**LAPORAN PRAKTIKUM 4**

**METABOLISME GLUKOSA, UREA DAN TRIGLISERIDA**

**(TEKNIK SPEKTROFOTOMETRI)**

**Oleh: Lucia Aktalina dan Liza Mutia**

**Kamis, 11 Oktober 2012**

**Jam 08.00 – 11.00 WIB**

**Tujuan praktikum:**

* Mengerti dan memahami tehnik pengenceran dan pembuatan larutan, karena merupakan persiapan yang harus dilakukan sebelum melakukan praktikum ini
* Mengerti mengenai dasar-dasar tehnik spektrofotometri meliputi: prinsip dasar spektrofotometer, Kuvet, larutan standar, larutan blanko serta Hukum Beer-Lambert
* Memperoleh nilai serapan Glukosa, Trigliserida, dan Urea melalui spektrofotometer sehingga kadarnya dapat dihitung
* Melatih dalam hal pembuatan grafik serta interpretasinya
* Melatih untuk Praktikum Metabolisme II

**Hasil Praktikum dan Kesimpulan**

**Tabel 1a: Urea - Data untuk kaliberasi *Doubling Dilution***

**Konsentrasi Stok Urea = 100 mg/dl**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Faktor | Konsentrasi (mg/dl) | Serapan Sampel Grup 5 (nm) | Serapan SampelcGrup 3 (nm) |
| 1 | 100 | 1,66643 | 3,6440 |
| 2 | 50 | 1,8744 | 3,8539 |
| 4 | 25 | > 4,000 | 2,8591 |
| 8 | 12,5 | > 4,000 | 2,5624 |
| 16 | 6,25 | 1,8184 | 0,7944 |
| 32 | 3,125 | 1,2818 | 0,7829 |
| 64 | 1,5625 | 0,5960 | 0,3090 |
| 128 | 0,78125 | 0,4914 | 0,1797 |
| Blanko | 0 | 0 | 0 |

**Gambar 1a. Grafik Perbandingan Serapan dengan Konsentrasi Urea**

**pada *Doubling Dilution***

**Kesimpulan:**

* Jika dibandingkan antara R2 Grup 5 dan Grup 3, maka Grup 3 lebih baik dalam hal ketepatan melakukan *doubling dilutio*n larutan urea. Hal ini terlihat dari nilai R2 pada Grup 3 lebih besar daripada Grup 5.
* Dari grafik 1a, didapat nilai R2 pada Grup 5 adalah 16,2%, hal ini menunjukkan bahwa pengenceran yang dilakukan sangat tidak sesuai dan tepat dengan prosedur, karena nilai R2 sangat jauh dari 1. Hal ini terjadi mungkin ada kesalahan dalam membuat larutan baik dalam mengukur larutan, alat yang digunakan sewaktu mengukur, ketepatan mengukur volume yang digunakan dan reagensia yang digunakan. Pada Grup 5 mengukur larutan yang akan diencerkan menggunakan pipet Mohr dan tidak dilakukan inkubasi pada waterbath, tetapi dilakukan inkubasi pada suhu ruangan
* Berdasarkan Hukum *Beer-Lambert* : A = ϵdc, maka pada percobaan pengenceran pada Grup 3 dan Grup 5 tidak sesuai. Terlihat dari grafik garis linear yang dihasilkan. Grafik yang dihasilkan sangat jauh menyimpang dari garis lurus dan juga terlihat dari nilai R2 masing-masing grafik.

**Tabel 1b: Urea- Data Kaliberasi untuk *Decimal Dilution***

**Konsentrasi Stok Urea = 100 mg/dl**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Faktor | Konsentrasi (mg/dl) | Serapan Sampel Grup 5 (nm) | Serapan Sampel Grup 3 (nm) |
| 1 | 100 | 1,564 | 1,8732 |
| 3 | 3,35 | 1,3327 | 3,1922 |
| 10 | 10 | 0,3883 | 0,8422 |
| 30 | 0,335 | 0,1275 | 0,5763 |
| 100 | 1 | 0,0185 | 0,051 |
| 300 | 0,0335 | 0,0183 | 0,0199 |
| Blanko | 0 | 0 | 0 |

**Gambar 1b. Grafik Perbandingan Serapan dengan Konsentrasi Urea**

**pada Decimal Dilution**

**Kesimpulan:**

* Dari grafik diatas diperoleh bahwa grup Grup 3 lebih akurat dalam melakukan pengenceran *Decimal Dilution* dibandingkan grup Grup 5. Hal ini jelas terlihat dari nilai R2 grup Grup 3 adalah 92,5% sedangkan grup Grup 5 R2 adalah 79,2%
* Hal tersebut diatas disebabkan oleh karena sewaktu melakukan pengenceran grup Grup 3 menggunakan pipet otomatis dalam mengukur jumlah larutan sehingga hasil lebih akurat, sedangkan grup Grup 5 menggunakan pipet Mohr.
* Pada grup Grup 5 inkubasi hanya dilakukan pada suhu ruangan saja tidak diinkubasi di *waterbath*. Oleh karena sudah sampel yang sudah tercampur reagensia sudah terlalu lama dibiarkan dalam suhu ruangan
* Berdasarkan Hukum *Beer-Lambert* : A = ϵdc, pengenceran yang dilakukan kedua grup tidak sesuai.

**Tabel 2a: Glukosa - Data untuk Kaliberasi *Doubling Dilution***

**Konsentrasi Glukosa 100 mg/dl**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Faktor | Konsentrasi (mg/dl) | Serapan Sampel grup 2 (nm) | Serapan Sampel grup 4 (nm) |
| 1 | 100 | 3,2527 | 3,7527 |
| 2 | 50 | 2,7859 | 2,2420 |
| 4 | 25 | 2,3442 | 2,0393 |
| 8 | 12,5 | 2,0753 | 1,2728 |
| 16 | 6,25 | 1,7090 | 0,4635 |
| 32 | 3,125 | 1,2075 | 0,1067 |
| 64 | 1,5625 | 0,661 | 0,0613 |
| 128 | 0,78125 | 0,3823 | 0,0386 |

**Gambar 2a. Grafik Perbandingan Serapan dengan Konsentrasi Glukosa**

**pada *Doubling Dilution***

**Kesimpulan:**

* R2 yang dihasilkan kedua grup menunjukkan hasil yang sangat berbeda. Grup 4 menghasilkan R2 90%, hal ini bearti grup Grup 4 lebih akurat melakukan *Doubling Dilution* dibandingkan Grup Grup 2 dengan nilai R2 70%
* Dari grafik garis linear yang dihasilkan, pada grup Grup 4 hanya dua pengenceran saja yang sesuai dengan rumus yang dihasilkan. Sedangkan pada Grup 2 hanya satu pengenceran saja yang sesuai dengan rumus yang dihasilkan
* Hukum *Beer-Lambert* tidak sesuai dengan hasil yang terlihat pada grafik.

**Tabel 2b: Glukosa - Data untuk Kaliberasi *Decimal Dilution***

**Konsentrasi Glukosa 100 mg/dl**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| faktor | Konsentrasi (mg/dl) | Serapan Sampel Grup 2 (nm) | Serapan Sampel Grup 4 (nm) |
| 1 | 100 | 2,3471 | 3,5128 |
| 3 | 33,5 | 0,6853 | 0,2425 |
| 10 | 10 | 0,1974 | 0,0544 |
| 30 | 3,35 | 0,0582 | 0,0176 |
| 100 | 1 | 0,0169 | 0,0174 |
| 300 | 0,335 | 0,0056 | 0,0009 |

**Gambar 2b. Grafik Perbandingan Serapan dengan konsentrasi Glukosa**

**pada *Decimal Dilution***

**Kesimpulan:**

* Pada *Decimal Dilution* R2 yanng dihasilkan kedua grup lebih besar dibandingkan dengan *Double Dilution*. Hal ini terlihat jelas pada nilai R2 Grup 2 adalah 93,3% dan Grup 4 adalah 99,8 %. Tetapi Grup 4 jelas lebih akurat dibanding Grup 2
* Hal ini mungkin saja praktikan melakukan pengenceran dengan lebih teliti lagi dalam mengukur volume larutan yang dibutuhkan atau menggunakan alat yang lebih akurat dibandingkan sewaktu membuat *Doubling Dilution*
* Dari keenam pengenceran yang dilakukan oleh grup 4 ada 3 pengenceran yang sesuai dengan rumus yang dihasilkan oleh grafik. Sedangkan grup 2 hanya satu pengenceran saja.
* Hukum *Beer-Lambert* tidak sesuai untuk pengenceran yang dilakukan oleh grup 2 dan grup 4 terlihat dari grafik yang dihasilkan.

**Tabel 3. Konsentrasi Glukosa dan Urea dalam Plasma yang dibaca pada Grafik 1a/2b serta yang dihitung melalui rumus Kit**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Glukosa | | Urea | |
| mhs: Franky | mhs: Yulia | mhs: Franky | mhs: Yulia |
| serapan sampel (nm) | 0,1368 | 0,607 | 0,0893 | 0,1252 |
| dari grafik 1a/2a ( mg/dl) | -5,2833 | 7,777 | -171,1000 | -165,9714 |
| dari grafik 1b/2b (mg/dl) | 10,2800 | 23,7143 | -6,2466 | -3,8533 |
| dari rumus kit (mg/dl) | 98,77 | 438,27 | 1,908 | 2,674 |

**Kesimpulan:**

* Dari perhitungan yang diperoleh dengan menggunakan rumus dari grafik untuk menghitung konsentrasi urea hasilnya sangat jauh berbeda dari rumus kit. Hal ini terjadi oleh karena rumus pada grafik 1a tidak sesuai lagi, apalagi dengan nilai R2 yang sangat jauh dari nilai 1. Hal tersebut diatas disebabkan karena tidak tepat melakukan prosedur pengenceran.
* Salah satu faktor yang sangat mempengaruhi adalah mengukur volume dalam pengenceran. Inkubasi yang hanya dilakukan pada suhu ruangan ataupun reagensia yang sudah lama dibiarkan dalam suhu ruangan
* Hasil konsentrasi yang diperoleh rata-rata dibawah konsentrasi blanko, yang seharusnya semakin tinggi serapan dari blanko maka konsentrasi akan semakin besar pula. Dengan demikian rumus yang dihasilkan grafik tidak sesuai dengan rumus kit
* Tidak sesuainya hasil yang diperoleh dengan Hukum *Beer-Lambert*, sehingga hasil konsentrasi yang dihasilkan rumus grafik jauh dibawah konsentrasi blanko (minus)

**Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Glukosa, Trigliserida dan Urea plasma mahasiswa**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Detil-detil Mahasiswa** | **Glukosa** | | **Trigliserida** | | **Urea** | |
| **A** | **Kadar** | **A** | **Kadar** | **A** | **Kadar** |
| **Frengky**  nasi campur, Telur, Bakwan  Teh manis | 0,1368 | 98,7726 | 0,3626 | 402,6652 | 0,0893 | 1,9049 |
| **Yulia**  Segelas susu herbal,  pisang coklat | 0,6070 | 438,2671 | 0,2486 | 276,0689 | 0,1252 | 2,6706 |
| **Jekson**  Molen | 0,3320 | 239,7112 | 1,5322 | 1701,4990 | 0,7163 | 15,2794 |
| **Sari**  Pagi: Nasi gurih komplit  Siang,: nasi putih, ayam goreng | 0,0882 | 63,6823 | 1,4772 | 1640,4220 | 0,2559 | 5,4586 |
| **Henny**  mie goreng, air putih | 0,1393 | 100,5776 | 1,0294 | 1143,1430 | 0,1314 | 2,8029 |
| **Rebecca**  Nasi komplit, sayur tempe, 1/2 ptg ayam goreng, gorengan | 0,1663 | 120,0722 | 0,0638 | 70,8495 | 0,2654 | 5,6612 |

**Gambar 4a. Grafik Perbandingan Konsentrasi dengan Serapan Glukosa antar Plasma Mahasiswa**

**Kesimpulan**:

* Dari grafik diatas terlihat Mahasiswa Yulia memiliki kadar Glukosa yang paling tinggi, dan yang paling rendah Mahasiswa Sari. Dari makanan yang dikonsumsi oleh kedua mahasiswa tersebut tidak sesuai dengan hasil konsentrasi glukosa yang dihasilkan serta keadaan umum kedua mahasiswa tersebut.
* Hal tersebut mungkin terjadi dari waktu pengambilan sampel yang berbeda, jarak antara konsumsi Karbohidrat terakhir dengan pengambilan sampel,jenis makanan yang dikonsumsi atau larutan standar yang dibuat.
* Larutan sampel yang dibuat mungkin tidak sesuai dengan prosedur.
* Larutan standard yang dipakai untuk menilai absorban setiap mahasiswa juga berbeda-beda, sehingga juga bisa menyebabkan perbedaan hasil dengan kelompok lain

**Gambar 4b. Grafik Perbandingan Konsentrasi dengan Serapan Trigliserida antar Plasma Mahasiswa**

**Kesimpulan:**

* Dari grafik diatas dapat dinilai Mahasiswa yang mempunyai nilai trigliserida paling tinggi adalah Jekson, dan yang terendah adalah Rebecca
* Hasil konsentrasi Trigliserida yang dihasilkan juga sangat tinggi tidak sesuai dengan keadaan mahasiswa yang sebenarnya. Hal ini mungkin terjadi karena larutan sampel yang terlalu pekat, atau larutan standar yang dibuat tidak sesuai prosedur
* Hal ini sangat bergantung pada jenis makanan sebelum dilakukan pemeriksaan, tetapi tidak sesuai dengan hasil yang diperoleh. Selain itu jarak antara waktu makan dengan waktu pengambilan sampel dan metabolisme lemak perindividu
* Larutan standar yang digunakan pada masing-masing pemeriksaan mahasiswa juga berbeda, sehingga absorban yang dihasilkan juga berbeda tergantung dari larutan standarnya.
* Kesalahan dalam membuat larutan sampel dapat juga mempengaruhi hasil, terutama dalam mengambil volume yang dibutukan dalam membuat larutan sampel

**Gambar 4b. Grafik Perbandingan Konsentrasi dengan Serapan Urea antar Plasma Mahasiswa**

**Kesimpulan:**

* Dari grafik diatas didapatkan konsentrasi tertinggi pada mahasiswa Jekson dan terendah adalah Frengky dan tidak sesuai dengan makanan yang dikonsumsi
* Hal ini sangat bergantung dari sumber makanan yang mengandung protein yang dikonsumsi oleh mahasiswa.
* Larutan standar yang dipakai juga berbeda setiap mahasiswa dan cara pembuatan larutan sampel yang juga mempengaruhi.

**Kesimpulan Praktikum:**

* Dari seluruh grup yang melakukan percobaan rata-rata menghasilkan R2 < 95%, yang bearti banyaknya kesalahan dalam melakukan prosedur pengenceran, serta prosedur persiapan pemeriksaan spektrofotometri
* Hasil konsentrasi Glukosa, Trigliserida dan Urea yang diperoleh dari plasma dengan menggunakan rumus kit dibandingkan dengan menggunakan rumus grafik yang diperoleh sangat jauh berbeda. Untuk menghindari kesalahan yang tersebut hendaknya diperlukan ketelitian dan ketepatan dalam melakukan setiap prosedur
* Selisih waktu antara pengambilan sampel dengan konsumsi makanan setiap mahasiswa yang diperiksa tidak sama sehingga juga mempengaruhi hasil.
* Larutan standar dan larutan yang buat masing-masing grup berbeda-beda serapannya sehingga hasil yang diperoleh juga sangat jauh berbeda dan tidak relevan dengan keadaan mahasiswa sebenarnya
* Larutan reagensia dengan sampel terlalu lama dibiarkan dalam suhu kamar, sehingg tidak semua grup yang melakukan inkubasi dengan *waterbath*

**Saran:**

* Setiap mahasiswa hendaknya melakukan setiap prosedur dengan teliti terutama dalam hal pengukuran. Hal ini juga bisa didukung dengan ketersediaan alat yang cukup
* Jarak antara waktu pengambilan sampel dengan mengkonsumsi makanan sebaiknya dicatat terlebih dahulu, sehingga hasil yang diperoleh bisa dianalisa dengan baik
* Larutan standar yang digunakan sebaiknya hanya satu, dan benar-benar dibuat dengan prosedur yang ada. Sehingga hasil yang diperoleh tidak jauh menyimpang