

LAPORAN PRAKTIKUM

Metabolisme Glukosa, Urea dan Trigliserida (Teknik Spektrofotometri)

Oleh Grup 3: Jenny Novina Sitepu – Karolina Br. Surbakti – Selly Oktaria

Waktu Praktikum:

Kamis, 11 Oktober 2012

Jam 08.00 – 12.00 WIB

I. Tujuan Praktikum :

1. Mengerti prinsip-prinsip dasar mengenai teknik spektrofotometri (yaitu prinsip dasar alatnya, kuvet, standard, balnko, serta Hukum Beer-Lambert)
Teknik spektrofotometri dapat mengukur jumlah cahaya yang melewati sampel larutan. Jumlah cahaya yang diserap oleh larutan sampel berkaitan dengan konsentrasi unsur di dalam larutan sampel tersebut dan dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi bahan secara kuantitatif.
2. Latihan pengenceran/pembuatan dan penggunaan larutan stok
Larutan stok yang digunakan adalah 10 ml larutan urea 100mg/dL dan glukosa 100mM.
3. Melakukan pemeriksaan kadar glukosa, trigliserida dan urea darah dengan teknik spektrofotometri.
Kadar glukosa, trigliserida dan urea darah dihitung berdasarkan nilai absorban yang didapatkan dengan teknik spektrofotometri.
4. Latihan pembuatan dan interpretasi grafik
Hasil pemeriksaan akan ditampilkan dalam bentuk grafik.
5. Persiapan untuk praktikum metabolisme II
Teknik-teknik praktikum ini akan digunakan untuk mendesain dan melakukan percobaan pada praktikum metabolisme II.

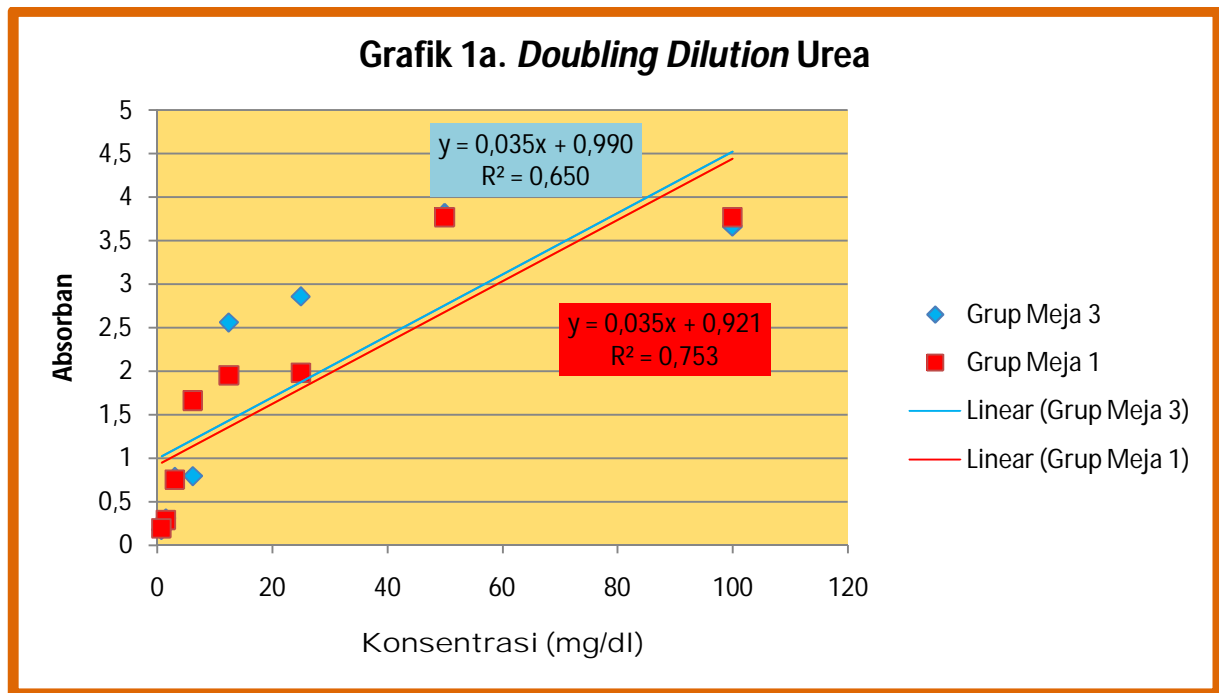
II. Hasil Praktikum dan Pembahasan

1. Doubling Dilution Urea

Tabel 1a. Hasil Doubling Dilution Urea

Faktor	Konsentrasi	Grup Meja 3	Grup Meja 5
1	100	3,814	3,773
2	50	3,664	3,7726
4	25	2,859	1,9814
8	12,5	2,562	1,9548
16	6,25	0,794	1,6641
32	3,125	0,783	0,7571
64	15,625	0,309	0,2904
128	0,78	0,179	0,1952

Konsentrasi stok urea = 100mg/dl



Pembahasan :

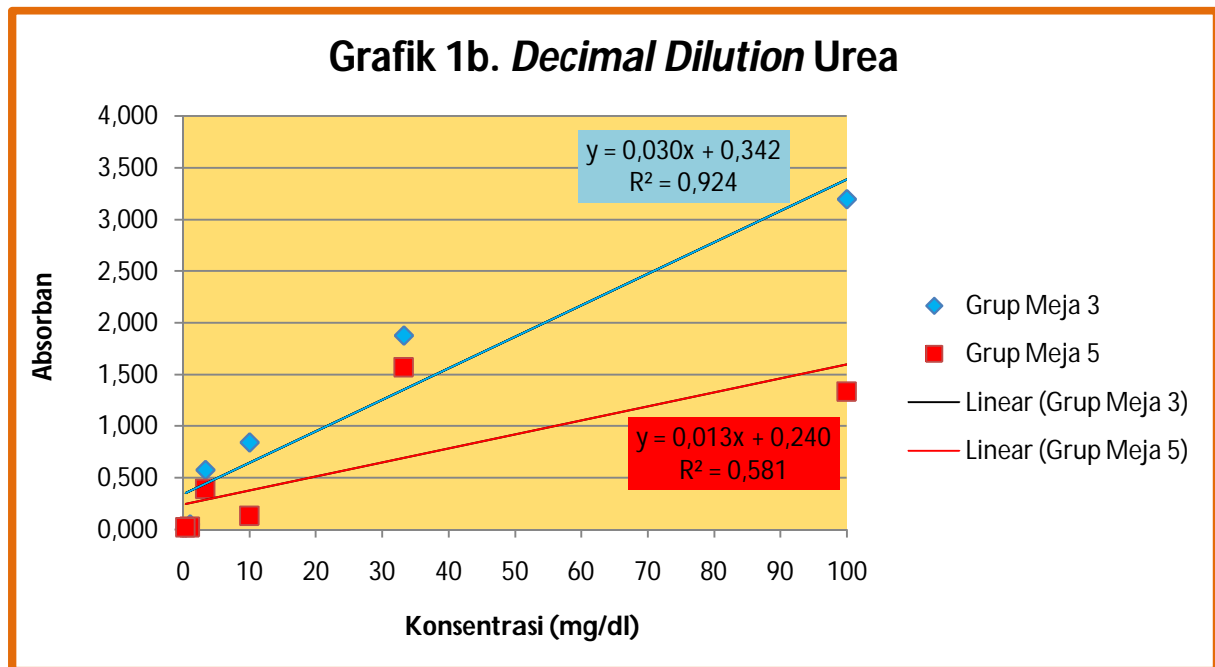
1. Deviasi 'R' yang terukur kurang dari 1 yaitu 0,6504 (65,04%) untuk grup meja 3 dan 0,7531 (75,31%) untuk grup meja 1. Hal ini menunjukkan ketidaktepatan konsentrasi pembuatan pengenceran larutan urea. Ketidaktepatan nilai konsentrasi ini dapat disebabkan kesalahan dalam pengambilan reagen (volume tidak tepat atau kesalahan dalam pengambilan sampel urea). Volume larutan urea yang dibutuhkan sangat sedikit yaitu 10 μ l sehingga kemungkinan pada saat memasukkan ke dalam tabung reaksi larutan tidak seluruhnya bercampur dengan reagen, tetapi sebagian menempel di dinding tabung. Hal tersebut sangat mempengaruhi konsentrasi yang ingin dicapai. Kesalahan juga dapat terjadi pada saat pengkalibrasian spektrofotometer yang digunakan.
2. Nilai R grup meja 1 lebih mendekati nilai 1 dibandingkan nilai R grup meja 3. Hal ini menunjukkan praktikan grup meja 1 lebih teliti dibandingkan praktikan grup meja 3 pada percobaan *doubling dilution* ini.
3. Grafik hasil pemeriksaan Absorban berbagai konsentrasi urea pada grup meja 3 dan 1 menunjukkan hasil yang tidak sesuai dengan hukum *Beer-Lambert* $A = \epsilon dc$ dan terdapat penyimpangan yang cukup jauh, terlihat dari grafik tidak berbentuk garis lurus. Nilai absorban yang didapatkan tidak berbanding lurus dengan konsentrasi urea yang diperiksa.

2. Decimal Delution Urea

Tabel 1b. Hasil *Decimal Dilution* Urea

Faktor	Konsentrasi	Grup Meja 3	Grup Meja 5
1	100	3,192	1,333
3	33,3	1,873	1,564
10	10	0,842	0,128
30	3,33	0,576	0,388
100	1	0,051	0,021
300	0,333	0,019	0,018

Konsentrasi stok Urea: 100mg/dl



Pembahasan :

1. Deviasi 'R' yang terukur kurang dari 1 yaitu 0,9241 (92,41%) untuk grup meja 3 dan 0,581 (58,1%) untuk grup meja 5. Hal ini menunjukkan ketidaktepatan konsentrasi pembuatan pengenceran larutan urea. Ketidaktepatan nilai konsentrasi ini dapat disebabkan kesalahan dalam pengambilan reagen (volume tidak tepat atau kesalahan dalam pengambilan sampel urea). Volume larutan urea yang dibutuhkan sangat sedikit yaitu 10 μ l sehingga kemungkinan pada saat memasukkan ke dalam tabung reaksi larutan tidak seluruhnya bercampur dengan reagen, tetapi sebagian menempel di dinding tabung. Hal tersebut sangat mempengaruhi konsentrasi yang ingin dicapai. Kesalahan juga dapat terjadi pada saat pengkalibrasian spektrofotometer yang digunakan.

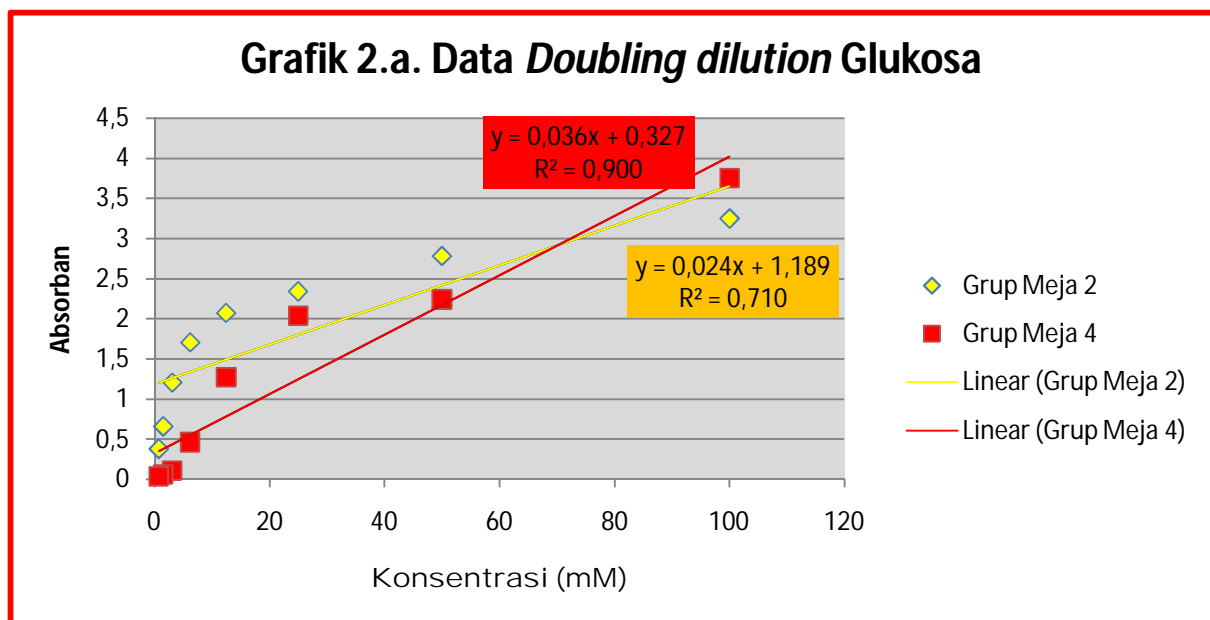
2. Nilai R grup meja 3 lebih mendekati nilai 1 dibandingkan nilai R grup meja 5. Hal ini menunjukkan praktikan grup meja 3 lebih teliti dibandingkan praktikan grup meja 5.
3. Grafik hasil pemeriksaan Absorban berbagai konsentrasi urea pada grup meja 3 menunjukkan adanya ketidaksesuaian dengan hukum *Beer-Lambert* $A = \epsilon dc$, terlihat pada beberapa titik konsentrasi tidak berbanding lurus dengan A.
4. Grafik hasil pemeriksaan Absorban berbagai konsentrasi urea pada grup meja 5 menunjukkan hasil yang tidak sesuai dengan hukum *Beer-Lambert* $A = \epsilon dc$ dan terdapat penyimpangan yang cukup jauh, terlihat dari grafik tidak berbentuk garis lurus. Nilai absorban yang didapatkan tidak berbanding lurus dengan konsentrasi urea yang diperiksa.

3. *Doubling Dilution* Glukosa

Tabel 2a. Hasil *Doubling Dilution* Glukosa

Faktor	Konsentrasi	Grup Meja 2	Grup Meja 4
1	50	3.253	3.753
2	25	2.786	2.242
4	12.5	2.344	2.039
8	6.25	2.075	1.273
16	3.125	1.709	0.464
32	1.563	1.208	0.107
64	0.78	0.661	0.061
128	0.39	0.382	0.038

Konsentrasi stok glukosa : 100mM



Pembahasan :

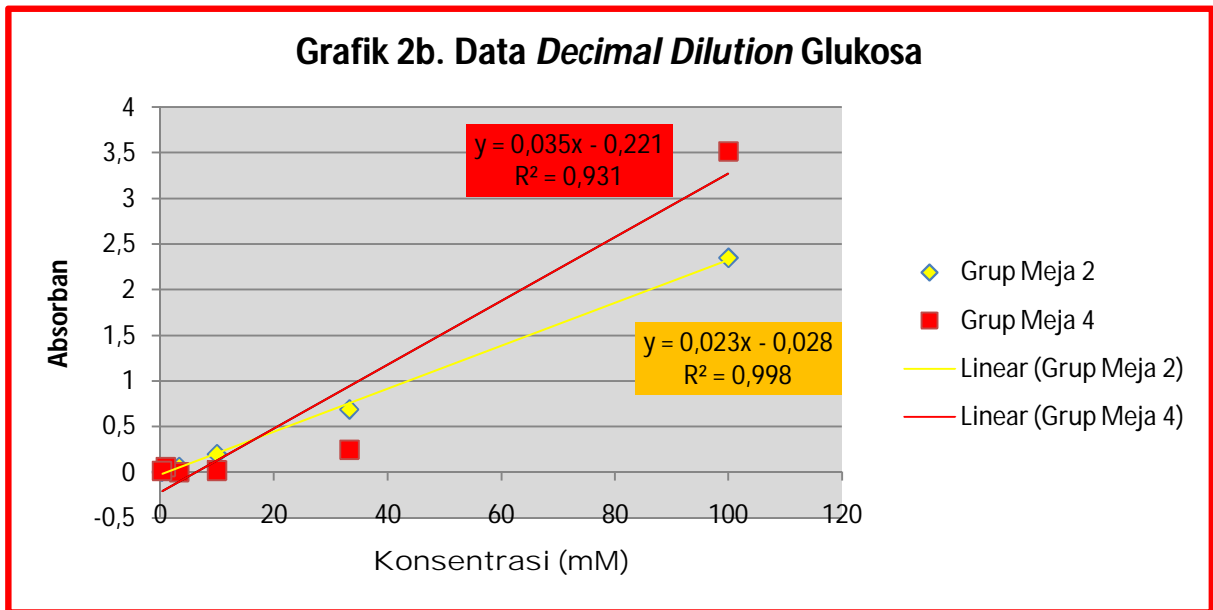
1. Deviasi 'R' yang terukur kurang dari 1 yaitu 0,7109 (71,09%) untuk grup meja 2 dan 0,9006 (90,06%) untuk grup meja 4. Hal ini menunjukkan ketidaktepatan konsentrasi pembuatan pengenceran larutan urea. Ketidaktepatan nilai konsentrasi ini dapat disebabkan kesalahan dalam pengambilan reagen (volume tidak tepat atau kesalahan dalam pengambilan sampel urea). Volume larutan urea yang dibutuhkan sangat sedikit yaitu 10 µl sehingga kemungkinan pada saat memasukkan ke dalam tabung reaksi larutan tidak seluruhnya bercampur dengan reagen, tetapi sebagian menempel di dinding tabung. Hal tersebut sangat mempengaruhi konsentrasi yang ingin dicapai. Kesalahan juga dapat terjadi pada saat pengkalibrasian spektrofotometer yang digunakan.
2. Nilai R grup meja 4 lebih mendekati nilai 1 dibandingkan nilai R grup meja 2. Hal ini menunjukkan praktikan grup meja 4 lebih teliti dibandingkan praktikan grup meja 2.
3. Grafik hasil pemeriksaan Absorban berbagai konsentrasi urea pada grup meja 2 menunjukkan hasil yang tidak sesuai dengan hukum *Beer-Lambert* $A = \epsilon dc$ dan terdapat penyimpangan yang cukup jauh, terlihat dari grafik tidak berbentuk garis lurus. Nilai absorban yang didapatkan tidak berbanding lurus dengan konsentrasi urea yang diperiksa.
4. Grafik hasil pemeriksaan Absorban berbagai konsentrasi urea pada grup meja 4 menunjukkan adanya ketidaksesuaian dengan hukum *Beer-Lambert* $A = \epsilon dc$, terlihat pada beberapa titik konsentrasi tidak berbanding lurus dengan A.

4. *Decimal Delution* Glukosa

Tabel 2b. Hasil *Decimal Dilution* Glukosa

Faktor	Konsentrasi	Grup Meja 4	Grup Meja 2
1	100	3.513	2.347
3	33.3	0.243	0.686
10	10	0.018	0.197
30	3.33	0.001	0.058
100	1	0.054	0.017
300	0.33	0.017	0.006

Konsentrasi glukosa 100mM



Pembahasan :

1. Deviasi 'R' yang terukur kurang dari 1 yaitu 0,9984 (99,84%) untuk grup meja 2 dan 0,9317 (93,17%) untuk grup meja 4. Hal ini menunjukkan ketidaktepatan konsentrasi pembuatan pengenceran larutan urea. Ketidaktepatan nilai konsentrasi ini dapat disebabkan kesalahan dalam pengambilan reagen (volume tidak tepat atau kesalahan dalam pengambilan sampel urea). Volume larutan urea yang dibutuhkan sangat sedikit yaitu 10 µl sehingga kemungkinan pada saat memasukkan ke dalam tabung reaksi larutan tidak seluruhnya bercampur dengan reagen, tetapi sebagian menempel di dinding tabung. Hal tersebut sangat mempengaruhi konsentrasi yang ingin dicapai. Kesalahan juga dapat terjadi pada saat pengkalibrasian spektrofotometer yang digunakan.
2. Nilai R grup meja 2 lebih mendekati nilai 1 dibandingkan nilai R grup meja 4. Hal ini menunjukkan praktikan grup meja 2 lebih teliti dibandingkan praktikan grup meja 4 pada percobaan *decimal dilution* glukosa ini.
3. Grafik hasil pemeriksaan Absorban berbagai konsentrasi urea pada grup meja 2 dan 4 menunjukkan adanya ketidaksesuaian dengan hukum *Beer-Lambert* $A = \epsilon dc$, terlihat pada beberapa titik konsentrasi tidak berbanding lurus dengan A.

5. Tabel Konsentrasi Glukosa dan Urea dalam plasma yang dibaca pada grafik 1a s/d 2b serta yang dihitung melalui rumus kit

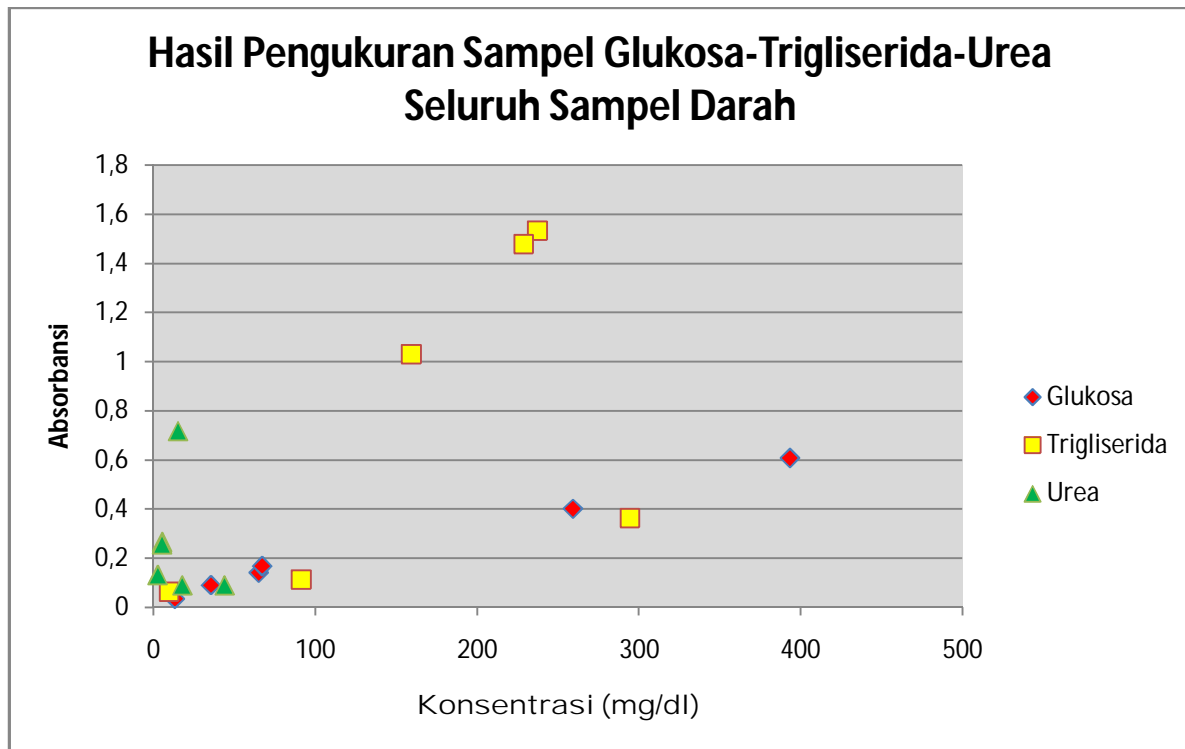
Jenis	Glukosa		Urea	
	Mhs : F	Mhs : Y	Mhs : F	Mhs : Y
Serapan Sampel	259,36 mg/dl	393,40 mg/dl	17,95 mg/dl	43,94 mg/dl
dari grafik 1a/2a	0,3421 mg/dl	0,3497 mg/dl	0,9243 mg/dl	0,9243 mg/dl
dari grafik 1b/2b	-0,0186 mg/dl	-0,0138 mg/dl	0,3447 mg/dl	0,3447 mg/dl
dari rumus kit	259,36 mg/dl	393,38 mg/dl	18,31 mg/dl	58,91 mg/dl

Pembahasan:

Dari data di atas terlihat konsentrasi berdasarkan serapan sampel dan rumus kit menunjukkan hasil yang hampir sama, tetapi nilai konsentrasi yang diperoleh dengan menggunakan persamaan dari grafik sangat jauh. Hal ini kemungkinan terjadi karena konsentrasi yang dipergunakan untuk membuat pengenceran sangat kecil sehingga absorbannya menjadi rendah (mendekati nilai blanko) sehingga nilai absorban.

6. Tabel dan Grafik Hasil Pengukuran Kadar Sampel Glukosa-Urea-Trigliserida Seluruh Kelompok Praktikum

Detail Mahasiswa	GLUKOSA		TRIGLISERIDA		UREA	
	A	Kadar (mg/dl)	A	Kadar (mg/dl)	A	Kadar (mg/dl)
Frencky Menu: Nasi komplit + Teh manis Waktu: 1 jam sebelumnya	0.4002	259.36	0.1127	91.55	0.0893	17.95
Yulia Menu: susu herbal + pisang coklat Waktu: 1 jam sebelumnya	0.607	393.4	0.3626	294.56	0.0893	43.94
Henny Menu: mie goreng Waktu: 1 jam sebelumnya	0.1393	65.25	1.0294	159.54	0.1314	2.8
Jekson Menu: 20 molen Waktu: 1 jam sebelumnya	0.0332	13.45764	1.5322	237.4583	0.7163	15.2933
Rebecca Menu: Nasi putih 4 jam + gorengan Waktu: 1 jam sebelumnya	0.1663	67.40981	0.0638	9.88764	0.2654	5.6664
Sari Menu: Nasi putih + ayam goreng + kentang goreng + keju Waktu: 1 jam sebelumnya	0.0882	35.75193	1.4772	228.9345	0.2559	5.463571



Pembahasan:

Glukosa

1. Bila diperhatikan pada tabel dan grafik di atas untuk kelompok praktikum pagi (sampel darah Frengky dan Yulia) menunjukkan hasil cenderung tinggi sedangkan kelompok praktikum siang menunjukkan hasil yang terlalu rendah (hipoglikemia), tidak sesuai dengan kondisi klinis mahasiswa yang diperiksa. Pada sampel Jekson, kadar glukosa darah yang diperoleh berdasarkan pemeriksaan nilai absorbannya sangat rendah 13,46 mg/dl, susah masuk ke tahap hipoglikemia berat. Tidak sesuai dengan kondisi klinisnya yang sadar penuh dan dapat beraktivitas dengan baik.
2. Jarak antara waktu makan terakhir dengan pengambilan sampel rata-rata 1 jam, namun hasil yang diperoleh sangat jauh berbeda terutama antara kelompok pagi dan kelompok siang. Hal ini mungkin disebabkan oleh kesalahan dalam pengambilan sampel. Kelompok pagi mungkin mengambil sampel terlalu banyak, sedangkan kelompok siang mengambil sampel terlalu sedikit.
3. Kadar glukosa yang didapatkan tidak sesuai dengan makanan yang dikonsumsi sebelum pengambilan sampel. Misalnya, sampel Sari dengan menu nasi putih, ayam goreng, kentang goreng dan keju 1 jam sebelumnya memiliki kadar glukosa yang lebih rendah dibandingkan sampel Rebecca dengan menu nasi putih 4 jam sebelumnya dan gorengan 1 jam sebelum pengambilan sampel. Hal ini juga mungkin disebabkan kesalahan dalam pengambilan sampel. Jika pengambilan sampel benar, perbedaan tersebut juga dapat disebabkan oleh

perbedaan tingkat metabolisme glukosa dalam tiap individu dan jumlah makanan yang dikonsumsi. Misalnya, jenis makanan yang beragam dengan jumlah sedikit belum tentu mengandung glukosa yang lebih tinggi dibandingkan satu jenis makanan dengan jumlah yang banyak.

Trigliserida

1. Kadar trigliserida sampel 2,4,6 cukup tinggi dengan pengambilan sampel 1 jam setelah makan. Bila dilihat dari komposisi makanan sampel 2 dan 6, kadar lemak dan karbohidratnya cukup tinggi, yaitu susu herbal dan pisang coklat untuk sampel 2 dan nasi putih, ayam goreng, kentang goreng, dan keju untuk sampel 6. Trigliserida langsung meningkat saat makan karena langsung diserap dari makanan dalam bentuk kilomikron.
2. Sampel 4 makan 20 molen 1 jam sebelum pengambilan sampel menunjukkan hasil trigliserida yang tinggi. Hal ini menunjukkan kadar trigliserida tidak hanya ditentukan oleh jenis makanan tetapi juga jumlah makanan yang dikonsumsi.
3. Kadar trigliserida sampel 1 dan 3 menunjukkan hasil yang normal dengan menu yang setara, yaitu nasi komplit dengan mie goreng. Hal ini menunjukkan kesesuaian intake makanan dengan kadar trigliserida.
4. Sampel 5 menunjukkan hasil yang jauh dibawah normal. Hal ini mungkin disebabkan kesalahan dalam pengambilan sampel. Sebab jika dilihat dari komposisi makanan yang dimakan sebelum pengambilan sampel, kadar trigliserida yang diperoleh tidak sesuai.

Urea

1. Pada sampel 1, 2 dan 4 menunjukkan hasil yang normal. Komposisi makanan pada sampel 1 dan 2 mengandung protein yang hampir setara yaitu nasi komplit dan susu herbal. Sedangkan sampel 4 mengkonsumsi molen yang banyak mengandung karbohidrat dan lemak. Sampel 4 menunjukkan hasil yang paling tinggi yaitu 43,94 mg/dl sesuai dengan makanan yang dikonsumsi yaitu susu yang mengandung protein tinggi.
2. Pada sampel 3, 5, dan 6 menunjukkan hasil yang jauh dibawah normal. Bila dilihat dari menu makanan hampir setara dengan sampel 1,2, dan 4. Hal ini dapat disebabkan kesalahan jumlah sampel yang diambil.

III. Kesimpulan

1. Ketelitian praktikan seluruh kelompok masih kurang, dilihat dari nilai R^2 yang sebagian besar $<95\%$ (0,95).
2. Persamaan regresi linear yang diperoleh dari perbandingan konsentrasi dan nilai absorbansi yang diperoleh pada proses pengenceran pada percobaan tidak dapat digunakan sebagai rumus standard untuk memprediksi konsentrasi

sampel karena hasil yang diberikan jauh berbeda dengan konsentrasi berdasarkan absorbansi sampel dan rumus kit. Hal ini mungkin disebabkan karena variasi konsentrasi yang digunakan dalam percobaan sangat kecil sehingga sebagian sebagian rumus menunjukkan hasil negatif yang artinya konsentrasinya lebih kecil dari blanko.

3. Kadar glukosa, trigliserida, dan urea plasma tiap individu berbeda-beda, tergantung dari makanan yang dikonsumsi baik jenis, jumlah dan jarak antar makan dengan pengambilan sampel.

IV. Saran :

1. Perlu penambahan alat untuk percobaan yaitu waterbath untuk pemanasan dan spektrofotometer untuk pembacaan nilai absorbansi sehingga masing-masing kelompok tidak perlu waktu yang lama untuk mengantri sebab waktu dapat mempengaruhi hasil percobaan.
2. Konsentrasi yang dipergunakan untuk pengenceran sebaiknya lebih besar sehingga praktikan dapat lebih teliti dan hasilnya lebih baik.
3. Bisa dirancang praktikum selanjutnya dengan mengatur menu makanan yang mengandung karbohidrat yang tinggi untuk satu kelompok, trigliserida yang tinggi kelompok yang satunya dan protein yang tinggi, agar lebih bisa terlihat perbedaan proses metabolismenya postprandial, 2 jam postprandial.