

Laporan Praktikum Biomedik 3 BM 506
Metabolisme Glukosa, Urea Dan Trigliserida
(Teknik Spektrofotometri)

Nama : Kirana Patrolina Sihombing

: Zakirullah Syafei

Tanggal praktikum : 10 Maret 2015

Tujuan Praktikum

- i) Dapat memahami prinsip-prinsip dasar teknik spektrofotometri (yaitu prinsip dasar alatnya, kuvet, standard, blanko, serta Hukum Beer-Lambert dll).
- ii) Mampu melakukan pembuatan dan penggunaan larutan stok glukosa dan urea
- iii) Mampu memperoleh data kadar glukosa, trigliserida dan urea darah
- iv) Mampu melakukan latihan pembuatan dan interpretasi grafik
- v) Mampu mempersiapkan untuk praktikum Metabolisme II” untuk mendesain dan melakukan percobaan yang berdasarkan teknik-teknik pratikum ini

I. Prinsip Dasar Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu obyek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet.

Spektrofotometer dibagi menjadi dua jenis yaitu spektrofotometer *single-beam* dan spektrofotometer *double-beam*. Perbedaan kedua jenis spektrofotometer tersebut hanya pada pemberian cahaya, dimana pada *single-beam*, cahaya hanya melewati satu arah sehingga nilai yang diperoleh hanya nilai absorbansi dari larutan yang dimasukan. Berbeda dengan *single-beam*, pada spektrofotometer *double-beam*, nilai blanko dapat langsung diukur bersamaan dengan larutan yang diinginkan dalam satu kali proses yang sama.

Prinsip kerja spektrofotometri berdasarkan hukum Lambert-Beer. Bila cahaya monokromatik (I_0), melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap (I_a), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t). Transmittans adalah perbandingan intensitas cahaya yang di transmisikan ketika melewati sampel (I_t) dengan intensitas cahaya mula-mula sebelum melewati sampel (I_0). Persyaratan hukum Lambert-Beer antara lain : Radiasi yang digunakan harus monokromatik, energi radiasi yang diabsorpsi oleh sampel tidak menimbulkan reaksi kimia, sampel (larutan) yang mengabsorpsi harus homogen, tidak terjadi fluoresensi atau phosphoresensi, dan indeks refraksi tidak berpengaruh terhadap konsentrasi, jadi larutan harus pekat (tidak encer). Adanya chopper yang akan membagi sinar menjadi dua, dimana salah satu melewati blanko (disebut juga *reference beam*) dan yang lainnya melewati larutan (disebut juga *sample beam*). Dari kedua jenis spektrofotometer tersebut, spektrofotometer *double-beam* memiliki keunggulan lebih dibanding *single-beam*, karena nilai absorbansi larutannya telah mengalami pengurangan terhadap nilai absorbansi blanko. Selain itu, pada *single-beam*, ditemukan juga beberapa kelemahan seperti perubahan intensitas cahaya akibat fluktuasi voltase.

Jenis-jenis Spektrofotometri

Spektrofotometri terdiri dari beberapa jenis berdasarkan sumber cahaya yang digunakan. Diantaranya adalah sebagai berikut :

1) Spektrofotometri Vis (Visible)

Pada spektrofotometri ini yang digunakan sebagai sumber sinar/energi adalah cahaya tampak (Visible). Cahaya visible termasuk spectrum elektromagnetik yang dapat ditangkap oleh mata manusia. Panjang gelombang sinar tampak adalah 380-750 nm. Sehingga semua sinar yang dapat dilihat oleh mata manusia, maka sinar tersebut termasuk kedalam sinar tampak (Visible).

2) Spektrofotometri UV (Ultra Violet)

Berbeda dengan spektrofotometri Visible, pada spektrofotometri UV berdasarkan interaksi sampel dengan sinar UV. Sinar UV memiliki panjang gelombang 190-380 nm. Sebagai sumber sinar dapat digunakan lampu deuterium. Deuterium disebut juga heavy hydrogen. Dia merupakan isotop hydrogen yang stabil yang terdapat berlimpah di laut dan di daratan.

Karena sinar UV tidak dapat dideteksi oleh mata manusia maka senyawa yang dapat menyerap sinar ini terkadang merupakan senyawa yang tidak memiliki warna, bening dan transparan.

3) Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri ini merupakan gabungan antara spektrofotometri UV dan Visible. Menggunakan dua buah sumber cahaya berbeda, sumber cahaya UV dan sumber cahaya visible. Meskipun untuk alat yang lebih canggih sudah menggunakan hanya satu sumber sinar sebagai sumber UV dan Vis, yaitu photodiode yang dilengkapi dengan monokromator.

Untuk sistem spektrofotometri, UV-Vis paling banyak tersedia dan paling populer digunakan. Kemudahan metode ini adalah dapat digunakan baik untuk sample berwarna juga untuk sample tak berwarna. Spektrofotometri ultraviolet-visible (UV-Vis atau UV / Vis) melibatkan spektroskopi dari foton dalam daerah UV-terlihat. Ini berarti menggunakan cahaya dalam terlihat dan berdekatan (dekat ultraviolet (UV) dan dekat dengan inframerah (NIR)) kisaran. Penyerapan dalam rentang yang terlihat secara langsung mempengaruhi warna bahan kimia yang terlibat. Di wilayah ini dari spectrum elektromagnetik, molekul mengalami transisi elektronik. Teknik ini melengkapi fluoresensi spektroskopi, di fluoresensi berkaitan dengan transisi dari ground state ke eksited state.

Penyerapan sinar uv dan sinar tampak oleh molekul, melalui 3 proses yaitu :

- a. Penyerapan oleh transisi electron ikatan dan electron anti ikatan.
- b. Penyerapan oleh transisi electron d dan f dari molekul kompleks
- c. Penyerapan oleh perpindahan muatan.

4) Spektrofotometri IR (Infra Red)

Spektrofotometri ini berdasar kepada penyerapan panjang gelombang Inframerah. Cahaya Inframerah, terbagi menjadi inframerah dekat, pertengahan dan jauh. Inframerah pada spektrofotometri adalah inframerah jauh dan pertengahan yang mempunyai panjang gelombang 2.5-1000 mikrometer. Hasil analisa biasanya berupa signal kromatogram hubungan intensitas IR terhadap panjang gelombang. Untuk identifikasi, signal sampel akan dibandingkan dengan signal standard.



Gambar 1. Spektrofotometer

Tabel 1. Alat dan bahan yang digunakan dalam praktikum ini adalah

Tourniquet	Swab alcohol	Tempat pembuangan yang tajam
Jarum suntik	EDTA	Tempat pembuangan yang kena darah
Pipet Mohr	Urea	Kit pemeriksaan urea
Alat sentrifus klinik	Glukosa	Kit pemeriksaan glukosa
Alat spektrofotometer	Kuvet	Kit pemeriksaan trigeliserida
Waterbath 37oC	Tabung reaksi dan rak	Pipet otomatis 10µl - 100µl
Pipet tetes	Kuvet plastik	

II. Teknik Pengukuran Glukosa, Urea, dan Trigliserida

A. Latihan Pembuatan Larutan Stok

- Larutan stok glukosa : 50 ml larutan glukosa 1,5 g/L (150mg / dL), maka jumlah bubuk glukosa yang dibutuhkan 0,075 g. + aquadest sebanyak 49.025 mL
- Larutan stok urea : 10 ml larutan urea 1.0 g/L (100mg/dL), maka jumlah bubuk urea yang dibutuhkan = 0.01 g + aquadest sebanyak 49.99 mL

B. Pengenceran untuk Kurva Kalibrasi dari larutan stok glukosa dan urea :

1.a. Menyiapkan larutan standar dari larutan stok glukosa:

- a. 80 mg/dl standar glukosa dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O
- b. 90 mg/dl standar glukosa dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O
- c. 100 mg/dl standar glukosa dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O
- d. 110 mg/dl standar glukosa dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O
- e. 120 mg/dl standar glukosa dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O

1.b. Lakukan pengenceran berdasarkan perhitungan yang sudah dibuat

- a. 80mg/dl standar glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O

$$V1. N1 = V2.N2$$

$$x. 150 = 10. 80$$

$$x = 800/150$$

$$x = 5,3334 \text{ ml} \rightarrow \text{dibutuhkan } 5,334 \text{ ml larutan stok glukosa dan } 4,666 \text{ ml Aquades}$$

- b. Dibutuhkan 6 ml larutan stok glukosa dan 4 ml aquades untuk membuat 10 ml larutan standar glukosa 90mg/dl

- c. Dibutuhkan 6,667 ml larutan stok glukosa dan 3,333 ml aquades untuk membuat 10 ml larutan standar glukosa 100mg/dl
- d. Dibutuhkan 7,33 ml larutan stok glukosa dan 2,667 ml aquades untuk membuat 10 ml larutan standar glukosa 110mg/dl
- e. Dibutuhkan 8 ml larutan stok glukosa dan 2ml aquades untuk membuat 10 ml larutan standar glukosa 120mg/dl

2.a. Menyiapkan larutan standar dari larutan stok:

- a. 20 mg/dl standar urea dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O
- b. 30 mg/dl standar urea dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O
- c. 40 mg/dl standar urea dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O
- d. 50 mg/dl standar urea dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O
- e. 60 mg/dl standar urea dilarutkan hingga 10ml dengan H₂O

2.b. Lakukan pengenceran berdasarkan perhitungan yang sudah dibuat

- a. 20mg/dl standar urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O

$$V1. N1 = V2.N2$$

$$x. 100 = 10. 20$$

$$x = 200/100$$

$$x = 2 \text{ ml} \rightarrow \text{dibutuhkan 2 ml larutan stok urea dan 8 ml Aquades}$$

- b. Dibutuhkan 3 ml larutan stok urea dan 7 ml aquades untuk membuat 10 ml larutan standar glukosa 30mg/dl
- c. Dibutuhkan 4 ml larutan stok urea dan 6 ml aquades untuk membuat 10 ml larutan standar urea 40mg/dl
- d. Dibutuhkan 5 ml larutan stok urea dan 5 ml aquades untuk membuat 10 ml larutan standar urea 50mg/dl.
- e. Dibutuhkan 6 ml larutan stok urea dan 4 aquades untuk membuat 10 ml larutan standar urea 60mg/dl

2.c. Trigliserida : tidak menggunakan kurva kalibrasi tetapi menggunakan larutan standar yang terdapat pada kit protein test.

C.Persiapan Panjang Gelombang Maksimal

a. Glukosa

- Menyiapkan 100mg/dL standard glukosa dan menentukan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV/Vis dengan λ : 400-600 nm
- Menyiapkan kuvet blangko : terdiri atas 1000 μ l reagen glukosa
- Menyiapkan kuvet standar : terdiri atas 1000 μ l reagen glukosa + 10 μ l larutan standar glukosa dengan konsentrasi 100 mg/dL)
- Masukkan kuvet blangko ke dalam spektrofotometer, lalu diseting panjang gelombangnya sesuai kit glukosa 400-600 nm secara manual, lalu tekan tombol tare/nol(zero) sampai menemukan absorbansi 0
- kuvet blangko dikeluarkan lalu masukkan kuvet standar, tekan enter . maka akan muncul $\lambda = 479.0 \text{ nm}$ dengan angka absorbansi : 0,535
- Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum yang didapatkan untuk menentukan absorbansi kurva standard an sampel.

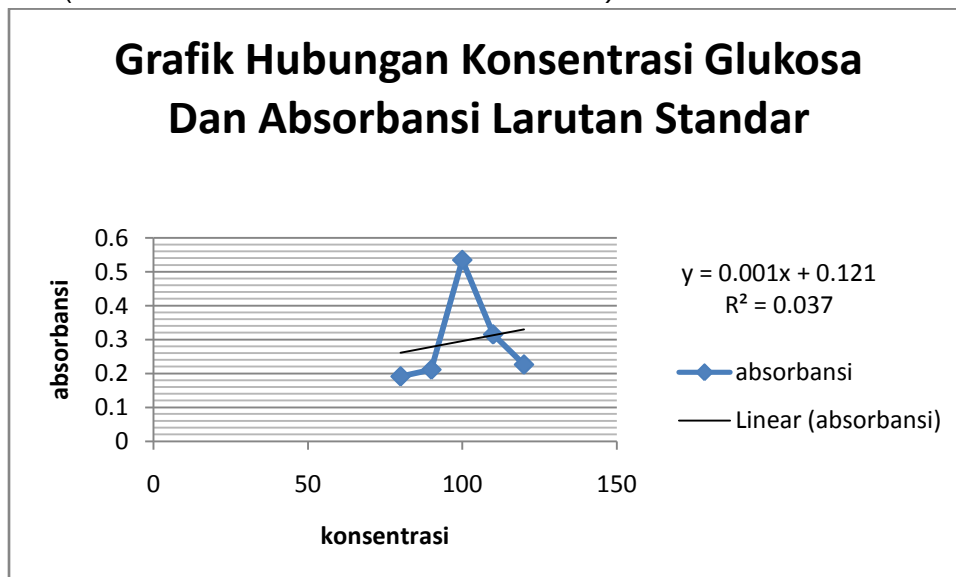
b. Urea

- Menyiapkan 40mg/dL standard urea dan menentukan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV/Vis dengan λ : 500-700 nm
- Menyiapkan kuvet blangko : terdiri atas 1000 μ l reagen urea
- Menyiapkan kuvet standar : terdiri atas 1000 μ l reagen urea + 10 μ l larutan standar urea dengan konsentrasi 40 mg/dL)
- Masukkan kuvet blangko ke dalam spektrofotometer, lalu diseting panjang gelombangnya sesuai kit glukosa 500-700 nm secara manual, lalu tekan tombol tare/nol(zero) sampai menemukan absorbansi 0
- kuvet blangko dikeluarkan lalu masukkan kuvet standar, tekan enter . maka akan muncul λ = 689,5 nm dan angka absorbansi 0.144.
- Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum yang didapatkan untuk menentukan absorbansi kurva standar dan sampel.

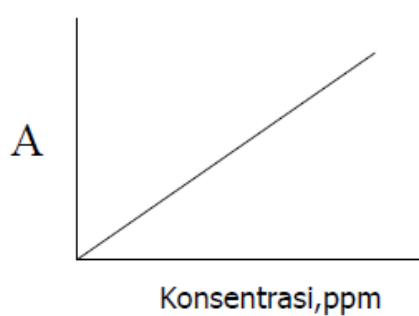
Tabel 2. Hasil kalibrasi larutan standar Glukosa

mg/dL	Absorbansi (ABS) mg/dL
80	0.191
90	0.211
100	0.535
110	0.315
120	0.226

Gambar 2. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Glukosa
(λ maksimal = 479.0 nm dan ABS = 0.535)



Bila larutan memenuhi hukum lambert beer, maka kurva standar akan berupa garis lurus.



$$A = \epsilon dc$$

Dimana:

c = konsentrasi larutan (M)

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

d = jarak yang dilalui cahaya (cm)

A = serapan cahaya

Gambar 3. Kurva Kalibrasi berdasarkan hukum Beer Lambert.

Berdasarkan kurva kalibrasi diatas, dapat diamati kecenderungan garis/linear kurva tidak naik/linear seperti teori Beer Lambert, namun mengalami alur naik-turun. Absorbansi terendah didapatkan pada konsentrasi 80, sedangkan tertinggi pada konsentrasi 100 dan bukan pada konsentrasi tertinggi yaitu 120. Kecenderungan grafik menaik hanya pada tiga titik konsentrasi (80,90, dan 100) sedangkan pada konsentrasi 110 dan 120 mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan hubungan/korelasi tidak positif antara konsentrasi glukosa dengan tingkatan absorbansi yang ditunjukkan dengan koefisien korelasi (R square) = 0.037, yang berarti korelasi yang sangat lemah. Kondisi ini belum sesuai dengan hukum Beer Lambert yang mengatakan semakin tinggi jumlah konsentrasi sampel maka semakin tinggi pula jumlah absorbansinya. Persamaan matematis kurva kalibrasi diatas adalah : $Y = 0.001x + 0.121$. berdasarkan rumus persamaan kurva kalibrasi ini dapat dicari konsentrasi sampel :

$$X (\text{konsentrasi}) = Y(\text{absorbansi}) - 0.121 / 0.001$$

Pengenceran yang dilakukan oleh praktikan seyogyanya belumlah tepat, karena didapatkan hasil R^2 kurang dari 1, sehingga belum menunjukkan korelasi yang tidak signifikan antara konsentrasi glukosa dan jumlah absorbansi. Kurva kalibrasi standar glukosa belum memenuhi hukum Beer Lambert karena kurva yang terbentuk linear naik turun, sedangkan seharusnya linear menaik, dalam hal ini penyebabnya bias dimungkinkan karena keterampilan praktikan belum cukup baik dalam hal pipeting, pengenceran larutan, pelaksanaan pengukuran dengan alat spektrofotometri, dan lainnya.

Selanjutnya dibandingkan konsentrasi yang dihitung berdasarkan penghitungan dengan persamaan regresi yaitu $X (\text{konsentrasi}) = Y(\text{absorbansi}) - 0.121 / 0.001$, dan berdasarkan kit yang telah ada pada panduan pabrikan atau label, yaitu :

$$C_{\text{Sampel}} = \frac{\Delta A_{\text{Sampel}}}{\Delta A_{\text{Standar}}} \times C_{\text{Standar}}$$

C_{sampel} : konsentrasi sampel larutan
 ΔA_{sampel} = Absorbansi sampel larutan
 $\Delta A_{\text{standar}}$ = Absorbansi standar

Tabel 1. Perbandingan Hasil Pengukuran Pengenceran decimal dilution Glukosa menggunakan panjang gelombang berdasarkan kurva kalibrasi (λ maksimal = 479.0 nm) dan kit (λ = 500nm)

Pengenceran	Konsentrasi prediksi	Konsentrasi glukosa berdasarkan kurva kalibrasi (λ maksimal = 479.0 nm)	Absorbansi berdasarkan kurva kalibrasi	Konsentrasi glukosa berdasarkan kit (λ = 500nm)	Absorbansi Berdasarkan kit
0,1x	15	138	0.259	122.89	0.306
0,01x	1.5	100	0.221	98.79	0.246
0,001x	0.15	- 98	0.023	9.23	0.023
0,3x	5	-2	0.119	83.53	0.208
0,03x	0.5	151	0.272	87.55	0.218
0,003x	0.05	68	0.189	93.97	0.234

Tabel 2. Pengukuran Pengenceran doubling solution Glukosa menggunakan panjang gelombang sesuai kit reagensia (λ = 500 nm) dan sesuai kurva kalibrasi (λ = 479.0 nm)

Faktor Pengenceran	Konsentrasi prediksi	Konsentrasi glukosa sesuai kit reagensia (λ = 500 nm)	Absorbansi(ABS standar 0.249)	Konsentrasi glukosa sesuai kurva kalibrasi (λ = 479.0 nm)	Absorbansi sesuai kurva kalibrasi
Faktor 2	75	86.34	0.215	15	0.136
Faktor 4	37.5	81.53	0.203	-33	0.088
Faktor 8	18.75	105.22	0.262	164	0.285
Faktor 16	9.37	127.31	0.317	137	0.258
Faktor 32	4.68	97.59	0.243	67	0.188
Faktor 64	2.34	97.18	0.242	75	0.196
Faktor 128	1.17	45.78	0.114	-22	0.099

Berdasarkan tabel diatas, terdapat perbedaan konsentrasi glukosa antara panjang gelombang dari kit dan kurva kalibrasi. Nilai absorbansi terukur negatif dapat disebabkan kuvet untuk pengukuran sampel dan blangko berbeda, oleh sebab itu selalu menggunakan kuvet yang sama untuk semua pengukuran. Nilai absorbansi terukur lebih besar daripada nilai sebenarnya yang diprediksi dapat terjadi akibat dinding kuvet tidak bersih, tersentuh jari praktikan, kuvet aru saja dipakai untuk larutan yang lebih pekat. Oleh karena itu dalam praktikum gunakan 1 kuvet untuk semua pengukuran, dinding kuvet yang dilewati sinar jangan tersentuh dengan jari, setiap selesai mengukur absorbansi suatu larutan, kuvet dicuci dengan pelarut yang dipakai untuk membuat sampel sampai benar-benar bersih. Hal lain yang penting adalah selalu mengecek titik nol setiap kali pengukuran agar stabil.

Berdasarkan kedua kurva diatas dapat ditarik kesimpulan :

1. Pengenceran yang dilakukan oleh praktikan belum baik karena didapatkan hasil R^2 kecil dari 1(satu).
2. Kurva kalibrasi standar glukosa belum memenuhi hukum Beer Lambert karena kurva yang terbentuk linear tidak menaik melainkan naik turun.
3. Konsentrasi yang diharapkan belum sesuai.
4. Keterampilan praktikan belum baik.

B. Urea

Tabel 3. Hasil perhitungan kurva kalibrasi larutan standar urea ($\lambda = 689.5 \text{ nm}$)

mg/dL	Absorbansi mg/dL
20	0.139
30	0.260
40	0.144
50	0.215
60	0.190

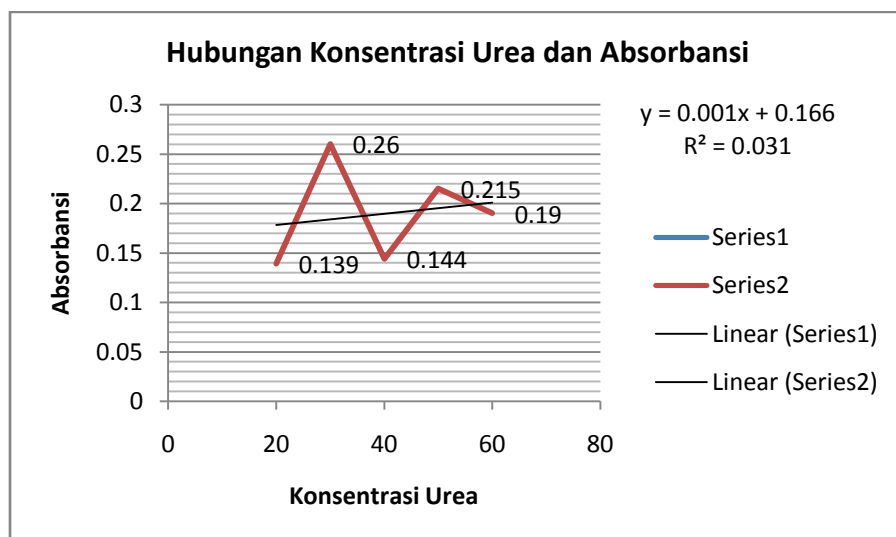
Konsentrasi dalam tabel diatas dicari menggunakan rumus yang ada tertera di reagensia urea kit.

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

C sampel : konsentrasi sampel larutan
 ΔA sampel = Absorbansi sampel larutan
 ΔA standar = Absorbansi standar
 C standar = konsentrasi standar yang diketahui

Larutan 40 mg/dL ditetapkan sebagai larutan acuan untuk menentukan panjang gelombang yang dicari dan dipakai kepada larutan yang lain karena larutan ini memiliki panjang gelombang maksimal. Hasil panjang gelombang yang didapatkan pada spektrofotometer adalah : $\lambda = 689.5 \text{ nm}$, dan jumlah absorban 0.144

Gambar 4. Kurva Kalibrasi Standar Urea



Berdasarkan kurva kalibrasi diatas, dapat diamati kecenderungan garis/linear kurva tidak naik/linear seperti teori Beer Lambert, namun mengalami alur naik-turun. Absorbansi terendah didapatkan pada konsentrasi 20, sedangkan tertinggi pada konsentrasi 50 dan bukan pada konsentrasi tertinggi yaitu 60. Kecenderungan grafik menaik hanya pada dua titik konsentrasi (20 dan 30) sedangkan pada konsentrasi 40 menurun kembali walaupun panjang gelombangnya maksimal didapat dengan konsentrasi 40. Hal ini menunjukkan hubungan/korelasi tidak positif antara konsentrasi urea dengan tingkatan absorbansi yang ditunjukkan dengan koefisien korelasi (R^2) = 0.031, yang berarti korelasi yang sangat lemah. Kondisi ini belum sesuai dengan hukum Beer Lambert yang mengatakan semakin tinggi jumlah konsentrasi sampel maka semakin tinggi pula jumlah absorbansinya. Persamaan matematis kurva kalibrasi diatas adalah : $Y = 0.001x + 0.166$. Berdasarkan rumus persamaan kurva kalibrasi ini dapat dicari konsentrasi sampel :

$$X (\text{konsentrasi}) = Y(\text{absorbansi}) - 0.166 / 0.001 (\text{Pengenceran Urea tidak dilakukan})$$

Kurva kalibrasi standar urea belum memenuhi hukum Beer Lambert karena kurva yang terbentuk naik turun, sedangkan seharusnya linear menaik, dalam hal ini penyebabnya bias dimungkinkan karena keterampilan praktikan belum cukup baik dalam hal pipeting, pengenceran larutan, pelaksanaan pengukuran dengan alat spektrofotometri, dan lainnya.

Selanjutnya dibandingkan konsentrasi yang dihitung berdasarkan penghitungan dengan persamaan regresi yaitu $X (\text{konsentrasi}) = Y(\text{absorbansi}) - 0.166 / 0.001$, dan berdasarkan kit yang telah ada pada panduan pabrikan atau label

C. Sampel Darah

Pada penentuan konsentrasi urea dengan kurva kalibrasi digunakan rumus yaitu:

$$C_{\text{Sampel}} = \frac{\Delta A_{\text{Sampel}}}{\Delta A_{\text{Standar}}} \times 40 \text{ mg/dL}$$

Pada penentuan konsentrasi urea dengan reagensia kit digunakan rumus yaitu:

$$C_{\text{Sampel}} = \frac{\Delta A_{\text{Sampel}}}{\Delta A_{\text{Standar}}} \times 80 \text{ mg/dL}$$

Berdasarkan rumus diatas dapat dituliskan konsentrasi berdasarkan kurva kalibrasi dan berdasarkan reagensia kit.

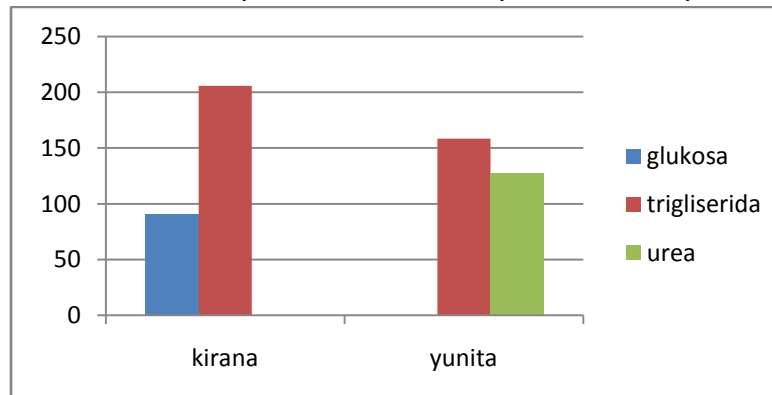
Tabel 4. Perbandingan konsentrasi sampel glukosa dan urea yang dihitung menggunakan kurva kalibrasi dan rumus pada reagensia test kit

Nama mahasiswa (praktikan)	(Berdasarkan kit)		Berdasarkan kurva kalibrasi	
	Abs	Kadar/konsentrasi	Abs	Kadar/konsentrasi
Kirana patrolina sihombing (32 tahun) → Glukosa	0.225	$0.225/0.249 \times 100 = 90.36$	0.197	$0.197/0.535 \times 100 = 36.82 \text{ mg/dL}$
Yunita → Urea	0.167	$0.167/0.105 \times 80 = 127.23 \text{ mg/dL}$	0.311	$0.311/0.144 \times 40 = 86.38 \text{ mg/dL}$

Tabel 5. Data hasil pemeriksaan glukosa, urea, dan trigliserida dalam plasma

Keterangan mahasiswa	Glukosa ($\lambda : 500\text{nm}$)		Trigliserida ($\lambda : 530\text{nm}$)		Urea ($\lambda : 600\text{nm}$)	
	A	Kadar (mg/dL)	A	Kadar (mg/dL)	A	Kadar (mg/dL)
Kirana Usia: 32 tahun Makanan : nasi + sambal teri + minum susu anlene Waktu: 3 jam sebelum diperiksa	0.225	90.36	0.313	205.92	-	-
Yunita Usia : 28 tahun Makanan: ifumie Waktu: 1 jam sebelum diperiksa	-	-	0.241	158.55	0.167	127.24

Gambar 5. Grafik pemeriksaan kadar plasma darah praktikan



Berdasarkan hasil pengamatan yang ditunjukkan pada tabel dan grafik diatas didapatkan adanya perbedaan kadar trigliserida dalam plasma darah antara Kirana ; 205.92

mg/dL dan Yunita ; 158,55 mg/dL. Perbedaan konsentrasi tersebut dapat disebabkan oleh adanya perbedaan jenis makanan yang dimakan oleh setiap praktikan. Kadar trigliserida normal berkisar $< 150\text{mg/dL}$ sedangkan kadar trigliserida suspect resiko arterosklerosis menurut kit berkisar $> 150\text{mg/dL}$, sedangkan untuk penderita berkisar $\geq 200\text{mg/dL}$. Bila dibandingkan dengan kadar standar pada kit kedua praktikan sudah masuk dalam suspect arterosklerosis. Namun, hasil ini tetap berprinsip pada keluhan pasien, apakah dengan hasil tersebut sudah menimbulkan gejala, atau bias saja hasil ini belumlah valid oleh karena kemampuan praktikan yang masih pemula, sehingga belum begitu menguasai alat spektrofotometri.

Menurut tabel diatas diketahui konsentrasi glukosa Kirana 90.36mg/dL . Menurut kadar glukosa normal di dalam darah pada kit berkisar antara $75-115\text{ mg/dL}$, sehingga dapat dinyatakan bahwa kadar glukosa dalam plasma darah Kirana masih dalam batas normal. Pemeriksaan ini termasuk pemeriksaan glukosa sewaktu karena tidak diawali dengan puasa selama 10 jam, sehingga perlu dilakukan setelah puasa agar hasilnya lebih valid.

Kesimpulan :

Berdasarkan hasil pengamatan diatas dapat disimpulkan :

1. Spektrofotometri adalah alat yang dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi zat terlarut yang terdapat pada suatu larutan yang mengalami perubahan warna setelah dicampur dengan menggunakan reagensia dengan mengukur jumlah cahaya yang melewati larutan tersebut.
2. Dari semua grafik kurva di atas dapat dilihat bahwa adanya kesesuaian **hukum Bert-Lambert** di mana kita dapat menghitung konsentrasi larutan yang sebenarnya dari larutan yang telah kita buat yaitu dengan membandingkannya dengan larutan standar (larutan sampel yang telah disediakan)
3. Dari grafik di atas seluruhnya dapat dilihat bahwa tidak ada satupun larutan yang dibuat sesuai dengan konsentrasi larutan yang diprediksi.
4. Pemeriksaan kadar glukosa, trigliserida, dan urea dari plasma masing-masing praktikan dapat dilihat adanya variasi hasil pengukuran. Hal ini dikarenakan adanya variasi jenis makanan yang dimakan, umur yang berbeda, jenis kelamin yang berbeda, waktu makan yang berbeda, maupun faktor-faktor lainnya seperti menderita penyakit-penyakit tertentu sehingga membuat adanya variasi hasil pengukuran.

Saran :

1. Hasil koreksi laporan diberikan sebagai masukan dan perbaikan bagi praktikan sehingga praktikan lebih mengerti apabila ada kesalahan
2. Sebaiknya diberikan kesempatan bagi praktikan untuk mencobakan sendiri alat yang dipraktikumkan sehingga mengerti apabila ada kesalahan prosedur.