

LAPORAN PRAKTIKUM
METABOLISME GLUKOSA, UREA, DAN TRIGLISERIDA
(TEKNIK SPEKTROFOTOMETRI)

Nama : Hadiyatur Rahma (147008004)
Meutia Atika Faradilla (147008014)

Tanggal Praktikum : 10 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 yg 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 10µl - 100µl
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)

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

= 0,01 gram urea yang dibutuhkan

b. Larutan stok glukosa

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

Jumlah bubuk glukosa yang dibutuhkan = $50 \times 1,5/1000$
 = 0,075 gram glukosa yang dibutuhkan

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 H₂O
 $V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (20 \times 10) / 100 = 2 \text{ ml}$
 Jadi, dibutuhkan 2ml larutan stok urea + 8ml aquades
2. Siapkan 30 mg/dl standard urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O
 $V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (30 \times 10) / 100 = 3 \text{ ml}$
 Jadi, dibutuhkan 3ml larutan stok urea + 7ml aquades
3. Siapkan 40 mg/dl standard urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O
 $V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (40 \times 10) / 100 = 4 \text{ ml}$
 Jadi, dibutuhkan 4ml larutan stok urea + 6ml aquades
4. Siapkan 50 mg/dl standard urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O
 $V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (50 \times 10) / 100 = 5 \text{ ml}$
 Jadi, dibutuhkan 5ml larutan stok urea + 5ml aquades
5. Siapkan 60 mg/dl standard urea dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O
 $V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (60 \times 10) / 100 = 6 \text{ ml}$
 Jadi, dibutuhkan 6ml larutan stok urea + 4ml aquades

Protap pemeriksaan glukosa, protein dan urea menggunakan spektrofotometri :

	GLUKOSA	PROTEIN	UREA
volume reagensia kit	1000µl reagensia glukosa	1000µl reagensia	1000µl reagensia A , inkubasi pertama 1000µl reagensia 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 ** 2X **
periksa pada $\lambda =$	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.
- Siapkan 40 mg/dl standard urea dan tentukan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV/Vis dengan λ : 500-700 nm
- Gunakan panjang gelombang maksimum ini untuk penentuan absorbansi kurva standard dan sampel



Gambar 1. larutan urea pada kuvet yang berisi larutan standar, larutan sampel dan blanko



Gambar 2. Spektrofotometri

Didapatkan panjang gelombang maksimal larutan standar urea 40ml menggunakan spektrofotometri yaitu $\lambda = 689,5 \text{ nm}$

Dengan menggunakan panjang gelombang diatas dilakukan pemeriksaan absorbansi pada setiap larutan standar urea yang telah dibuat. Dan diperoleh datanya pada tabel dibawah ini :

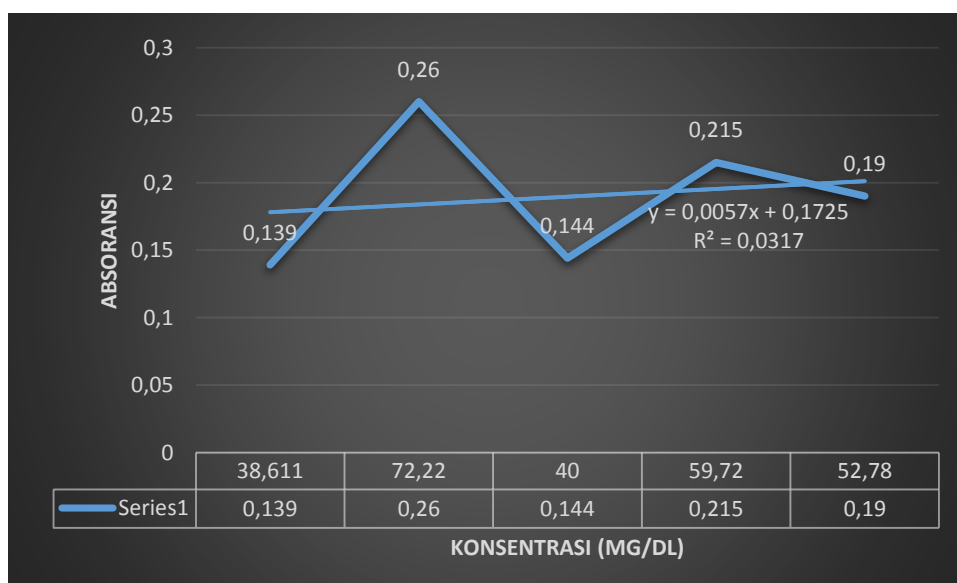
Tabel 1a : Urea – data kalibrasi larutan standar urea

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

Tabel 1b : Data kalibrasi Larutan sampel urea

Jenis Sampel Urea	Absorbansi	Konsentrasi yang didapat [mg/dl]
Serum Plasma	0,311	86,39

Kurva 1a.Urea – data kalibrasi larutan standar urea



Pembahasan :

Untuk mencari konsentrasi yang didapat pada larutan standar digunakan rumus :

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

Dimana : C = konsentrasi larutan

A = Absorbansi

Konsentrasi larutan standar yang digunakan adalah 40 mg/ dl dan absorbansi standar yang digunakan adalah absorbansi larutan **40ml yaitu 0,144**. Larutan 40ml dijadikan patokan karena memiliki **panjang gelombang maksimal**.

Dari grafik diatas didapat persamaan regresi yaitu **$Y = 0,0057x + 0,1725$** dengan nilai

$R^2 = 0,0317$. Hal ini menunjukkan bahwa grafik kalibrasi tidak linear dan hasil yang diperoleh tidak akurat.

Untuk mengetahui apakah suatu unsur memenuhi Hukum Beer atau tidak maka perlu ditentukan grafik kalibrasi absorbansi vs konsentrasi. Hukum Beer 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 menyatakan absorbansi cahaya berbanding lurus dengan dengan konsentrasi dan ketebalan bahan/medium. Semakin pekat konsentrasi sebuah senyawa maka semakin banyak cahaya yang akan diserap.

$$A = \epsilon c l$$

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 lambert beer karena hasil kalibrasi tidak berupa garis lurus.
- Ketidak sesuaian larutan standar dengan hukum lambert-beer 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 factor seperti kesalahan dalam perhitungan pancairan, kesalahan dalam mencampurkan larutan standar dengan reagen dari kit juga tidak meratanya pengadukan larutan sehingga belum homogen.

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 H₂O

$$V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (80 \times 10) / 150 = 5,33 \text{ ml}$$
 Jadi, dibutuhkan 5,33ml larutan stok urea + 4,67ml aquades
2. Siapkan 90 mg/dl standard glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O

$$V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (90 \times 10) / 150 = 6 \text{ ml}$$
 Jadi, dibutuhkan 6ml larutan stok urea + 4ml aquades
3. Siapkan 100 mg/dl standard glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O

$$V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (100 \times 10) / 150 = 6,67 \text{ ml}$$
 Jadi, dibutuhkan 6,67ml larutan stok urea + 3,33ml aquades
4. Siapkan 110 mg/dl standard glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O

$$V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (110 \times 10) / 150 = 7,33 \text{ ml}$$
 Jadi, dibutuhkan 7,33ml larutan stok urea + 2,67ml aquades
5. Siapkan 120 mg/dl standard glukosa dilarutkan hingga 10 ml dengan H₂O

$$V_2 = (V_1 \times C_1) / C_2 = (120 \times 10) / 150 = 8 \text{ ml}$$
 Jadi, dibutuhkan 8ml larutan stok urea + 2ml aquades

Persiapan panjang gelombang max :

Glukosa :

- Siapkan 100 mg/dl standard 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

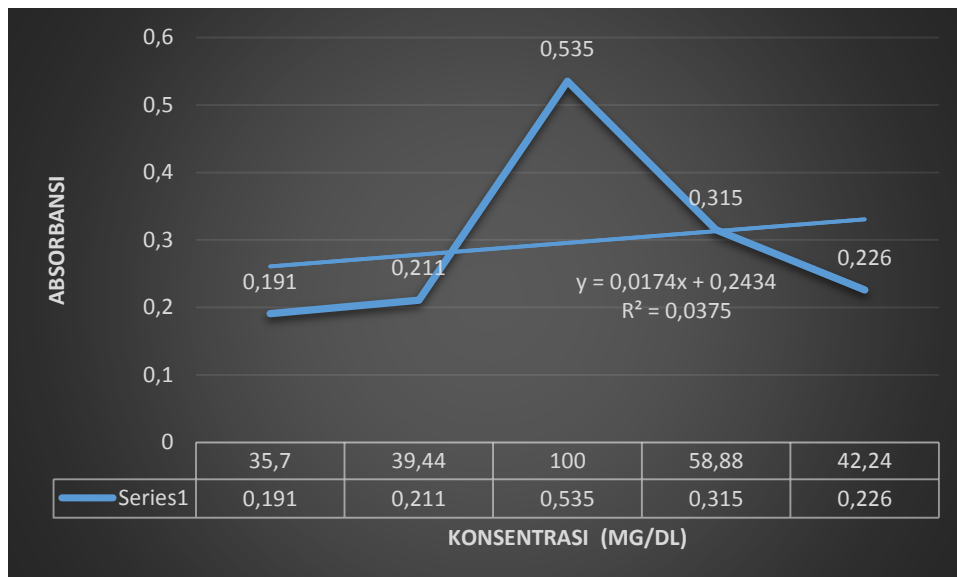
Didapatkan panjang gelombang maksimal menggunakan larutan standar glukosa 100 ml yaitu $\lambda = 479,0 \text{ nm}$

Dengan menggunakan panjang gelombang diatas dilakukan pemeriksaan absorbansi pada setiap larutan standar urea yang telah dibuat. Dan diperoleh datanya pada tabel dibawah ini :

Tabel 2a. 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

Kurva 2a. Data hasil kalibrasi larutan standar glukosa



Pembahasan :

Untuk mencari konsentrasi yang didapat pada larutan standar digunakan rumus :

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

Dimana : C = konsentrasi larutan

A = Absorbansi

Konsentrasi larutan standar yang digunakan adalah 100 mg/ dl dan absorbansi standar yang digunakan adalah absorbansi larutan **100ml yaitu 0,535**. Larutan 100ml 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 **$Y = 0,0174x + 0,2434$** dengan nilai **$R^2 = 0,0375$** . Hal ini menunjukkan bahwa grafik kalibrasi tidak linear dan hasil yang diperoleh tidak akurat.

Alasan mengapa dipergunakan panjang gelombang maksimum dalam pemeriksaan spektrofotometri, sbb :

- panjang gelombang max memiliki kepekaan maksimal karena terjadi perubahan absorbansi yang paling besar
- Pada panjang gelombang max bentuk kurva absorbansi memenuhi hukum Lambert-Beer

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 ;

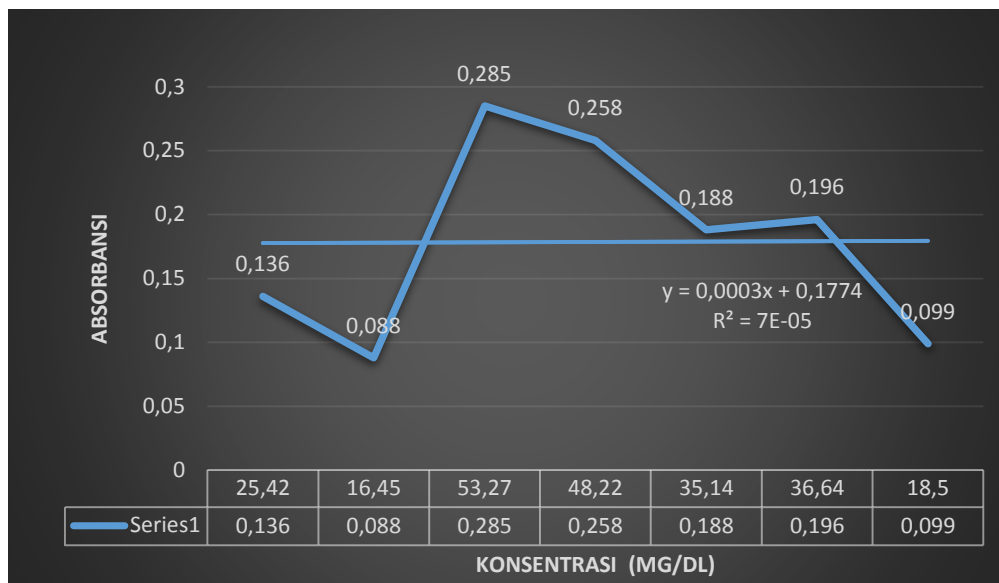
1. Larutan standar glukosa diatas tidak memenuhi hukum lambert beer karena hasil kalibrasi tidak berupa garis lurus.
2. Ketidak sesuaian larutan standar dengan hukum lambret-beer dikarenakan oleh beberapa faktor diantaranya kesalahan dalam membuat larutan, larutan yang dibuat tidak tercampur dengan baik sehingga hasilnya tidak homogen, adanya serapan oleh pelarut dan oleh kuvet.

3. Pada larutan standar glukosa diatas terdapat ketidaksesuaian antara larutan yang didapat dan larutan yang diinginkan. Hal ini disebabkan oleh beberapa factor seperti kesalahan dalam perhitungan pengenceran, kesalahan dalam mencampurkan larutan standar dengan reagen dari kit juga tidak meratanya pengadukan larutan sehingga belum homogeny.
4. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan bahwa data yang diperoleh semakin akurat dan praktikan yang melakukan percobaan lebih teliti.
5. 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.

Tabel 2b. Data Hasil pengukuran kalibrasi pengukuran larutan sampel pengenceran glukosa *double dilution* (Konsentrasi stok glukosa 150 mg/dl)

Faktor	Konsentrasi yang diprediksi (mg/dl)	Absorbansi	Konsentrasi yang didapat (mg/dl)
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

Kurva 2b. Hasil pengukuran larutan sampel pengenceran glukosa *double dilution*



Pembahasan :

Dari grafik diatas didapat persamaan regresi yaitu $Y = 0,0003x + 0,1774$ dengan nilai $R^2 = 7E-05$. Hal ini menunjukkan bahwa grafik kalibrasi tidak linear dan hasil yang diperoleh tidak akurat.

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 A. Nilai absorbansi yang tidak linear ini disebabkan kurang homogennya larutan pada kuvet yang mempengaruhi konsentrasi larutan. Volume larutan glukosa yang dibutuhkan sangat sedikit yaitu 10 μ 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.

Faktor-faktor yang sering menyebabkan kesalahan dalam menggunakan spektrofotometer dalam mengukur konsentrasi suatu analit:

1. Adanya serapan oleh pelarut. Hal ini dapat diatasi dengan penggunaan blangko, yaitu larutan yang berisi selain komponen yang akan dianalisis termasuk zat pembentuk warna.

2. Serapan oleh kuvet. Kuvet yang ada biasanya dari bahan gelas atau kuarsa, namun kuvet dari kuarsa memiliki kualitas yang lebih baik.
3. Kesalahan fotometrik normal pada pengukuran dengan absorbansi sangat rendah atau sangat tinggi, hal ini dapat diatur dengan pengaturan konsentrasi, sesuai dengan kisaran sensitivitas dari alat yang digunakan (melalui pengenceran atau pemekatan).

Kesimpulan :

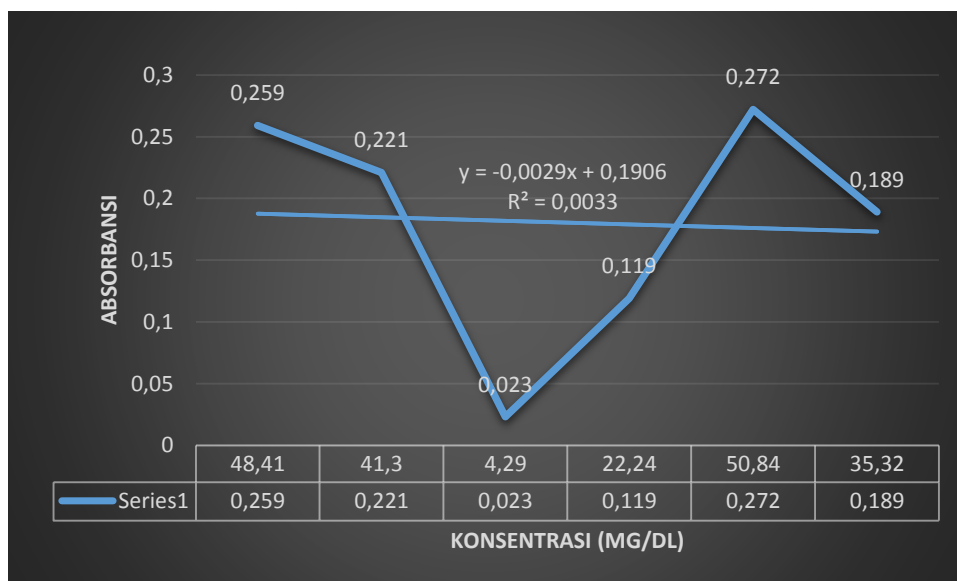
1. Larutan sampel glukosa diatas tidak memenuhi hukum lambert beer karena hasil kalibrasi tidak berupa garis lurus. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi larutan tidak disertai dengan peningkatan absorbansi.
2. Ketidak sesuaian larutan standar dengan hukum lambret-beer dikarenakan oleh beberapa faktor diantaranya kesalahan dalam membuat larutan, larutan yang dibuat tidak tercampur dengan baik sehingga hasilnya tidak homogen, adanya serapan oleh pelarut dan oleh kuvet.
3. Pada larutan sampel glukosa diatas terdapat ketidaksesuaian antara larutan yang didapat dan larutan yang diprediksi.
4. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan bahwa data yang diperoleh semakin akurat dan praktikan yang melakukan percobaan lebih teliti.
5. 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.

Tabel 2c. Data hasil pengukuran kalibrasi larutan sampel pengenceran glukosa
Glukosa desimal dilution (Konsentrasi stok glukosa 150 mg/dl)

Pengenceran	Faktor	Konsentrasi yang diprediksi (mg/dl)	Absorbansi	Konsentrasi yang didapat (mg/dl)
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	30	5	0,119	22,24
0,03X	300	0,5	0,272	50,84
0,003X	3000	0,05	0,189	35,32

Kurva 2c. Hasil pengukuran larutan sampel pengenceran glukosa Glukosa desimal dilution



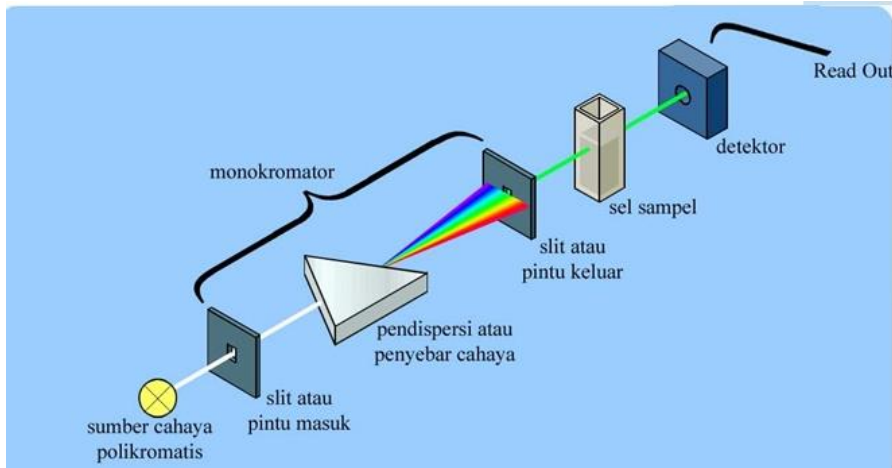
Pembahasan :

Dari grafik diatas didapat persamaan regresi yaitu $Y = -0,0029x + 0,1096$ dengan nilai $R^2 = 0,0033$. Hal ini menunjukkan bahwa grafik kalibrasi tidak linear dan hasil yang diperoleh tidak akurat.

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 A. Nilai absorbansi yang tidak linear ini disebabkan kurang homogenya larutan pada kuvet yang mempengaruhi konsentrasi larutan. Volume larutan glukosa yang dibutuhkan sangat sedikit yaitu 10 μ 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.

Mekanisme pembacaan absorbansi pada spektrofotometri adalah



Secara eksperimen hukum Lambert-beer akan terpenuhi apabila peralatan yang digunakan memenuhi kriteria-kriteria berikut:

1. Sinar yang masuk atau sinar yang mengenai sel sampel berupa sinar dengan panjang gelombang tunggal (monokromatis).
2. Penyerapan sinar oleh suatu molekul yang ada di dalam larutan tidak dipengaruhi oleh molekul yang lain yang ada bersama dalam satu larutan.
3. Penyerapan terjadi di dalam volume larutan yang luas penampang (tebal kuvet) yang sama.
4. Penyerapan tidak menghasilkan pemancaran sinar pendafluor. Artinya larutan yang diukur harus benar-benar jernih agar tidak terjadi hamburan cahaya oleh partikel-partikel koloid atau suspensi yang ada di dalam larutan.
5. Konsentrasi analit rendah. Karena apabila konsentrasi tinggi akan mengganggu kelinearan grafik absorbansi versus konsentrasi.

Kesimpulan :

1. Larutan sampel glukosa diatas tidak memenuhi hukum lambert beer karena hasil kalibrasi tidak berupa garis lurus. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi larutan tidak disertai dengan peningkatan absorbansi.

2. Ketidak sesuaian larutan standar dengan hukum lambert-beer 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 oleh kuvet.
3. Pada larutan sampel glukosa diatas terdapat ketidaksesuaian antara larutan yang diidapat dan larutan yang diprediksi.
4. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan bahwa data yang diperoleh semakin akurat dan praktikan yang melakukan percobaan lebih teliti.
5. 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.

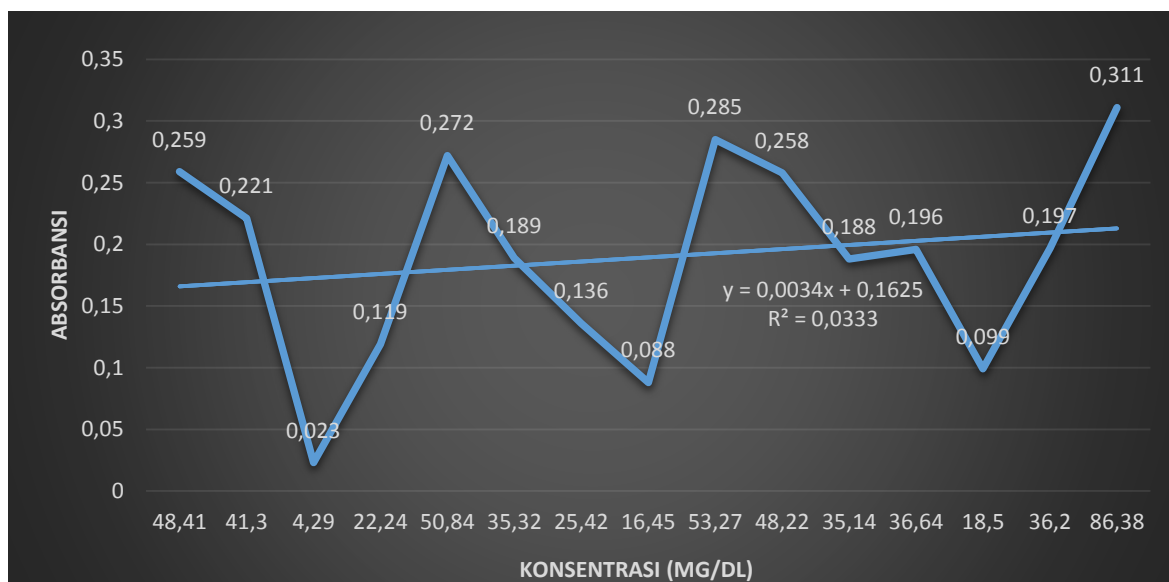
Tabel 3. Perbandingan Konsentrasi sampel Glukosa dan Urea yang dihitung pada grafik kalibrasi dan yang dihitung dengan rumus pada reagensia test kit

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

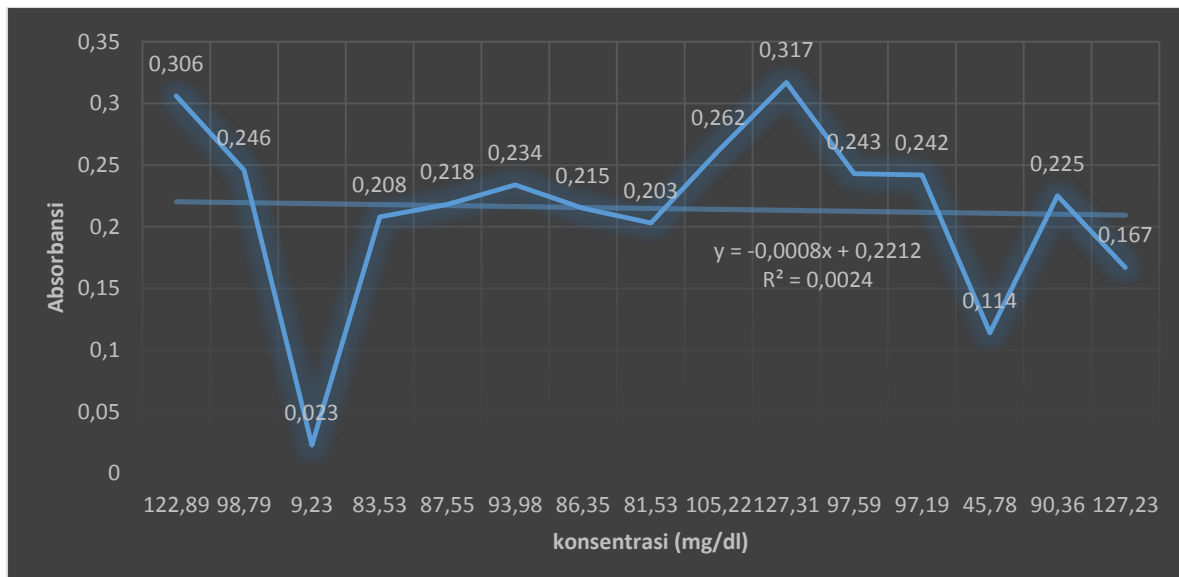
Pemeriksaan Sampel pengenceran Glukosa	Absorbansi pada grafik kalibrasi	Konsentrasi pada grafik kalibrasi (mg/dl)	Absorbansi pada rumus reagensia test kit	Konsentrasi pada reagensia test kit (mg/dl)
0,1X	0,259	48,41	0,306	122,89
0,01X	0,221	41,30	0,246	98,79
0,001X	0,023	4,29	0,023	9,23
0,3X	0,119	22,24	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

Kurva 3a. Hasil pengukuran konsentrasi-absorbansi larutan sampel glukosa menggunakan panjang gelombang $\lambda = 479$ nm pada kalibrasi



Kurva 3b. Hasil pengukuran konsentrasi-absorbansi larutan sampel glukosa menggunakan panjang gelombang $\lambda = 500$ nm sesuai rumus pada reagensia test kit



Pembahasan :

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. Untuk Menghitung konsentrasi sampel urea dengan grafik kalibrasi menggunakan panjang gelombang maksimal larutan 40 mg/dl yaitu $\lambda = 689,5$ nm sedangkan dengan rumus reagensia pada test kit menggunakan panjang gelombang $\lambda = 600$ nm. Rumus yang digunakan yaitu

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

Dimana : C = konsentrasi larutan

A = Absorbansi

Pada grafik pengukuran konsentrasi-absorbansi larutan sampel glukosa menggunakan panjang gelombang $\lambda = 479$ nm pada kalibrasi didapat grafik dengan persamaan regresi yaitu $Y = 0,0034x + 0,1625$ dengan nilai $R^2 = 0,0333$. Hal ini menunjukkan bahwa grafik kalibrasi tidak linear dan hasil yang diperoleh tidak akurat.

Pada grafik pengukuran konsentrasi-absorbansi larutan sampel glukosa menggunakan panjang gelombang $\lambda = 500$ nm pada reagensia test kit didapat grafik dengan persamaan regresi yaitu $Y = -0,0008x + 0,2212$ dengan nilai $R^2 = 0,0024$. Hal ini menunjukkan bahwa grafik kalibrasi tidak linear dan hasil yang diperoleh tidak akurat

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 A

Dari tabel dan kedua grafik diatas dapat kita ketahui bahwa terdapat perbedaan konsentrasi sampel yang didapat menggunakan grafik kalibrasi dan menggunakan rumus pada reagensia test kit. Namun hasil yang diperoleh memiliki range yang kecil. Perbedaan konsentrasi ini bisa disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya kesalahan pada perhitungan pengenceran, kesalahan dalam melakukan pengenceran, kesalahan dalam mencampurkan larutan dengan aquades, kesalahan dalam mencampurkan reagensia pada kit. Kesalahan-kesalahan ini menyebabkan konsentrasi yang diprediksi berbeda dengan konsentrasi yang didapat, terjadi perbedaan antara konsentrasi berdasarkan kurva kalibrasi dengan berdasarkan rumus pada reagensia test kit. Namun hasil yang paling akurat didapatkan berdasarkan rumus menggunakan reagensia test kit.

Kesimpulan :

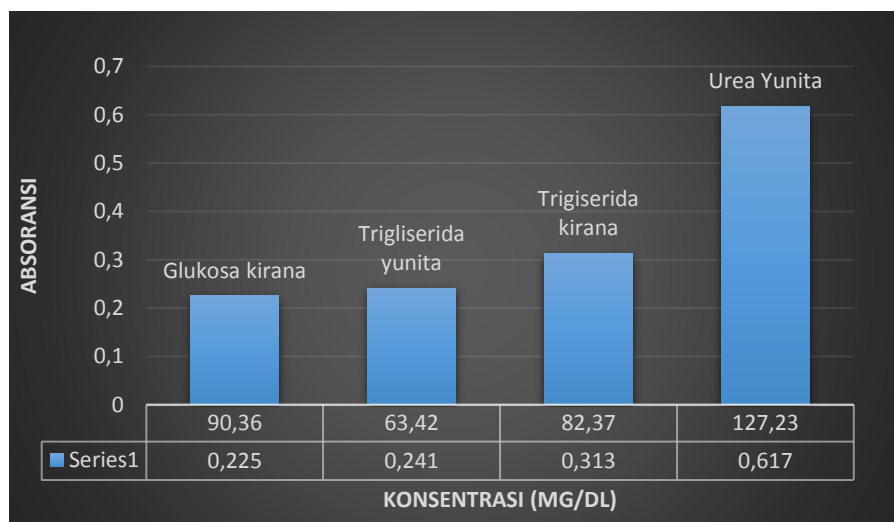
1. Terdapat perbedaan grafik antara konsentrasi sampel yang didapat menggunakan grafik kalibrasi dan menggunakan rumus pada reagensia test kit.
2. Hasil konsentrasi yang didapat menggunakan rumus pada reagensia test kit cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan grafik kalibrasi.
3. Konsentrasi sampel yang didapat menggunakan grafik kalibrasi dan menggunakan rumus pada reagensia test kit keduanya tidak memenuhi hukum lambert beer karena tidak memenuhi garis lurus (linear). Hal ini bermakna bahwa peningkatan konsentrasi tidak disertai dengan peningkatan absorbansi larutan.
4. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan bahwa data yang diperoleh semakin akurat dan praktikan yang melakukan percobaan lebih teliti.
5. 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.

Tabel 5 Hasil pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea plasma mahasiswa

detil ² mhs (berapa lama sejak makan; rata-rata apa yg dimakan; jenis kelamin; umur)	GLUKOSA		TRIGLISERIDA		UREA	
	A	kadar	A	kadar	A	kadar
1. Yunita Wannur azah Jenis kelamin : perempuan Usia : 28 tahun	-	-	0,241	63,42 mg/dl	0,167	127,23 mg/dl

Makanan : makan ifumie Waktu : 1jam sebelum pemeriksaan						
2. Kirana patrolina 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	82,37 mg/dl	-	-

Kurva 4. Perbandingan kadar glukosa, trigliserida dan urea mahasiswa



Absorbansi pada masing-masing mahasiswa berbeda, hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan jenis makanan yang dimakan, jarak waktu antara saat makan dengan saat pengambilan sampel.

GLUKOSA

Dari data diatas kadar glukosa Kirana Patrolina 90,36 mg/dl. Hal ini mih dalam batas normal karena kadar glukosa darah 2 jam setelah makan adalah < 200mg/dl. Ketika makanan dikunyah, makanan akan bercampur dengan air liur yang mengandung enzim ptialin (suatu α 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 kedalam kuvet dan juga homogenisasi larutan.

TRIGLISERIDA

Kadar trigliserida yang diperoleh dari hasil pengukuran sampel darah berkisar antara 63-83 mg/dl. Hal ini masih dalam batas normal karena masih $< 150\text{mg/dl}$. 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 beke sama 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 $< 150\text{ mg/dL}$;Batas tinggi $150 - 199\text{ mg/dL}$;Tinggi $\geq 200\text{ mg/dL}$).

UREA

Kadar urea yang diperoleh adalah 127, 23 mg/dl. Dari data nilai ini bisa dikatakan terlalu tinggi ataupun tidak normal. Data yang salah bisa disebabkan kesalahan dalam pencampuran larutan kedalam kuvet. Urea (juga dikenal sebagai karbamid) merupakan produk limbah dari banyak organisme hidup, dan merupakan komponen organik utama urin manusia. Hal ini karena pada akhir rantai reaksi yang memecah asam amino yang membentuk protein. Asam

amino dimetabolisme dan diubah dalam hati menjadi amonia, CO₂ , air dan energi. Tapi amonia merupakan racun bagi sel-sel , sehingga harus dikeluarkan dari tubuh . Seorang dewasa biasanya mengeluarkannya sekitar 20-40 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 prosedur kerja bagi praktikan agar lebih memahami dan mampu melakukan percobaan secara mandiri.
2. Penggunaan alat yang tepat seperti pada pengenceran lebih baik dengan mikropipet bukan pipet mohr biar lebih akurat hasilnya.