

LAPORAN PRAKTIKUM 3
METABOLISME GLUKOSA TEKNIK SPEKTROFOTOMETRI

SISKA MULYANI (NIM: 157008009)

HARI/TANGGAL PRAKTIKUM : KAMIS / 4 Agustus 2016

TEMPAT : LABORATORIUM TERPADU LANTAI 2
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA

BAB I. TUJUAN PERCOBAAN

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. Mengumpulkan data kadar glukosa
4. Latihan pembuatan dan interpretasi grafik
5. Persiapan untuk praktikum Metabolisme II” di mana akan mendesain
6. dan melakukan percobaan yang berdasarkan teknik-teknik praktikum ini

BAB II. PROSEDUR KERJA

Alat dan bahan yang dibutuhkan

1. Tourniquet
2. Swab alkohol
3. Tempat pembuangan yg tajam
4. Jarum Spuit 3 cc
5. Tabung Vacutainer berisi EDTA
6. Tempat pembuangan yg kena darah
7. Pipet Mohr: (1ml & 5ml)
8. Alat sentrifus klinik
9. Glukosa
10. Kit pemeriksaan glukosa

11. Alat spektrofotometer
12. Tabung reaksi dan rak
13. Pipet otomatis 10 μ l - 100 μ l; 100 μ l -1000 μ l
14. Pipet tetes
15. Kuvet plastik
16. Alat spektrofotometer
17. Spidol/kertas label
18. Nasi
19. Roti gandum



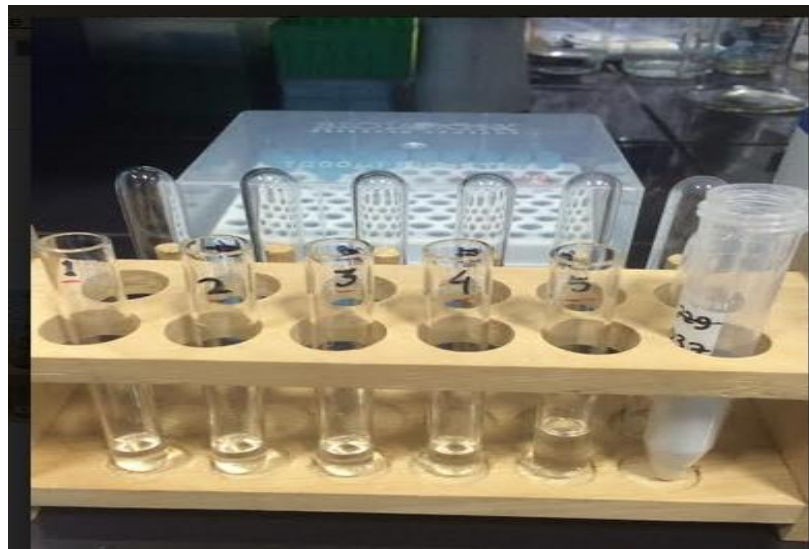
Gambar 1. Alat dan bahan yang digunakan dan reagensia glukosa

Cara Kerja

1. Satu hari sebelum kegiatan praktikum, 2 orang yang akan dijadikan subjek penelitian terlebih dahulu harus berpuasa selama lebih kurang 10 jam pada malam harinya (pukul 22.00-08.00 WIB) untuk pemeriksaan glukosa darah puasa keesokan harinya.
2. Pada saat kegiatan praktikum dimulai, diambil sampel darah dari *vena mediana cubiti* tiap-tiap subjek sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung Heparin dan dikocok sebentar agar darah tidak beku.
3. Tabung Heparin yang telah berisi sampel darah disentrifugasi klinik dan diputar pada kecepatan 3000 rpm selama lebih kurang 10 menit sehingga sel-sel darah terpisah dari plasma. Tabung Heparin ini diberikan label sampel darah I.
4. Setelah pengambilan sampel darah I, subjek penelitian dibagi menjadi dua kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 1 orang. Kelompok perlakuan I diberikan makan nasi putih sebanyak 100 gram dan kelompok perlakuan II diberikan makan roti gandum sebanyak 100 gram. (Sedapat

mungkin kedua kelompok perlakuan harus menghabiskan makanannya secara bersamaan dan kedua kelompok perlakuan sedapat mungkin melakukan aktivitas ringan yang relatif sama.)

5. Ambil 5 buah tabung kuvet. Isi masing-masing tabung dengan larutan standart (yang sudah di doubling dilution) sebanyak 10 μL dan ditambahkan 1000 μL reagensia kit.

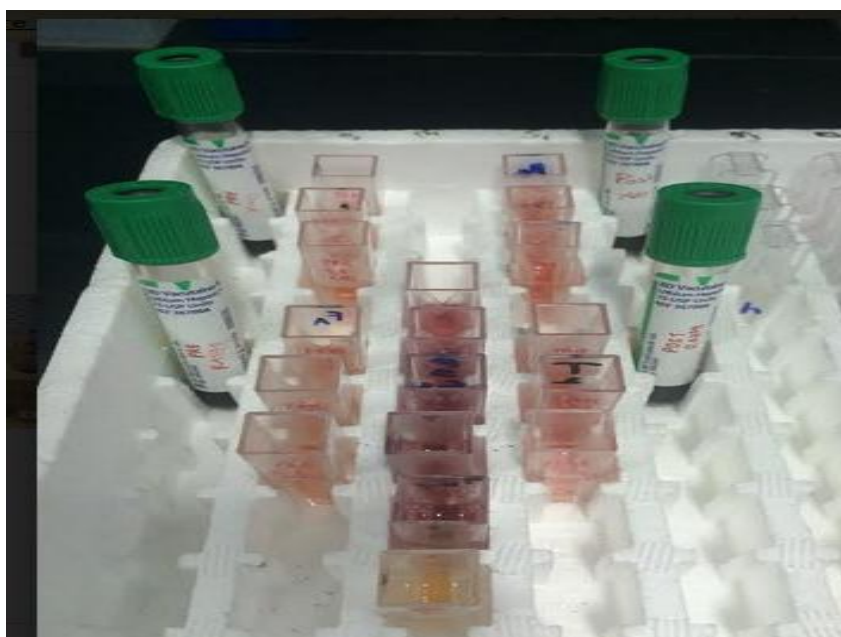


Gambar 2. Larutan standart yang dilakukan dengan teknik doubling dilution

6. Ambil satu tabung kuvet yang hanya diisi 1000 μL reagensia kit sebagai blanko.
7. Ambil reagensia kit untuk pemeriksaan glukosa dan dimasukkan ke dalam tabung kuvet sebanyak 6 buah tabung di mana masing-masing tabung volumenya sejumlah 1000 μL dan ditambahkan 10 μL plasma darah (pre intervensi).
8. 1 jam setelah makanan kedua kelompok habis, diambil kembali sampel darah dari *vena mediana cubiti* sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung Heparin dan dikocok sebentar agar darah tidak beku. Tabung Heparin ini diberikan label sampel darah II.
9. Ambil reagensia kit untuk pemeriksaan glukosa dan dimasukkan ke dalam tabung kuvet sebanyak 6 buah tabung di mana masing-masing tabung volumenya sejumlah 1000 μL dan ditambahkan 10 μL plasma darah (post intervensi).
10. Seluruh tabung kuvet diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C.
11. Periksa serapan blanko, standar, dan masing-masing sampel plasma dengan menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 506 nm dan dicatat masing-masing hasilnya. (Pembacaan hasil tidak boleh lebih dari 60 menit

setelah pencampuran reagensia kit dengan larutan standar maupun dengan sampel plasma karena akan mempengaruhi hasil pemeriksaan.)

12. Seluruh data yang telah dicatat ditabulasikan ke dalam tabel dan dibuat grafik yang menunjukkan perbedaan peningkatan kadar konsentrasi glukosa plasma 1 jam setelah makan antara kelompok perlakuan yang memakan nasi putih dengan kelompok perlakuan yang memakan roti gandum.



Gambar 3. Sampel pre dan post intervensi

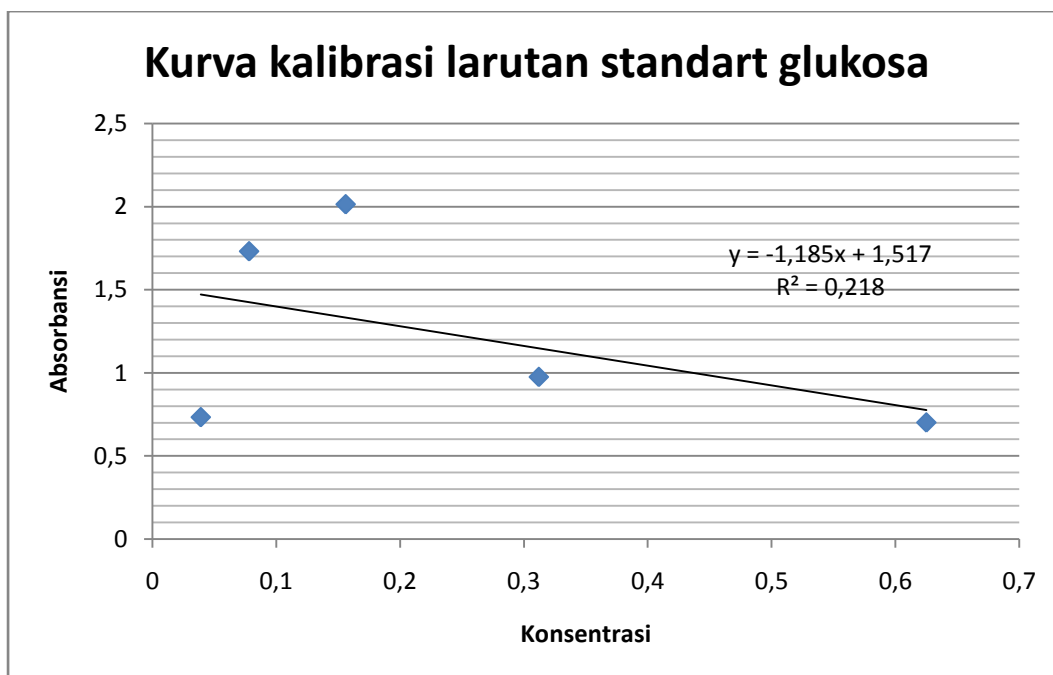
	Glukosa
Volume reagensia	1 ml reagensia glukosa
Volume plasma	10 μ l
Konsentrasi standar kit	100 mg/dl
Periode dan temperature inkubasi	10 min @ 37°C
Spectrum absorbansi	500 nm

BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Tabel :Kalibrasi larutan standar glukosa

Kuvet	Kosentrasi	Absorbansi
Blanko	0	0,000
Stok	0,625	0,701
Faktor 2	0,312	0,975
Faktor 4	0,156	2,014
Faktor 8	0,78	0,731
Faktor 16	0,039	0,733



Gambar 4.kurva kalibrasi larutan standart glukosa

Tabel : Pemeriksaan kadar glukosa sampel darah pre dan post intervensi

Kuvet	Konsentrasi	Absorbansi
Blanko	0	0,000
Standart	0,156	2,014
Sampel 1	8,000	0,161
Sampel 2	9,334	0,188
Sampel 3	9,334	0,188
Sampel 4	7,199	0,145
Sampel 5	10,129	0,204
Sampel 6	9,831	0,198
Sampel 7	17,328	0,349
Sampel 8	20,258	0,408
Sampel 9	15,342	0,309
Sampel 10	14,400	0,290
Sampel 11	15,938	0,321
Sampel 12	13,902	0,280

Pembahasan

Glukosa diperoleh setelah terjadi reaksi oksidasi enzimatis dengan hadirnya glukosa oksidase. Hydrogen peroksida kemudian akan bereaksi di bawah katalis peroksidase dengan fenol dan 4-Aminophenazone untuk menghasilkan pewarnaan merah-ungu quinoneimine sebagai indikator adanya glukosa dalam larutan.

Dengan menggunakan 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.

Hukum Beer-Lambert, menyatakan absorbansi cahaya berbanding lurus dengan dengan konsentrasi dan ketebalan bahan/medium. Artinya semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar pula nilai absorbansinya atau semakin banyak cahaya yang diserap.

BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Dari hasil pemeriksaan absorbansi glukosa darah dengan melakukan teknik spektrofotometri didapatkan bahwa ada perbedaan hasil absorbansi dari pre-intervensi dan post-intervensi, dimana hasil absorbansi pre-intervensi lebih rendah dibandingkan post-intervensi.
2. Hasil absorbansi pada post-intervensi yang diberi intervensi makan roti gandum lebih rendah dibandingkan hasil absorbansi post-intervensi yang diberi intervensi makan nasi putih.
3. Dibutuhkan ketelitian dan kecermatan dalam pembuatan larutan, pengenceran, penggunaan mikropipet, pencampuran larutan dan pencampuran sampel/standard urea dengan reagen agar terbentuk larutan yang homogen sehingga pada saat pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer nilai yang diperoleh lebih akurat.

Saran

1. Untuk praktikan yang akan melakukan praktikum ini di lain kesempatan, perhatikan kecermatan dalam penggunaan mikropipet. Gunakan pada konsentrasi yang terendah dahulu baru beranjak ke konsentrasi yang lebih tinggi agar hasil pipetting tidak terkontaminasi larutan sebelumnya
2. Fasilitas air sangat krusial dibutuhkan di laboratorium untuk membersihkan alat alat
3. Perlu adanya semacam kuliah pendahuluan mengenai teori dasar praktikum, atau setidaknya dasar-dasar persiapan pembuatan larutan, konsentrasi dll agar praktikan tidak salah dalam mempersiapkan larutan yang digunakan