

Praktikum metabolisme glukosa, urea dan trigliserida (Tehnik Spektrofotometri)

Tanggal : 11 Oktober 2012

Pukul : 12.00-15.00

Praktikan : Rika Nailuvar Sinaga

Jimmy

Tujuan Praktikum

1. Mampu membuat larutan stok.
2. Mampu melakukan pengenceran larutan stok dengan menggunakan tehnik doubling dilution dan decimal dilution.
3. Mampu melakukan pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea dengan menggunakan tehnik Spektrofotometri.
4. Mampu menggunakan alat Spektrofotometer dengan benar dan dapat membaca hasil serapan (absorbance)
5. Mampu mengolah data yang diperoleh dari praktikum untuk memperoleh konsentrasi sesuai dengan hukum Beer-Lambert yang berlaku.

Larutan stok yang disiapkan

- Larutan stok urea : siapkan 10 ml larutan urea pada kadar 10g/l (atau 100 mg/dl)
Jumlah bubuk urea yang dibutuhkan : 0,1 g
- Larutan stok glukosa : siapkan 10ml larutan 100 mM glukosa
Jumlah bubuk glukosa yang dibutuhkan : 0,18 g

Cara Kerja :

1. Persiapan Larutan Stok

Jumlah bubuk urea yang dibutuhkan untuk membuat larutan stok adalah = 0,1 gr

2. Pengenceran

a. Doubling dilution :

1. Sediakan 8 tabung reaksi, beri tanda 1 s/d 8. Tambahkan 1 ml akudes masing-masing pada tabung reaksi 2 s/d 8.

2. Pada tabung reaksi 1 tambah 2 ml larutan stok.
3. Pada tabung reaksi 2 tambah 1 ml larutan yang diambil dari tabung reaksi 1. Campur dengan baik.
4. Pada tabung reaksi 3 tambah 1 ml larutan yang diambil dari tabung reaksi 2. Campur dengan baik.
5. Buat pengenceran larutan stok selanjutnya dengan cara yang sama (yaitu 1 ml larutan dari tabung reaksi sebelumnya ditambahkan ke tabung reaksi yang selanjutnya) sampai pengenceran pada tabung reaksi ke 8

b. Decimal dilution

1. Sediakan 6 tabung reaksi
2. Tabung 1 = 2 ml larutan urea (stok)
3. Tabung 2 = 0,67 ml larutan (tabung 1) + 1,33 ml aquadest
4. Tabung 3 = 0,2 ml larutan (dari tabung 1) + 1,8 ml aquadest
5. Tabung 4 = 0,67 ml larutan (tabung 2) + 1,33 ml aquadest
6. Tabung 5 = 0,2 ml larutan (dari tabung 3) + 1,8 ml aquadest
7. Tabung 6 = 0,67 ml larutan (tabung 4) + 1,33 ml aquadest

3. Pemeriksaan Glukosa, Trigliserida dan Urea

1. 1 ml darah diambil ke dalam wadah yang berisi EDTA. Menggunakan alat sentrifugasi klinik untuk memisahkan sel-sel darah dari plasma. Diharap dapat $\pm 500\mu\text{l}$ plasma tapi hanya $10\mu\text{l}$ dibutuhkan untuk pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea masing-masing.
2. Pemeriksaan terhadap glukosa, trigliserida serta urea berdasar reaksi enzim (lihat lampiran-lampiran). Perhatikanlah bahwa waktu pada reaksi enzim dicatat dan diikuti dengan benar – kalau sampel-sampel tidak diperlakukan secara sama, hasilnya pasti kurang bagus.
3. Oleh karena periode reaksi harus diatur dengan baik, kerjakan setiap bagian satu per satu (yaitu inkubasi untuk sampel-sampel pengenceran *doubling* dan *decimal*, maupun pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea).

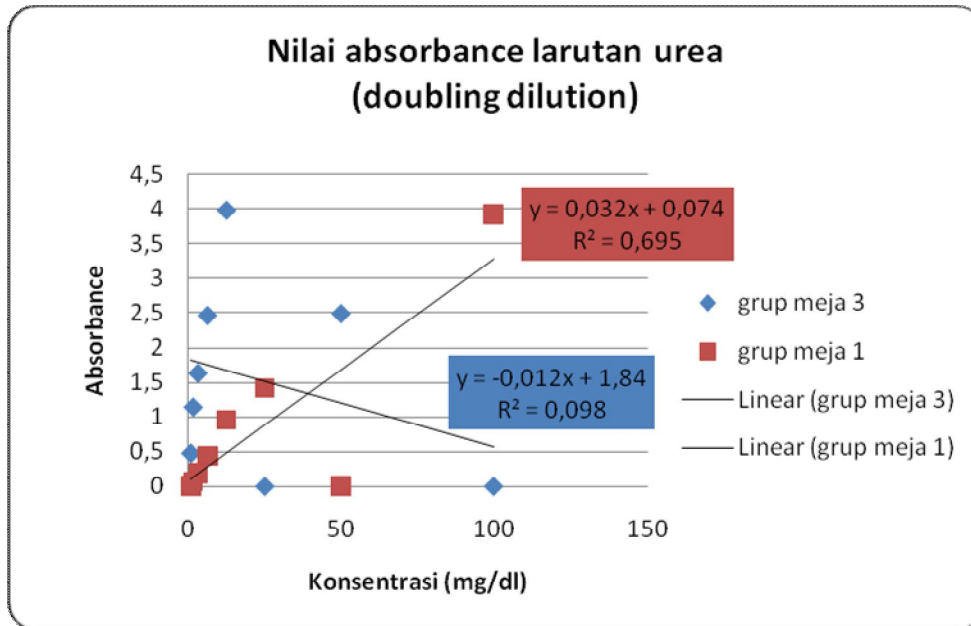
4. Bahan (reagensia kit serta standar) untuk pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea disediakan di tempat tertentu di Lab Terpadu. Bawalah tabung reaksi dengan rak tabungnya ke tempat pemeriksaan untuk mengambil reagensia yang dibutuhkan.
5. Kemudian masukkan masing-masing tabung reaksi ke dalam cuvette, hidupkan alat spektrofotometri dan atur panjang gelombang (glukosa: 500nm, trigliserida 530nm, urea 600nm), set absorbance pada angka 0
6. Masukkan cuvette yang berisi larutan blank ke sample holder pada spektrofotometri, set transmisi %T pada 100
7. Masukkan cuvette larutan standart : catat hasil As: Absorbance standart
8. Masukkan cuvette larutan sample : catat hasil Au : Absorbance zat yang diukur
9. Begitu juga untuk pemeriksaan doubling dilution & decimal dilution sebelumnya masukkan blank dan standart glukosa

Hasil

**Table 1a: Urea- data untuk kalibrasi doubling dilution
Konsentrasi stok urea = 100 mg/dl**

Faktor	Konsentrasi	Grup meja 3	Grup meja 1
1	100	-	3,9210
2	50	2,4895	-
4	25	-	1,4138
8	12,5	3,9808	0,9514
16	6,25	2,4635	0,4369
32	3,125	1,6336	0,1930
64	1,5625	1,1418	0,0693
128	0,78125	0,4759	0,0068
blanko		0	0

Grafik 1a



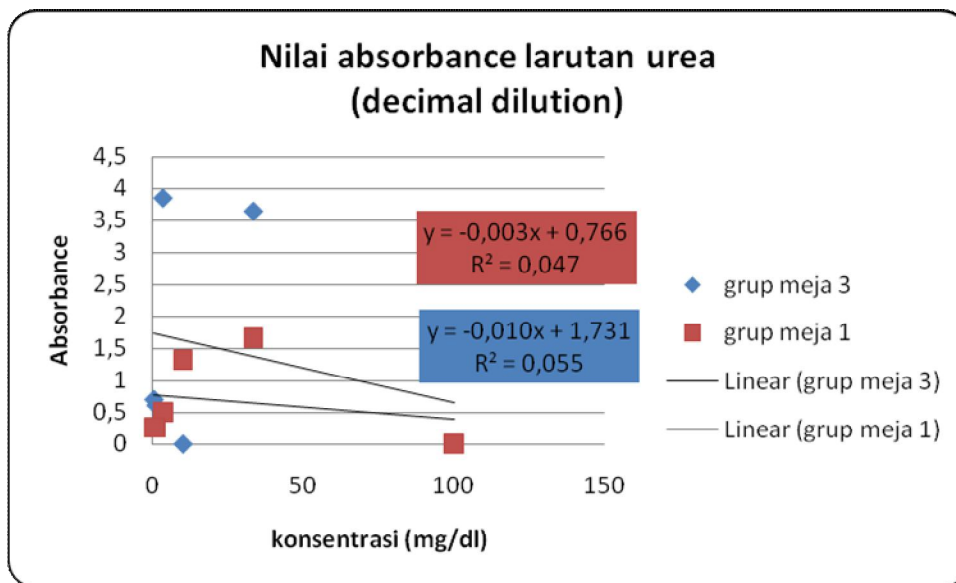
Kesimpulan Grafik 1a :

1. Nilai R^2 pada meja 1 sebesar 0,695 atau sebesar 69,5%, hal ini berarti keselarasan model regresi cukup baik, nilai Absorpsi mempunyai hubungan dengan model regresi dan sesuai dengan Hukum Beer-Lambert yaitu, nilai absorpsi dan konsentrasi suatu larutan berbanding lurus. Bila R^2 bernilai 1 atau 100% maka dikatakan sempurna. Disini tidak ada hubungan linear antara variabel X dan variabel Y .
2. Nilai R^2 dari meja 3 sebesar 0,098 atau 9,8%, nilai tersebut lebih kecil dari nilai yang didapat meja 1, hal ini berarti tingkat keselarasan model regresi sangat buruk. Hal ini diakibatkan karena kesalahan penggunaan pipet Mohr pada saat memasukkan bahan . Disini juga tidak ada hubungan linear antara variabel X dan variabel Y .

Table 1b: Urea- data untuk kalibrasi decimal dilution
Konsentrasi stok urea = 100 mg/dl

Faktor	Konsentrasi	Grup meja 3	Grup meja 1
1	100	-	-
3	33,33	3,6328	1,6760
10	10	-	1,3331
30	3,333	3,8390	0,5019
100	1	0,6123	0,2616
300	0,3333	0,7016	0,2695
blanko		0	0

Grafik 1b



Kesimpulan Grafik 1b :

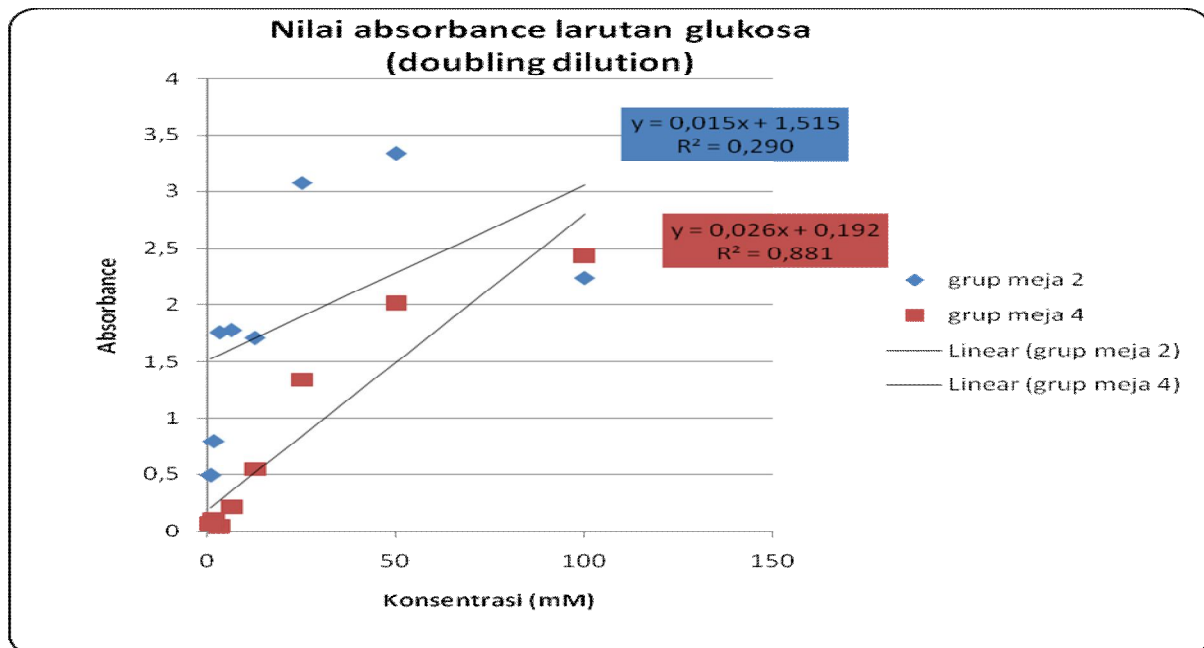
1. Nilai R^2 pada meja 1 sebesar 0,047 atau sebesar 4,7%, hal ini berarti keselarasan model regresi sangat buruk , tidak ada hubungan linear antara variabel X dan variabel Y. Hal ini bisa diakibatkan tehnik pengenceran yang kurang tepat atau adanya kesalahan saat meletakkan sampel pada alat spektrofotometri seperti cuvet yang kurang bersih, panjang gelombang yang salah. Disini tidak ada hubungan linear antara variabel X dan variabel Y

2. Nilai R^2 pada meja 3 hanya sebesar 0,055 atau 5,5%, nilai tersebut lebih besar dari nilai yang didapat meja 1, tetapi tingkat keselarasan model regresi sangat buruk juga, tidak ada hubungan linear antara variabel X dan variabel Y. Hal ini diakibatkan karena kesalahan penggunaan pipet Mohr pada saat memasukkan bahan .

**Table 2a: Glukosa - data untuk kalibrasi doubling dilution
Konsentrasi stok glukosa = 100mM**

Faktor	Konsentrasi	Grup meja 2	Grup meja 4
1	100	2,237	2,4339
2	50	3,3384	2,0126
4	25	3,0730	1,3355
8	12,5	1,7104	0,5461
16	6,25	1,7776	0,2104
32	3,125	1,7581	0,0372
64	1,5625	0,7986	- 0,0951
128	0,78125	0,4935	- 0,0623
blanko		0	0

Grafik 2a



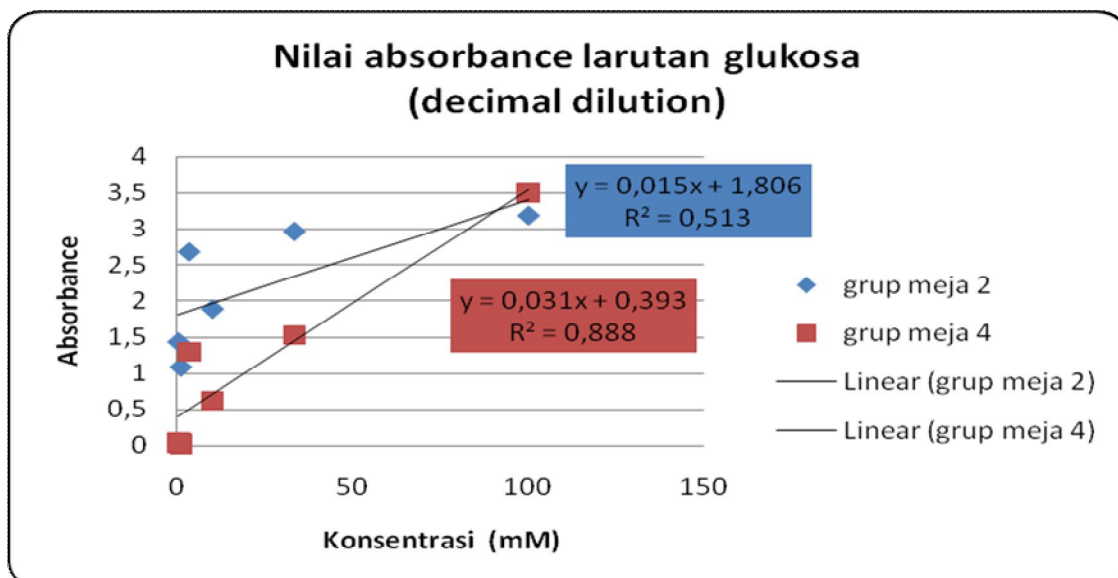
Kesimpulan Grafik 2a :

1. Nilai R^2 pada meja 4 sebesar 0,881 atau 88,1%, hal ini berarti keselarasan model regresi mendekati sempurna. Tetapi tidak ada hubungan linear antara variabel X dan Variabel Y karena terjadi penyimpangan data yang disebabkan oleh penggunaan pipet Mohr yang kurang tepat .
2. Nilai R^2 pada meja 2 sebesar 0,290 atau 29%, hal ini berarti hasil yang didapat tidak bagus dan lebih buruk dibandingkan dengan meja 4 dan tidak ada hubungan linear antara variabel X dan variabel Y , kemungkinan ini juga terjadi karena penggunaan pipet Mohr yang kurang tepat .

Table 2b: Glukosa - data untuk kalibrasi decimal dilution
Konsentrasi stok glukosa = 100mM

Faktor	Konsentrasi	Grup meja 2	Grup meja 4
1	100	3,1826	3,5118
3	33,33	2,9629	1,5316
10	10	1,8777	0,6242
30	3,333	2,6777	1,3002
100	1	1,0764	- 0,0249
300	0,3333	1,4226	0,043
blanko		0	0

Grafik 2b



Kesimpulan Grafik 2b :

1. Hasil meja 2 pada decimal delution ini lebih baik daripada hasil pada doubling dilution. Hal ini mungkin disebabkan kesalahan dalam perhitungan pengenceran pada doubling delution. Tetapi nilai R^2 meja 2 yang diperoleh sebesar 0,513 atau 51,3%, masih jauh dari nilai sempurna dan tidak ada hubungan linear antara variabel X dan variabel Y .
2. Nilai R^2 meja 4 pada decimal delution naik 0,7% menjadi 88,8%, namun tetap tidak mempunyai hubungan linear antara variabel X dan variabel Y.

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

	Glukosa		Urea	
	Meja : 2	Meja : 4	Meja : 1	Meja : 3
Serapan sampel	0,3332	0,1663	0,2120	0,2120
Dari grafik 1a/2a	- 78,78	- 0,98	4,31	- 135,66
Dari grafik 1b/2b	- 98,18	- 7,31	- 184,66	- 151,9
Dari rumus kit	156,06	77,89	4,52	4,52

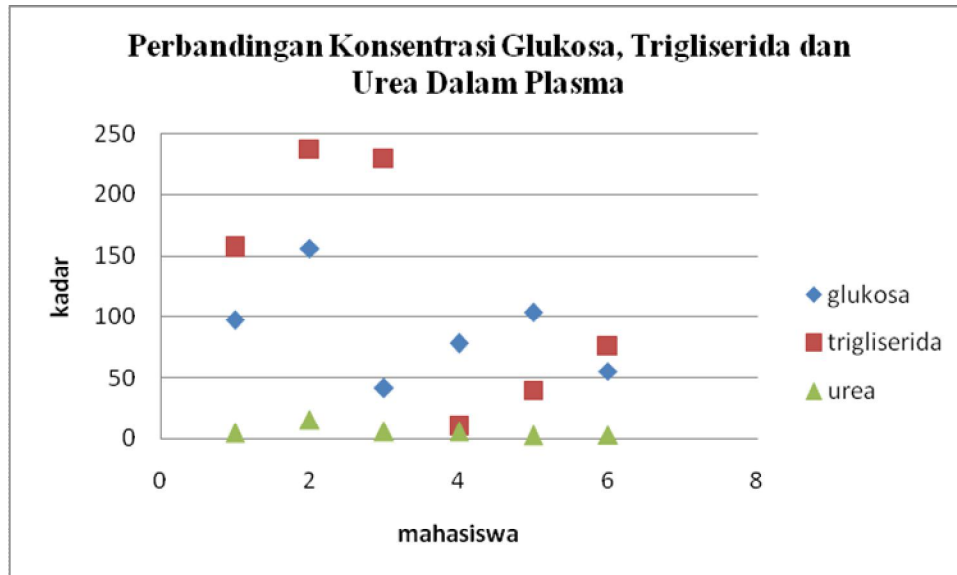
Kesimpulan :

Hasil pengukuran konsentrasi yang dilihat pada tabel sangat jauh berbeda dengan yang didapat dari rumus kit. Tetapi hasil grafik 1a/2a pada meja 1 hasilnya mendekati rumus kit. Sehingga rumus tersebut dapat dipakai. Hasil yang sangat jauh berbeda tersebut bisa diakibatkan karena kesalahan dalam persiapan sampel, seperti pengenceran yang tidak tepat, penambahan reagensia yang tidak sesuai ukuran, atau pencampuran larutan yang tidak sempurna, sehingga data yang didapat tidak sesuai dengan rumus kit.

Table 4 . Hasil pemeriksaan glukosa, trigliserida dan urea plasma mahasiswa

Detil2 mhs (berapa lama sejak makan; rata-rata apa yang dimakan ; jenis kelamin ; umur)	Glukosa		Trigliserida		Urea	
	A	kadar	A	kadar	A	kadar
Henny (1 jam sebelum makan mie goreng)	0,2061	96,53	1,0093	156,41	0,2120	4,52
Jekson (1 jam sebelum makan molen)	0,3332	156,06	1,5332	237,61	0,7163	15,27
Sari (4 jam sebelum makan nasi gurih komplit, 1 jam sebelum makan nasi + ayam + kentang keju)	0,0882	41,31	1,4772	228,93	0,2559	5,45
Rebecca (4 jam sebelum makan nasi, 1 jam sebelum makan 3 gorengan)	0,1663	77,89	0,0638	9,88	0,2654	5,66
Yulia (1 jam sebelum minum segelas susu herbal + pisang coklat)	0,2544	103,12	0,2486	39,55	0,1252	2,67
Frenky (1 jam sebelum makan nasi campur + telur + bakwan + teh manis)	0,1368	55,45	0,4807	76,48	0,1368	2,92

Grafik 4



Analisa data

Tabel di atas menunjukkan dengan jelas bahwa jenis makanan dan waktu mula konsumsi mempengaruhi kadar glukosa, trigliserida dan urea dalam darah .

SARAN

Kepada praktikan selanjutnya, agar lebih menguasai/memahami prosedur kerja sehingga hasil praktikum yang diperoleh sesuai dengan tujuan dan harus membiasakan penggunaan alat .