

LAPORAN PRAKTIKUM BIOMEDIK IV

Nama : Amirul Hadi
Ichwan Alamsyah Lubis

Group : Pagi (08.00 – 12.00 Wib)

Judul Praktikum : *Metabolisme Glukosa, Urea dan Trigliserida (Teknik Spektrofotometri)*

Tgl Praktikum : 31 Oktober 2013

Tujuan Praktikum :

1. Mampu memahami teknik dasar Spektrofotometri serta alat-alat yang akan digunakan pada metode ini.
2. Mampu memahami pembuatan dan penggunaan larutan stok serta, mengetahui metode pencampuran bahan- bahan untuk pembuatan larutan stok.
3. Mampu mengenal dan mengaplikasikan reagensia yang akan digunakan terhadap larutan stok pada metode spektrofotometri.
4. Mempelajari dan memahami sifat serapan suatu larutan terhadap variasi panjang gelombang dengan menggunakan metode spektrofotometri.
5. Mengukur panjang gelombang maksimum kadar pada masing-masing zat berdasarkan hukum Lambert-Beer dengan mencari konsentrasi zat dengan dua persamaan.

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. 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 transmittan ataupun absorbansi dari suatu zat cair serta fungsi dari konsentrasi.

Metode Pembuatan larutan stok :

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

Jadi jumlah bubuk urea yang dibutuhkan $0,01 \text{ L} \times 10 \text{ g/L} = 0,1 \text{ g}$

2. Larutan stok glukosa : siapkan 10 mL larutan 100 mM glukosa (BM $\text{C}_6\text{O}_6\text{H}_{12} = 180 \text{ g/mol}$)

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

Pembuatan larutan dengan berbagai pengenceran :

Larutan Glukosa

Doubling dilution

Nomor Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8
Pengenceran Glukosa	Stok	1:1	1:3	1:7	1:15	1:31	1:63	1:127
Factor		2	4	8	16	32	64	128

Cara kerja :

Tabung reaksi no. 2 – 8 masing masing diisi dengan aquades sebanyak 1 ml.

Tabung reaksi no.1 diisi dengan 2 ml larutan stok, kemudian ambil 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung no. 2 kocok hingga bercampur, kemudian ambil 1 ml larutan dan masukkan kedalam tabung no.3 kocok hingga bercampur dan ambil 1 ml larutan masukkan kedalam tabung no. 4 dan seterusnya dikerjakan seperti diatas.

Ket : (1 ml larutan dari tabung reaksi sebelumnya ditambahkan ke tabung reaksi yang selanjutnya).

Pengenceran larutan dengan berbagai pengenceran

Decimal dilution

Nomor Tabung	1	2	3	4	5	6
Factor	Stok	3	10	30	100	300

Cara kerja :

Tabung reaksi no. 1 diisi dengan larutan stok sebanyak 1 ml

Tabung reaksi no. 2 diisi dengan larutan stok 0,3 ml + 0,7 ml aquades campur dengan baik

Tabung reaksi no. 3 diisi dengan larutan stok 0.1 ml + 0.9 ml aquades campur dengan baik

Tabung reaksi no. 4 diisi dengan 0,1 ml larutan tabung 2 + 0.9 ml aquades campur

Tabung reaksi no. 5 diisi dengan 0,1 ml larutan tabung 3 + 0.9 ml aquades campur

Tabung reaksi no. 6 diisi dengan 0.1 ml larutan tabung 4 + 0.9 ml aquades campur

Kemudian dilanjutkan pemeriksaan glukosa menggunakan tes Kit bersamaan dengan bahan dari serum yang diambil dari darah. Darah yang diambil sebanyak 2 ml dan dimasukkan kedalam wadah yang berisi EDTA kemudian di sentrifugasi untuk mendapatkan serum tersebut.

Cara kerja pemeriksaan glukosa

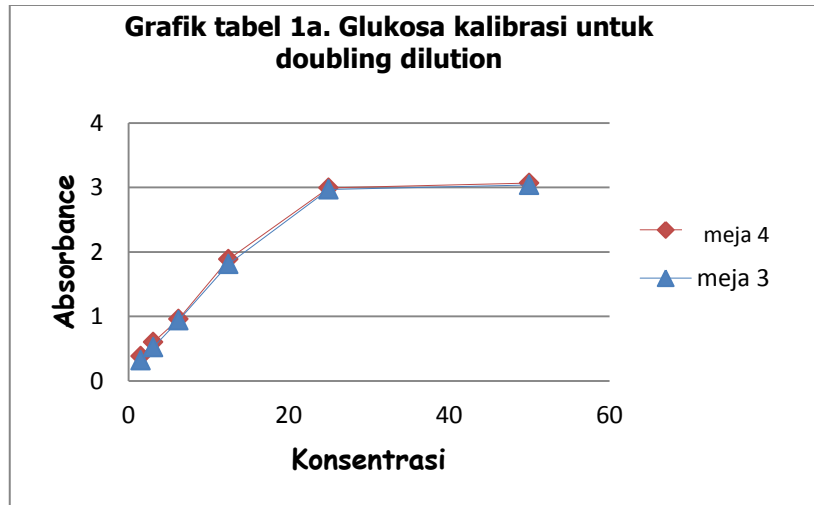
Bahan	Blanko	Standart	Sampel
Volume reagensia Kit	1000ul reagensia glukosa	1000ul reagensia glukosa	1000ul reagensia glukosa
Volume sampel	-	-	10 ul
Volume standart	-	10 ul	-
Volume aquades	10 ul	-	-
Periode dan temperature inkubasi	10 min@ 37 ⁰ C	5 min@ 37 ⁰ C	10 min@ 37 ⁰ C
Panjang gelombang λ = 500nm			
Konsentrasi standart 100mg/dl			

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

1. Glukosa

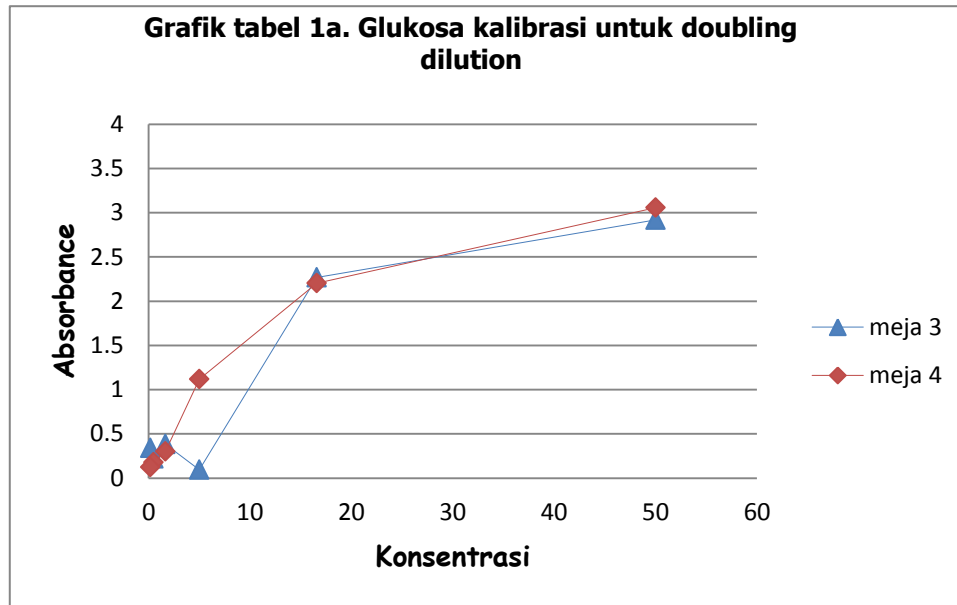
Tabel 1a : Glukosa - data untuk kalibrasi doubling dilution
Konsentrasi stok glukosa = 50nM

Faktor	Konsentrasi	Grup 3	Grup 4
1	50	3.039	3.069
2	25	2.969	2.996
4	12.5	1.812	1.885
8	6.25	0.938	0.959
16	3.125	0.522	0.604
32	1.563	0.321	0.385
64	0.781	0.215	0.366
128	0.391	0.211	0.226
Blanko	0	0	0.002



Tabel 1b . Glukosa- data untuk kalibrasi decimal dilution
Konsentarsi Stok glukosa = 50nM

Faktor	Konsentrasi	Grup 3	Grup 4
1	50	2.921	3.057
3	16.6	2.267	2.202
10	5	0.095	1.118
30	1.667	0.384	0.301
100	0.5	0.223	0.178
300	0.167	0.34	0.124
Blanko		0	0



2. Urea

Tabel 2b . Urea- data untuk kalibrasi doubling dilution
Konsentarsi Stok Urea = 500 mg/dl = 50 gr/L(%)

Faktor	Konsentrasi	Grup 1	Grup 2
1	5(%)	1.331	6
2	2.5(%)	1.2	3.165
4	1.25(%)	0.835	0.352
8	0.63(%)	0.485	0.764
16	0.31(%)	0.277	0.354
32	0.16(%)	0.166	0.222
64	0.08(%)	0.069	0.118
128	0.04(%)	0.043	0.078
Blanko	0	0	0

Tabel 2b . Urea- data untuk kalibrasi decimal dilution
Konsentarsi Stok Urea = 500 mg/dl = 50 gr/L(%)

Faktor	Konsentrasi	Grup 1	Grup 2
1	5 (%)	1.338	6
3	1.67(%)	0.992	3.286
10	0.55(%)	0.429	0.88
30	0.17(%)	0.166	0.367
100	0.05(%)	0.061	0.092

300	0.017(%)	0.021	0.152
Blanko	0	0	0

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

	Absorben Urea		Konsentrasi Urea		Absorben Glukosa		Konsentrasi urea	
	Madhan	seri	madhan	seri	adit	ichwan	adit	ichwan
Serapan sampel	0.007	0.194			0.353	1.061		
Dari garafik 1a/2a	1.331	6	5.26 Mg/dl	32.33 mg/dl	3.039	3.069	209.08 mg/dl	622.29 mg/dl
Dari garfik 1b/2b	1.338	6	5.23 mg/dl	32.33 mg/dl	2.921	3.057	217.53 mg/dl	624.73 mg/dl
Dari rumus kit	0.245	0.254	1.1 mg/dl	30.55 mg/dl	0.448	0.448	78.79 mg/dl	236.83



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 pukul 07.45 WIB (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) 37 tahun pukul 07.15 WIB (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) 30 tahun pukul 07.30 WIB (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 pukul 07.30 WIB (Roti abon 2 buah)	1.061	236.83 mg/d	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

Kesimpulan :

- Absorbansi berbanding lurus dengan Konsentrasi sesuai dengan Hukum Lambert-Beer. Dimana semakin pekat suatu larutan maka cahaya yang melewati suatu larutan akan lebih sedikit.
- Konsentrasi suatu larutan akan tidak seimbang apabila larutan dicampurkan dengan bahan yang berbeda. maka akan terjadi kesalahan dalam perhitungan konsentrasi dari larutan.
- Larutan yang digunakan harus dicampur secara homogen karena akan mempengaruhi hasil dalam pembacaan di spektrofotometri.

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.
- Praktikan diberikan waktu yang lebih leluasa agar praktikan dapat menganalisa hasilnya dengan maksimal.
- Praktikan harus diberi dan dilatih untuk menggunakan alat spektrofotometri, sehingga praktikan dapat menggunakan alat spektrofotometri secara mandiri.