

BM – 506 KETRAMPILAN DASAR LABORATORIUM
LAPORAN PRAKTIKUM
PRAKTIKUM 04 – METABOLISME GLUKOSA, TRIGELISERIDA DAN UREA

Hari/Tanggal : Kamis/6 Oktober 2011
 Kelompok : III (Siang)
 Anggota : 1. Musthari
 2. Sukaisi

Tujuan:

1. Untuk memahami tata cara penggunaan alat Spektrofotometer
Meliputi prinsip dasar Spektrofotometer, kuvet, standard, blanko, serta penerapan Hukum Beer-Lambert
2. Mampu melakukan pengenceran dan pembuatan larutan stok
3. Mampu menaikkan grafik dan menginterpretasi
4. Mampu menghitung konsentrasi berdasarkan interpretasi grafik

Pendahuluan

Spektrofotometer sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang

Alat, bahan dan cara kerja.

Pipet Mohr (1 ml , 5 ml, 10 ml)	Kristal Urea	Pipet Otomatik
Sentrifugar	Glukosa	Kit pemeriksaan Glukosa
Alat Spektrofotometer	Pipet Otomatik	Kit pemeriksaan Glukosa
Water Bath 37 ° C	Kit pemeriksaan Urea	Tabung Reaksi

Pembuatan larutan stok,

1. Larutan stok urea dengan kadar sebesar : 50 Gram/Liter (5 %) volume 10 ml
 Penimbangan bubuk urea = $10/1000 \times 50 = 0.5$ gram
2. Larutan stok glukosa kadar 50 mM
 Penimbangan glukosa = BM Glukosa = 180
 Jadi perhatian agar barang berharga milik anda jangan dibuang ke tempat sampah.
 Penimbangan sebesar = $50 \times 180 / \text{Liter} = 9.000\text{mg} / 1000. = 90 \text{ mg} / 10 \text{ ml}$

Pembuatan larutan dengan berbagai pengenceran

Larutan Urea

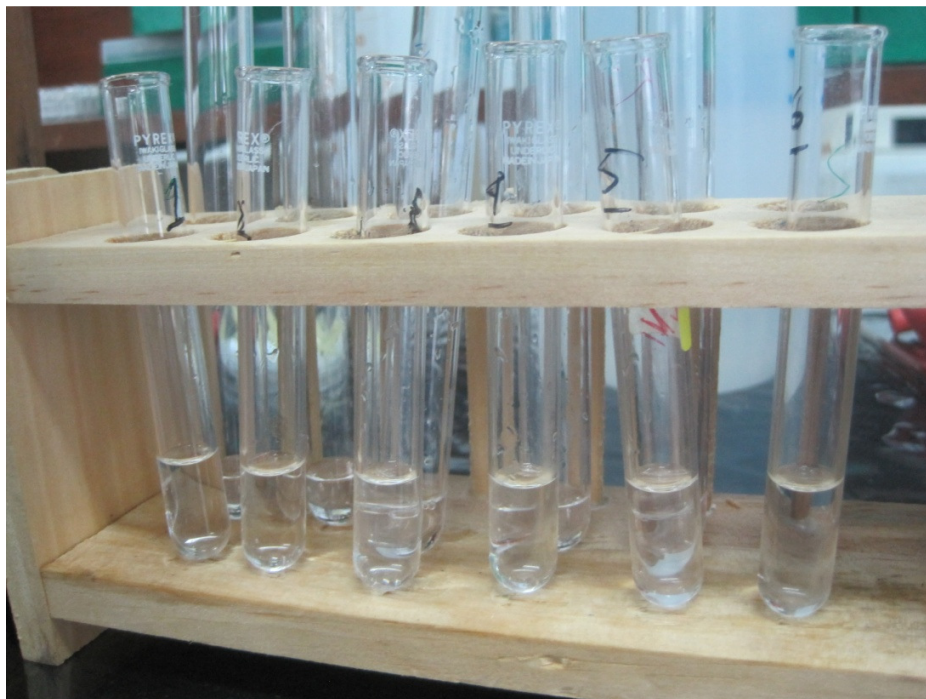
Doubling dilution

Nomor Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8
Pengenceran Urea	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.



Gambar 1. Tabung reaksi *doubling dilution*

Pengenceran larutan dengan berbagai penegenceran

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



Gambar 2. Tabung reaksi *decimal dilution*

Kemudian dilanjutkan pemeriksaan urea 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 Urea

Bahan	Blanko	Standart	Sampel
Volume reagensia Kit	1000 ul	1000 ul	1000 ul reagensia A, kemudian periode inkubasi pertama tambah 1000 ul reagensia B
Volume sampel	-	-	10 ul
Volume standart	-	10 ul	
Volume aquades	10 ul	-	
Periode dan temperatur inkubasi	10 menit 37 ° C	5 menit 37 ° C	5 menit 25 ° C (2 X)
Panjang gelombang 600 nm			

Kemudian untuk larutan urea dengan berbagai konsentrasi pengenceran dilakukan pemeriksaan seperti diatas.

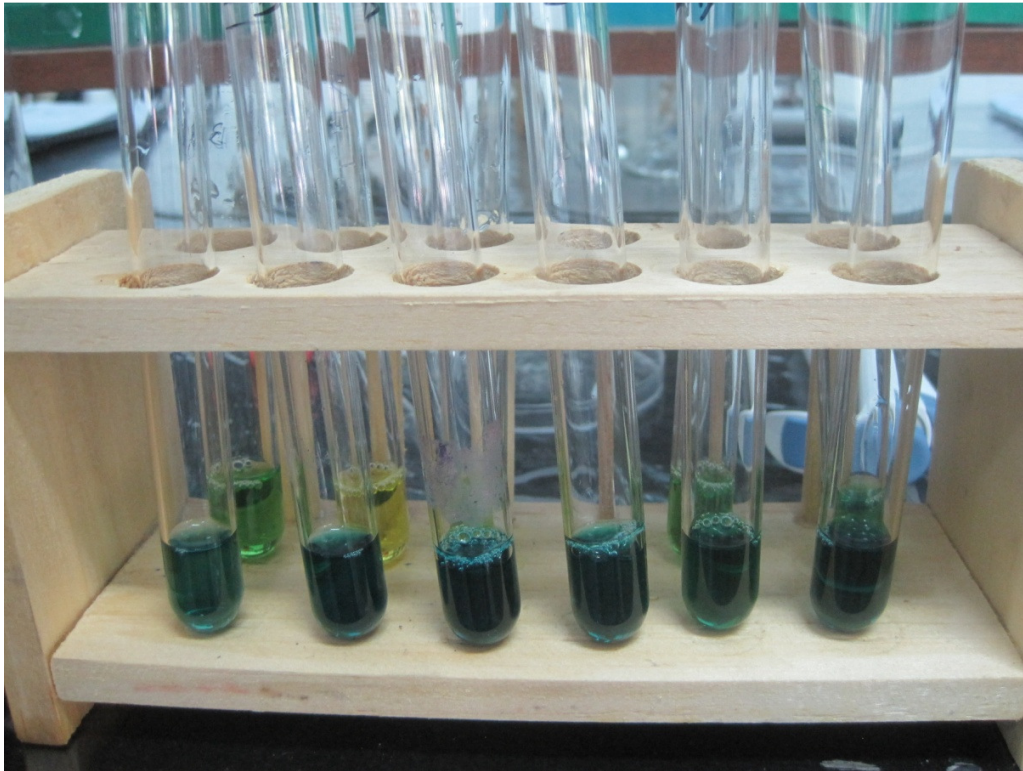
Hasil pemeriksaan seperti pada table dibawah ini:

1. Urea

Tabel 1a . Urea - data untuk kalibrasi *doubling dilution*

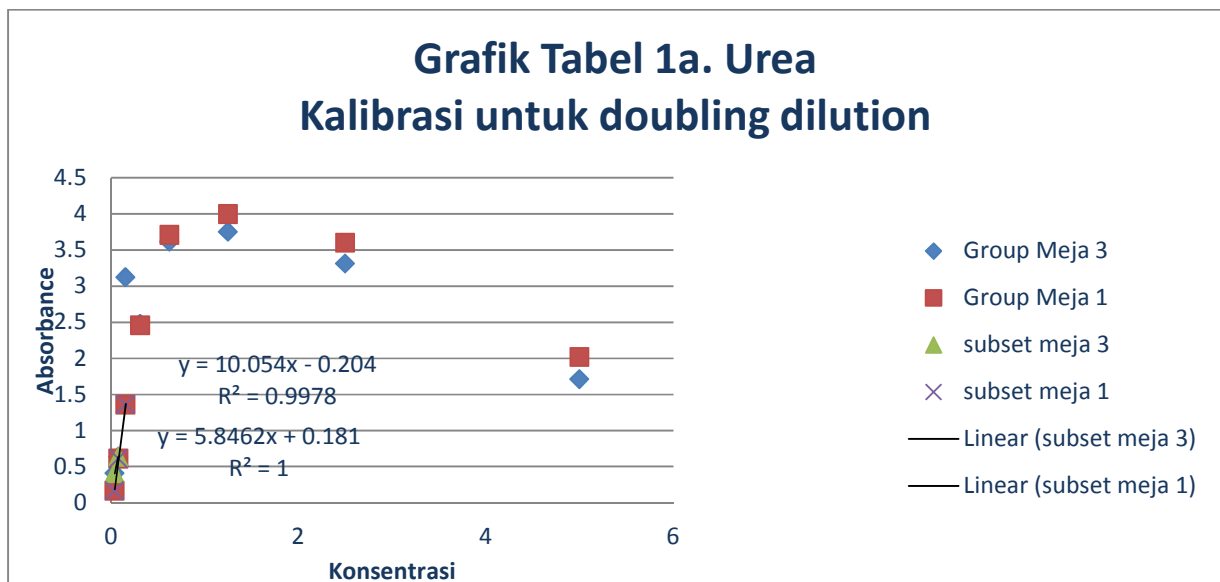
Konsentarsi Stok urea = 50 gram /liter

Faktor	Konsentrasi	Group Meja 3	Group Meja 1
1	5 %	1.713	2.019
2	2.5 %	3.313	3.602
4	1.25 %	3.754	4
8	0.625 %	3.614	3.71
16	0.3125 %	2.477	2.46
32	0.1563 %	3.122	1.357
64	0.078 %	0.637	0.612
128	0.039 %	0.409	0.167
Banko		0	0



Gambar 1. Setelah dilakukan pengenceran pada urea untuk *doubling dilution*

Dari gambar diatas didapat kepekatan pada beberapa tabung reaksi hasil pengenceran urea. Kemungkinan dikarenakan kesalahan pada teknik pelarutan. Hal ini mempengaruhi pembacaan alat Spektrofotometer.



Analisa: Dari grafik diatas didapat subset meja 3 dan meja 1 dari data perwakilan dengan R^2 hampir mendekati angka 1 (0,997) dan angka 1 (satu) dengan garis yang linier. Garis yang linier ini

menunjukkan data sesuai dengan Hukum Beer Lambert. Data merupakan perwakilan dari masing-masing meja.

Tabel 1b . Urea - data untuk kalibrasi *decimal dilution*

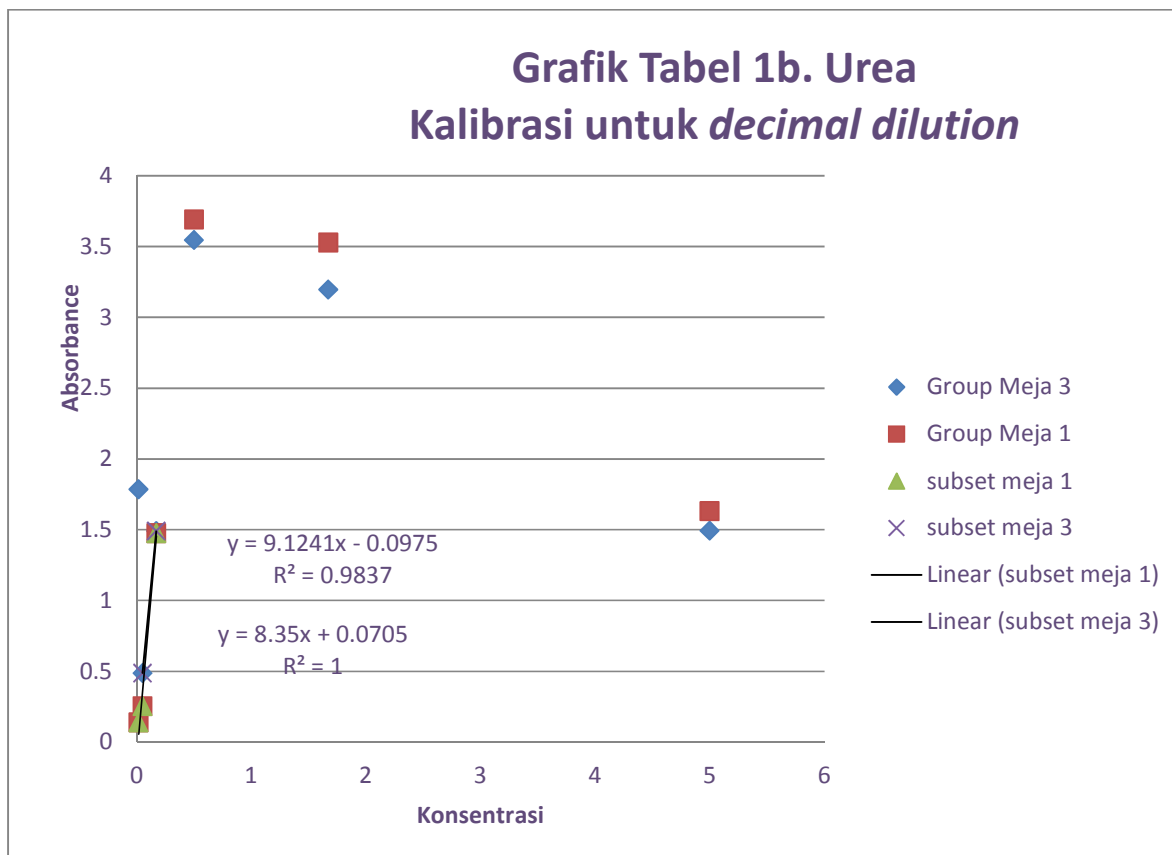
Konsentarsi Stok urea = 50 gram /liter

Faktor	Konsentrasi	Group Meja 3	Group Meja 1
1	5	1.493	1.631
3	1.67	3.195	3.528
10	0.5	3.545	3.691
30	0.17	1.49	1.476
100	0.05	0.488	0.255
300	0.017	1.785	0.139
Blanko		0	0



Gambar 2. Setelah dilakukan pengenceran pada urea untuk *decimal dilution*

Dari gambar 2 diatas didapat kepekatan pada beberapa tabung reaksi hasil pengenceran urea pada kalibrasi untuk *decimal dilution*. Setelah diurai kembali ternyata kemungkinan kesalahan pada pertukaran tabung reaksi sebelum dilakukan pelarutan. Akibatnya pembacaan pada alat Spektrofotometer berpengaruh.



Analisa: Dari grafik diatas didapat subset meja 3 dan meja 1 dari data perwakilan dengan R^2 hampir mendekati angka 1 (0,983) dan angka 1 (satu) dengan garis yang linier. Garis yang linier ini menunjukkan data sesuai dengan Hukum Beer Lambert. Data merupakan perwakilan dari masing-masing meja.

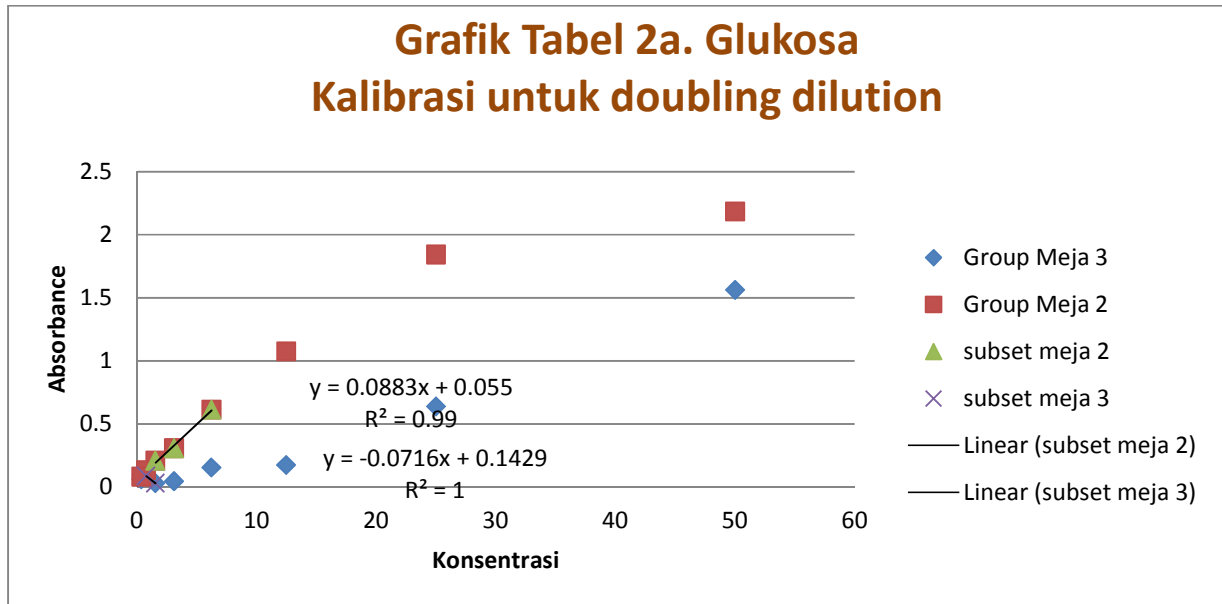
2. Glukosa

Tabel 2a . Glukosa - data untuk kalibrasi *doubling dilution*

Konsentarsi Stok glukosa = 50 mM

Faktor	Konsentrasi	Group Meja 3	Group Meja 2
1	50	1.562	2.184
2	25	0.638	1.843
4	12.5	0.175	1.076
8	6.25	0.155	0.615
16	3.125	0.045	0.307
32	1.563	0.031	0.209
64	0.781	0.087	0.136
128	0.391	0.061	0.082
Blanko		0	0

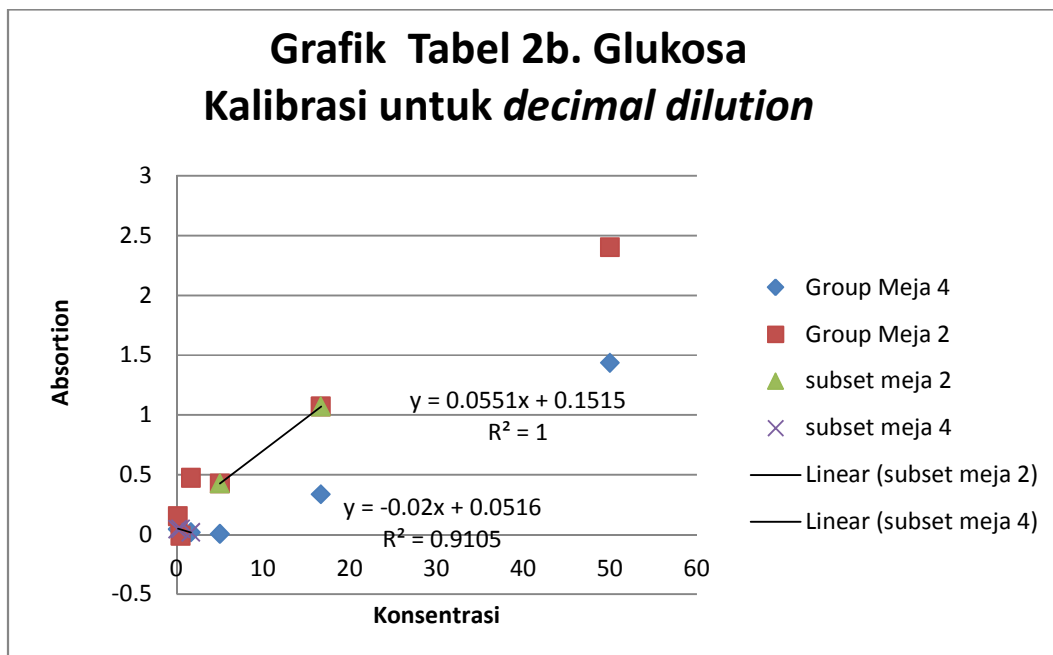
**Grafik Tabel 2a. Glukosa
Kalibrasi untuk doubling dilution**



Analisa: Dari grafik diatas didapat subset meja 2 dan meja 3 dari data perwakilan dengan R^2 hampir mendekati angka 1 (0,99) dan angka 1 (satu) yang artinya tidak ada perbedaan. Data diikuti dengan garis yang linier. Garis yang linier ini menunjukkan data sesuai dengan Hukum Beer Lambert. Data merupakan perwakilan dari masing-masing meja.

Tabel 2b . Urea - data untuk kalibrasi *decimal dilution*
Konsentarsi Stok glukosa = 50 mM

Faktor	Konsentrasi	Group Meja 4	Group Meja 2
1	50	1.436	2.402
3	16.67	0.337	1.07
10	5	0.005	0.427
30	1.667	0.017	0.475
100	0.5	0.047	-0.01
300	0.167	0.044	0.154
Blanko		0	0

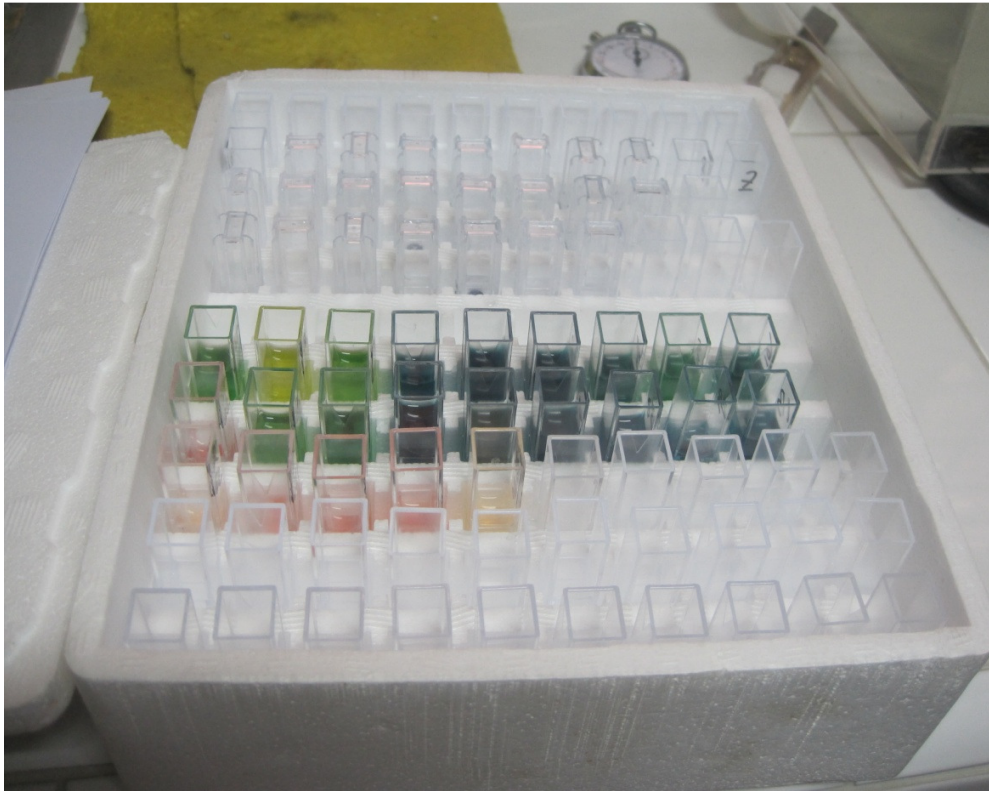


Analisa: Dari grafik diatas didapat subset meja 2 dan meja 4 dari data perwakilan dengan R^2 hampir tidak ada perbedaan, yaitu angka 1 (satu) dan 0,910. Data diikuti dengan garis yang linier. Garis yang linier ini menunjukkan data sesuai dengan Hukum Beer Lambert. Data merupakan perwakilan dari masing-masing meja.

Serapan sampel

Tabel 3. Konsentrasi glukosa dan urea dalam plasma yang dibaca pada grafik 1a s/d 2b serta yang dihitung melalui rumus Kit				
Uraian	Glukosa		Urea	
	Mhs: Taya	Mhs: Dita	Mhs: Sukaisi	Mhs: Siti
Serapan sampel	0.22	2.431	0.179	0.008
Dari grafik 1a/2a	1.875	27	-3.421	-2.96
Dari grafik 1b/2b	1.254	41.454	1.305	-7.425
Dari rumus kit	65.868	682.86	18.358	0.829

Analisa: Konsentrasi pada masing-masing sampel ada kesamaan dan ada juga yang berbeda. Perbedaan angka ini untuk konsentrasi glukosa maupun urea ini kemungkinan karena riwayat makanan yang dikonsumsi oleh mahasiswa sebelum diambil sampel-nya. Pada data grafik juga terlihat perbedaan angka yang cukup signifikan. kemungkinan ini karena teknik pengenceran pada masing-masing praktikan.



Gambar 3. Sampel sebelum diukur dengan alat Spektrofotometer

Tabel 4: Hasil pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea plasma mahasiswa

Detail mahasiswa Detail mahasiswa (berapa lama sejak makan, rata2 apa yang dimakan, jenis kelamin, umur)	Glukosa		Trigliserida		Urea	
	A	Kadar	A	Kadar	A	Kadar
Siti Syarifah (perempuan, 26 tahun) Makanan: dua potong gorengan (5 jam sebelum praktikum), jus kuini (1 jam sebelum praktikum)	0,286 Nilai standar: 0,114	250,88	0,092 Nilai standard: 0,113	162,83	0,008 Nilai standard: 0,386	0,83
Taya Elsa Savita (perempuan, 26 tahun) Makanan: nasi dan ikan goreng (4jam sebelum praktikum)	0,220 Nilai standard:0,334	61,80	0,090 Nilai standard:0,200	262,26	0,147 Nilai standard: 0,32,356	18
Sukaiis (perempuan, 35 tahun) Makanan: lontong sayur (3 jam sebelum praktikum, air madu (5 jam sebelum praktikum)	0,131 Nilai standar: 0,337	38,87	0,337 Nilai standard :0,257	90	0,179 Nilai standard: 0,390	15,23
Dita Hasni (perempuan, 25 tahun) Makanan: nasi & ikan goreng, dikonsumsi satu jam sebelum praktikum	2,431 Nilai standard: 0,356	682,87	0,337 Nilai standard: 0,257	86,25	0,179 Nilai standard: 0,390	12

Analisa:Tabel di atas menunjukkan bahwa perbedaan makanan yang dikonsumsi, umur, membuat variasi hasil pengukuran kadar glukosa, trigliserida dan urea dalam darah.

Kesimpulan:

1. Perlu perhatikan untuk teknik pengenceran. Kesalahan pada detil tabung reaksi mempengaruhi hasil pengukuran
2. Sebelum memasukkan larutan perhatikan tabung reaksi. Hindari kontaminasi dari larutan apapun, termasuk pipet jangan sampai tertukar.
3. Mengingat langkah kerja cukup banyak, perlu kehati-hatian dalam bekerja. Ketelitian sangat diperlukan untuk hasil yang diinginkan.