesuaian konsentrasi ini dapat dibuktikan dengan spektrofotometri.

- Pada larutan standar urea diatas terdapat ketidaksesuaian antara larutan yang didapat dan larutan yang diprediksi. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti kesalahan dalam perhitungan pengenceran, kesalahan dalam mencampurkan larutan standar dengan reagen dari kit dan tidak homogennya suatu larutan.

Pemeriksaan Urea Darah

- 1 ml darah diambil pada praktikan menggunakan tourniquet dan spuit dan kemudian dimasukkan ke dalam vacuntainer yang berisi EDTA.
- Kemudian 2 buah sampel darah disentrifugasi dengan kecepatan sedang selama 5 menit.
- Setelah terpisah antara plasma dan sel darah merah, maka menggunakan micropipette diambil plasma darah sebanyak 10 µl.
- Mengisi 1000 µl reagen R1a menggunakan micropipette ke dalam 2 kuvet tersebut.
- Isi kuvet dicampur menggunakan pipet dan diinkubasi pada suhu ruangan (20-25 °C) selama 5 menit.
- Mengisi 1000 µl reagen R2 menggunakan micropipette ke dalam 2 kuvet tersebut.
- Isi kuvet dicampur menggunakan pipet dan diinkubasi pada suhu ruangan (20-25 °C) selama 10 menit.
- Pengukuran absorbansi 2 kuvet berisi larutan sampel dilakukan dibandingkan blanko dengan panjang gelombang 695 nm.
- Menghitung konsentrasi dengan membandingkan dengan absorbansi dan konsentrasi standard kit urea.

$$C_{\text{sampel}} = \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standard}}} \times 80 \text{ mg/dl}$$

- Dibuat tabel hasil absorbansi.

Kuvet	Konsentrasi (mg/dl)	Absorbansi
Blanko Standard Kit Urea Sampel Darah	0	0.0002
	80	2.1438
	36.17	0.9694

Pembahasan

Ureum berasal dari penguraian protein, terutama yang berasal dari makanan. Hampir seluruh ureum dibentuk di dalam hati, dari metabolisme protein (asam amino). Urea berdifusi bebas masuk ke dalam cairan intra sel dan ekstrasel. Zat ini dipekatkan dalam urin untuk diekskresikan. Pada keseimbangan nitrogen yang stabil, sekitar 25 gram urea diekskresikan setiap hari. Kadar dalam darah mencerminkan keseimbangan antara produksi dan ekskresi urea.

Pada orang sehat yang makanannya banyak mengandung protein, ureum biasanya berada di atas rentang normal. Kadar rendah biasanya tidak dianggap abnormal karena mencerminkan rendahnya protein dalam makanan atau ekspansi volume plasma. Namun, bila kadarnya sangat rendah bisa mengindikasikan penyakit hati berat. Kadar urea bertambah dengan bertambahnya usia, juga walaupun tanpa penyakit ginjal.

BUN atau Blood Urea Nitrogen adalah pengukuran konsentrasi nitrogen dalam darah yang hadir dalam bentuk urea. Kadar BUN setara dengan $0,466 \times$ kadar urea.

Tes BUN berguna untuk membantu mengesampingkan gejala yang menyerupai penyakit ginjal. Tes darah ini juga dapat dilakukan untuk memantau fungsi ginjal sebelum memulai terapi obat jangka panjang. Sebuah tanda penting dari tingkat urea tinggi dalam aliran darah adalah terjadinya pengurangan output urin.

Kesimpulan: Kadar urea dalam plasma darah yang diperiksa pada sampel diperoleh hasil yaitu 36,17 mg/dl plasma darah, kadar ini berada dalam batas normal.

b. Glukosa

Pembuatan Larutan Stok dan Pengenceran Larutan Glukosa.

1. Tabung Stok : 2 ml larutan stok
2. Tabung F2 : double dilution faktor 2, dengan mengambil 1 ml dari tabung stok ditambah 1 ml H₂O.
3. Tabung F4 : double dilution faktor 4, dengan mengambil 1 ml dari tabung F2 ditambah 1 ml H₂O.

4. Tabung F8 : double dilution faktor 8, dengan mengambil 1 ml dari tabung F4 ditambah 1 ml H₂O.
5. Tabung F16 : double dilution faktor 16, dengan mengambil 1 ml dari tabung F8 ditambah 1 ml H₂O.
6. Tabung F32 : double dilution faktor 32, dengan mengambil 1 ml dari tabung F16 ditambah 1 ml H₂O.
7. Tabung F64 : double dilution faktor 64, dengan mengambil 1 ml dari tabung F32 ditambah 1 ml H₂O.
8. Tabung F128 : double dilution faktor 128, dengan mengambil 1 ml dari tabung F64 ditambah 1 ml H₂O.

Menyiapkan 8 buah kuvet yang diisi masing masing 10 µl dari tiap tabung dilution yang telah disiapkan sebelumnya.

Persiapan panjang gelombang max :

GLUKOSA

- Menyiapkan 1 kuvet blanko yang berisi 10 µl H₂O dan 8 kuvet yang berisi 8 jenis konsentrasi larutan glukosa yang telah diencerkan sebelumnya.
- Mengisi 1000 µl reagen R1 menggunakan micropipette ke dalam 9 kuvet tersebut.
- Isi kuvet dicampur menggunakan pipet dan diinkubasi pada suhu ruangan (20-25 °C) selama 10 menit.



Gambar Kuvet Glukosa

- Siapkan larutan standard kit glukosa dan tentukan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV/Vis dengan λ : 400-600 nm.
- Gunakan panjang gelombang maksimum ini untuk penentuan absorbansi kurva standard dan sampel.

Didapatkan panjang gelombang maksimal menggunakan larutan standar kit glukosa yaitu $\lambda = 505 \text{ nm}$. Dengan menggunakan panjang gelombang maksimal dilakukan pemeriksaan absorbansi pada setiap larutan standar glukosa yang telah dibuat.

Langkah kerja Kalibrasi Larutan standard:

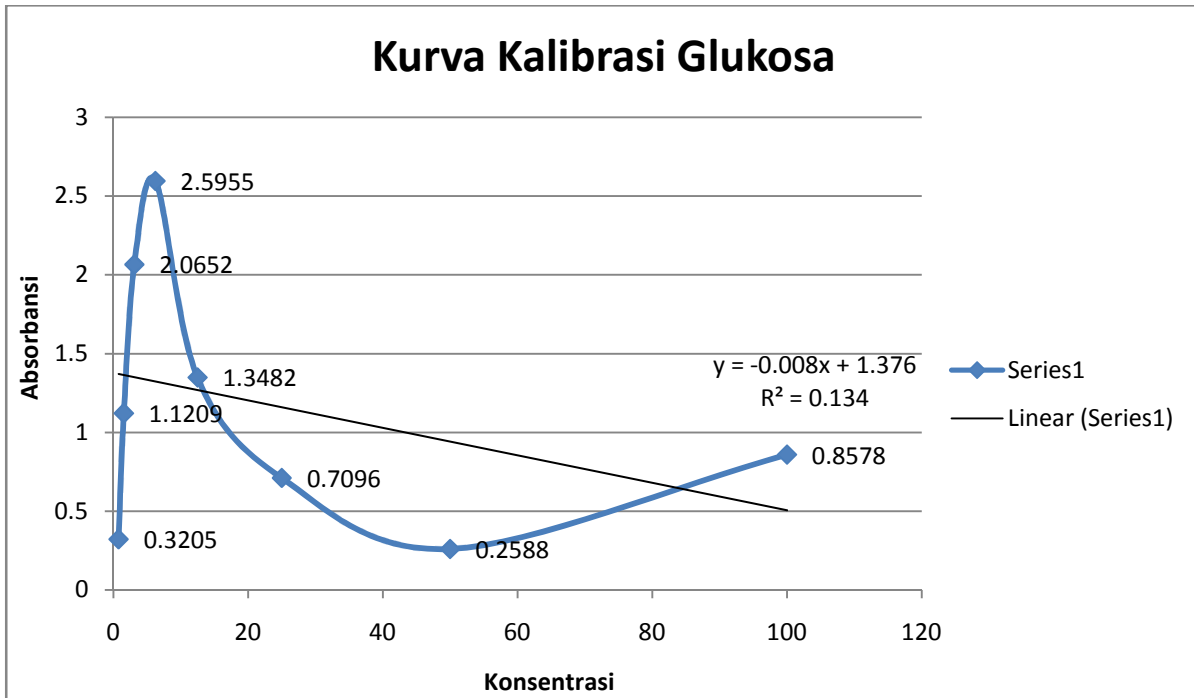
- Pengukuran absorbansi 8 kuvet berisi larutan urea standard dilakukan dibandingkan blanko dengan panjang gelombang **505 nm**.
- Menghitung konsentrasi yang diperoleh dari pengukuran absorbansi dengan membandingkannya terhadap absorbansi standar glukosa kit (konsentrasi diketahui 100 mg/dl atau mmol/l).

$$C_{\text{sampel}} = \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standard}}} \times 100 \text{ mg/dl}$$

- Membuat tabel kalibrasi hasil absorbansi larutan standard glukosa dan garis korelasi konsentrasi-absorbansi.

Tabel 2. Data Kalibrasi Larutan Standar Glukosa

Kuvet	Konsentrasi yg diinginkan (mg/dl)	Absorbansi	Konsentrasi yg didapat (mg/dl)
Blanko	0	0.0002	
Standard Kit	100	1.0922	
Stok	150	0.8578	78.54
Faktor 2	75	0.2588	23.70
Faktor 4	37.50	0.7096	64.97
Faktor 8	18.75	1.3482	123.44
Faktor 16	9.38	2.5955	237.64
Faktor 32	4.69	2.0652	189.09
Faktor 64	2.34	1.1209	102.63
Faktor 128	1.17	0.3205	29.34



Pembahasan :

Konsentrasi larutan standar yang digunakan adalah 100 mg/dl dan absorbansi standar yang digunakan adalah absorbansi larutan **Blank yaitu 0,0002**. Larutan kit glukosa dijadikan patokan karena memiliki **panjang gelombang maksimal**. Panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu. Dari grafik diatas didapat persamaan regresi yaitu **$Y = -0,008x + 1,376$** dengan nilai **$R^2 = 0,134$** . Hal ini menunjukkan bahwa grafik kalibrasi tidak linear dan hasil yang diperoleh tidak akurat. Dari grafik diperoleh persamaan regresi linear yang dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi larutan yang didapat.

Grafik pemeriksaan Absorbansi konsentrasi glukosa menunjukkan hasil yang tidak sesuai dengan hukum *Beer-Lambert* $A = \epsilon dc$. Nilai absorbansi yang didapatkan tidak berbanding lurus dengan konsentrasi glukosa yang diperiksa, terlihat pada beberapa titik konsentrasi tidak berbanding lurus dengan absorbansi. Seharusnya ketika konsentrasi sebuah larutan semakin besar maka absorbansinya juga akan semakin besar.

Kesimpulan :

- Larutan standar glukosa diatas tidak memenuhi hukum Beer-Lambert karena hasil kalibrasi tidak berupa garis lurus.
- Ketidak sesuaian larutan standar dengan hukum Beer-Lambert dikarenakan oleh beberapa faktor diantaranya kesalahan dalam membuat larutan, larutan yang dibuat tidak tercampur dengan baik sehingga hasilnya tidak homogen, adanya serapan oleh pelarut dan kuvet.
- Pada larutan standar glukosa diatas terdapat ketidaksesuaian antara larutan yang didapat dan larutan yang diinginkan. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti kesalahan dalam perhitungan pengenceran, kesalahan dalam mencampurkan larutan standar dengan reagen dari kit ataupun belum homogen.
- Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan bahwa data yang diperoleh semakin akurat dan praktikan yang melakukan percobaan lebih teliti.
- Dari grafik diperoleh persamaan regresi linear yang dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi larutan yang didapat, tetapi tidak dapat dijadikan acuan karena dari hasil diperoleh konsentrasi yang negatif yang menunjukkan bahwa konsentrasi sampel lebih kecil dari 0.

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa konsentrasi larutan sampel glukosa yang diprediksi dengan konsentrasi yang didapat dari hasil spektrofotometri berbeda. Panjang gelombang yang digunakan untuk pemeriksaan larutan sampel glukosa sesuai dengan kit yaitu $\lambda = 505 \text{ nm}$. Perbedaan ini bisa disebabkan karena kesalahan pada pembuatan larutan. Volume larutan glukosa yang dibutuhkan sangat sedikit yaitu $10 \mu\text{l}$ sehingga kemungkinan pada saat memasukkan ke dalam tabung reaksi larutan tidak seluruhnya bercampur dengan reagen, selain itu waktu persiapan sampel di cuvet dengan pengukuran absorbansi di spektrofotometer juga lama yang mengakibatkan larutan kurang homogen. Kesalahan juga dapat terjadi pada saat pengkalibrasian spektrofotometer yang digunakan.

Kesimpulan :

1. Pada larutan sampel glukosa diatas terdapat ketidaksesuaian antara larutan yang didapat dan larutan yang diprediksi.
2. Ketidak sesuaian tersebut dikarenakan oleh beberapa faktor diantaranya kesalahan dalam membuat larutan, larutan yang dibuat tidak tercampur dengan baik sehingga hasilnya tidak homogen, adanya serapan oleh pelarut dan kuvet.

Pemeriksaan Glukosa Darah.

- a. Ambil 10 µl plasma darah dari tiap sampel menggunakan micropipette dan dimasukkan ke dalam sampel
- b. Mengisi 1000 µl reagen R1 menggunakan micropipette ke dalam kuvet tersebut.
- c. Isi kuvet dicampur menggunakan pipet dan diinkubasi pada suhu ruangan (20-25 °C) selama 5 menit.
- d. Pengukuran absorbansi kuvet berisi larutan sampel dilakukan dibandingkan blanko dengan panjang gelombang **505 nm**.
- e. Menghitung konsentrasi dengan membandingkan dengan absorbansi dan konsentrasi standard kit urea.

$$C_{\text{sampel}} = \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standard}}} \times 100 \text{ mg/dl}$$

- f. Dibuat tabel hasil absorbansi.

Kuvet	Konsentrasi (mg/dl)	Absorbansi
Blanko	0	0.0002
Standard Kit Glukosa	100	1.0922
Sampel Darah	2.43	-0.0265

Pembahasan

Konsentrasi gula darah, atau tingkat glukosa serum, diatur dengan ketat di dalam tubuh. Glukosa yang dialirkan melalui darah adalah sumber utama energi untuk sel-sel tubuh.

Glukosa (kadar gula darah), suatu gula monosakarida, karbohidrat terpenting yang digunakan sebagai sumber tenaga utama dalam tubuh. Glukosa merupakan prekursor untuk sintesis semua karbohidrat lain di dalam tubuh seperti glikogen, ribose dan deoxiribose dalam asam nukleat, galaktosa dalam laktosa susu, dalam glikolipid, dan dalam glikoprotein dan proteoglikan.

Kesimpulan

Kadar glukosa dalam plasma darah yang diperiksa pada sampel diperoleh hasil yaitu 2.43 mg/dl plasma darah. Kadar glukosa dalam plasma darah kadar gula darahnya sangat rendah seperti yang tertera pada kit reagen glukosa.

Pemeriksaan Protein Darah

1. Panjang gelombang maksimum pada pemeriksaan protein plasma tidak dilakukan, gunakan panjang gelombang yang terdapat di dalam **Protein Test Kit**.
2. Menyiapkan 1 kuvet blanko yang berisi 20 µl H₂O, 1 kuvet berisi 20 µl standard kit protein dan 1 kuvet yang berisi 20 µl sampel plasma darah.
3. Mengisi 1000 µl reagen R1 menggunakan micropipette ke dalam 3 kuvet tersebut.
4. Isi kuvet dicampur menggunakan pipet dan diinkubasi pada suhu ruangan (20-25 °C) selama 1-5 menit.
5. Mengisi 250 µl reagen R2 menggunakan micropipette ke dalam 3 kuvet tersebut.
6. Isi kuvet dicampur menggunakan pipet dan diinkubasi pada suhu ruangan (20-25 °C) selama 5 menit.
7. Pengukuran absorbansi kuvet berisi larutan sampel dilakukan dibandingkan blanko dan standard kit protein dengan panjang gelombang **540 nm**.
8. Menghitung konsentrasi dengan membandingkan dengan absorbansi dan konsentrasi standard kit protein (diketahui konsentrasi 5 g/dl).

$$C_{\text{sampel}} = \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standard}}} \times 5 \text{ g/dl}$$

9. Dibuat tabel hasil absorbansi.

Tabel 3. Protein

Kuvet	Konsentrasi (g/dl)	Absorbansi
Blanko	0	0
Standard Kit Protein	5	0.2115
Sampel Darah	8.099	0.3426

Pembahasan

Protein merupakan golongan besar senyawa organik yang dijumpai dalam semua makhluk hidup. Protein plasma mencapai 7% plasma dan merupakan satu-satunya unsur pokok plasma yang tidak dapat menembus membran kapilar untuk mencapai sel. Ada 3 jenis protein plasma yang utama: albumin, globulin, dan fibrinogen. Albumin adalah protein yang paling banyak dalam darah, mengatur keseimbangan cairan tubuh. Globulin berperan sebagai proteksi sementara Fibrinogen berperan dalam proses pembekuan darah.

Pada pemeriksaan kadar protein darah sampel diperoleh hasil yaitu 8,099 g/dl. Kadar protein darah berada dalam batas normal.

Jika tubuh kekurangan protein maka dapat mengakibatkan lamanya masa penyembuhan jika terjadi sakit, karena fungsi protein, Reaksi biokimia dalam tubuh akan berjalan lebih lambat, terganggunya keseimbangan cairan, karena salah satu tugas dari protein adalah mengikat air.

Protein dalam sampel yang dicampur dengan reagent akan membentuk kompleks berwarna biru-ungu dengan ion tembaga pada larutan alkali. Absorbansi warnanya proporsional dengan konsentrasi.

Kesimpulan

- Hasil pemeriksaan kadar protein dengan membandingkan absorbansi sampel, standard dan blanko diperoleh hasil yaitu 8,099 gr/dl. Kadar protein darah berada dalam batas normal.
- Pengukuran total protein darah merupakan uji yang sangat penting dalam mendeteksi berbagai kelainan.

- Konsentrasi protein yang rendah dapat dideteksi adanya defek pada sintesa protein di hati atau kehilangan protein pada pasien dengan fungsi ginjal yang terganggu, malabsorpsi usus atau defisiensi nutrisi.

SARAN :

1. Fasilitas pendingin ruangan (AC) disediakan dalam ruangan laboratorium dan aliran kran air diperbaiki agar kegiatan praktikum dapat dilakukan dengan nyaman dan bersih.
2. Dengan adanya AC untuk percobaan yang menggunakan suhu ruangan dapat tercapai dengan baik.
3. Hasil koreksi laporan diberikan sebagai masukan dan perbaikan bagi praktikan sehingga praktikan lebih mengerti apabila ada kesalahan.