

FA
1701

Modul Praktikum Kimia Klinik

Disusun Oleh:
Sri Gustini Husein
Yunita Melianasari
Betty Handayani

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

2020



DAFTAR ISI

I. MODUL 1 URINALISIS	1
II. MODUL 2 PEMERIKSAAN GLUCOSE GOD - PAP	9
III. MODUL 3 PENENTUAN KADAR KOLESTEROL	11
IV. MODUL 4 PEMERIKSAAN SGOT	19
V. MODUL 5 PEMERIKSAAN SGPT	22
VI. MODUL 6 PEMERIKSAAN BILIRUBIN TOTAL	25
VII. MODUL 7 PEMERIKSAAN CREATININ	28
VIII. MODUL 8 UJI SENYAWA PROTEIN	30
IX. MODUL 9 ANALISIS ENZIM	37
X. MODUL 10 DARAH: PEMERIKSAAN HEMOGLOBIN	42

MODUL 1

URINALISIS

A. Tujuan Praktikum

1. Mengetahui sifat fisik urin
2. Mengetahui ada tidaknya glukosa dalam urin
3. Mengetahui ada tidaknya albumin dalam urin
4. Mengenali bau ammonia dari hasil penguraian urea dalam urin

B. Dasar Teori

Urin merupakan hasil filtrasi darah oleh glomerulus ginjal. Tujuannya adalah membersihkan darah dari sisa-sisa metabolisme serta mengatur jumlah air dan elektrolit dalam tubuh. Fungsi ini disebut dengan fungsi homeostatic tubuh oleh ginjal yang dijalankan oleh glomerulus dan tubuli. Tubuli merupakan bagian ginjal yang menyeleksi dan mengatur bahan-bahan dengan mekanisme ekskresi dan absorbsi bahan-bahan tersebut termasuk air.

Hampir seluruh zat lolos melewati membran kapiler glomerulus kecuali protein dan sel darah. Oleh karena itu jika terjadi proses radang, permeabilitas membran akan meningkat. Sehingga pada kasus glomerulonefritis urin akan mengandung protein dan sel-sel darah, misalnya pada kasus proteinuria dan hematuria.

Tubuli sangat berperan dalam menyerap kembali glukosa dan air hasil filtrasi glomerulus. Semua glukosa darah masuk ke dalam filtrat glomerulus dan diserap kembali oleh tubuli. Nilai ambang ginjal terhadap glukosa adalah 350mg/menit yang setara dengan kadar glukosa darah 170mg%. Kadar glukosa darah yang melebihi ambang ini akan menyebabkan glukosa masuk ke urin (disebut glukosuria). Namun kemampuan tubuli ginjal dalam menyerap glukosa dapat pula menurun lebih rendah dari 350mg.

1. Pemeriksaan Fisik Urin

a. Jumlah/volume

Merupakan banyak urin yang diekskresikan seseorang dalam 24 jam. Volume urin biasanya bertambah akibat intake air banyak, lingkungan yang dingin, hipotermia, obat diuretic, atau pada penyakit tertentu seperti diabetes. Volume tersebut akan berkurang akibat intake air sedikit, lingkungan yang panas/kering, hipertermia atau penyakit glomerulonefritis akut. Volume urin normal berkisar antara 600-2500ml/24 jam.

b. Bau

Adanya asam organik yang mudah menguap menyebabkan urin berbau aromatis. Bila didiamkan lambat laun akan berbau amoniak karena fermentasi amoniak. Pada diabetes mellitus berat, urin biasanya berbau aseton.

c. Warna

Urin normal berwarna kuning muda jernih karena adanya urokrom, urobilin, uroeritrin (pigmen yang mungkin berasal dari melanin). Warna urin menjadi lebih tua bila suhu badan meningkat.

Urin dapat berubah warna menjadi:

- Kuning kehijauan karena adanya bilirubin
- Merah karena adanya darah/hemoglobin
- Putih susu karena adanya pus (nanah) atau banyak butir-butir lemak
- Hitam karena adanya asam homogentisat pada alkaptonuria atau adanya derivat fenol pada keracunan karbol.

d. Buih

Bila dikocok urin akan berbuih. Dalam kondisi normal, buih tersebut lambat laun akan menghilang. Bila terdapat bilirubin, buih tampak berwarna kuning dan akan lama menetap, hal ini disebabkan karena turunya tegangan permukaan air

e. Kekeruhan

Jika didiamkan, lambat laun urin akan mengeruh. Hal ini disebabkan karena mengendapnya mucus atau urin menjadi alkalis sehingga fosfat/karbonat mengendap. Pada urin yang berubah menjadi alkalis disebabkan karena terjadi fermentasi dan ureum diubah menjadi amoniak.

f. Rasa

Pada penderita diabetes mellitus, urin berasa manis (perhatikan adanya semut)

g. pH

urin normal memiliki pH berkisar 4,8-7,5 meskipun umumnya bersifat asam (± 6). Setelah makan, urin bersifat alkalis karena banyak HCl yang dikeluarkan di lambung. Jika banyak makan makanan yang mengandung protein, maka urin akan bersifat asam karena banyak mengandung fosfat dan sulfat. Jika banyak makan jenis sayuran/buah-buahan, urin menjadi alkalis karena banyak mengandung natrium dan kalium. Dalam kondisi demam, keasaman

urin akan meninggi. Katabolisme lemak yang meningkat akan meningkatkan ekskresi benda keton yang bersifat asam.

h. Berat jenis

Berat jenis urin bergantung pada intake air, kelembaban udara dan suhu lingkungan, suhu tubuh dan jenis penyakit. Berat jenis urin normal berkisar 1,003-1,030 gr/L

2. Pemeriksaan Kimia Urin

a. Urea

Urea merupakan hasil akhir katabolisme protein, sehingga hasil akhirnya sebanding dengan intake protein. Urea dibentuk di hepar dan diekskresikan di ginjal. Meskipun kadarnya dalam darah cukup besar, namun tidak bersifat toksik. Tingginya kadar urea dalam urin menggambarkan fungsi ginjal.

b. Amoniak

Dalam urin baru, amoniak berjumlah sedikit. Sekitar 0,7gr/hari dalam bentuk garam amonia

c. Keratin dan kreatinin

Kreatinin adalah material yang secara konstan normal terdapat dalam urin, sedangkan keratin tidak. Kreatinin berasal dari hasil akhir metabolisme keratin atau keratin fosfat yang terdapat dalam otot. Ekskresi kreatinin dipengaruhi oleh efektivitas kerja dan jumlah massa otot serta fungsi ekskresi dari ginjal

d. Sulfat

Sulfat dalam urin terutama berasal dari hasil katabolisme asam amino yang mengandung S

e. Fosfat

Dalam urin, fosfat terdapat dalam bentuk fosfat alkalin (garam Na dan K-fosfat) serta fosfat bumi (garam Ca dan Mg-fosfat) yang mengendap pada urin alkalis

f. Mineral (Na, K, Ca, Mg)

Ekskresi Na bergantung pada intake dan kebutuhan tubuh. Ekskresi K bergantung pada intake dan kerusakan jaringan. Hormone korteks adrenal juga mempengaruhi ekskresi Na dan K. Ca dan Mg hanya sedikit ditemukan dalam urin. Gangguan metabolisme tulang akan mempengaruhi ekskresi Ca di urin

g. Urobilinogen dan urobilin

Urobilinogen dan urobilin merupakan hasil akhir degradasi bilirubin. Ekskresinya dapat meninggi atau menurun pada penyakit tertentu.

h. Asam urat

Asam urat merupakan hasil oksidasi akhir purin dalam tubuh. Asam urat kurang larut dalam air, tetapi dengan alkali membentuk garam yang mudah larut

i. Asam amino

Ginjal memiliki ambang batas yang tinggi, sehingga ekskresi asam amino hanya sedikit. Ekskresi asam amino dalam urin meningkat pada kelainan absorpsi tubuler (kelainan congenital) dan orang yang keracunan CCl₄ dan CHCl₃

j. Klorida

Bentuk ekskresinya sebagai NaCl. Jumlah yang diekskresikan sebanding dengan intakenya.

C. Prinsip Percobaan

1. Sifat fisik urin

Pada urin normal akan ditemui ciri fisik sebagai berikut:

Warna	:	kuning jernih
Volume	:	200-400 ml
Bau	:	aromatis
Buih	:	tidak ada
Kekeruhan	:	negatif
Berat jenis	:	>1gr / 100ml
pH	:	netral

2. Glukosa dalam urin

Dalam percobaan ini, apabila terjadi perubahan warna hijau menunjukkan kadar glukosa 1%, merah kadar glukosa 1,5%, orange kadar glukosa 2%, kuning kadar glukosa 5%.

3. Albumin dalam urin

Percobaan ini menggunakan prinsip Hellers Nitric Acid Test. Apabila terbentuk cincin berwarna putih antara daerah kontak urin dengan asam nitrit menunjukkan reaksi positif.

4. Ammonia dalam urin

Jika dipanaskan urea dalam urin akan teroksidasi dan menimbulkan bau aromatis yang merupakan bau ammonia

D. Alat dan bahan

Alat	Bahan
1. Beaker glass	1. pH indicator
2. Gelas ukur	2. urin
3. BJ urin	3. korek api
4. Tabung reaksi	4. spirtus
5. Penjepit tabung	5. benedict
6. pipet tetes	6. asam nitrit
7. lampu spirtus	
8. pipet ukur	
9. bulb	

E. Prosedur kerja

a. Sifat fisik urin

1. Tuangkan urin yang telah ditampung ke dalam gelas ukur untuk mengetahui volumenya
2. Masukkan BJ urin ke dalam gelas ukur atau beaker glass untuk mengukur berat jenis urin dan biarkan BJ urin tersebut mengambang, lalu baca skala yang ditunjukkan pada BJ urin
3. Amati sifat fisik urin lainnya seperti bau, warna, pH, kekeruhan, buih

b. Glukosa dalam urin

1. Didihkan 5ml larutan benedict dalam tabung reaksi
2. Tambahkan 8 tetes urin ke dalam larutan tadi dan panaskan selama 1-2 menit
3. Amati perubahan warna yang terjadi

c. Albumin dalam urin

1. Masukkan 5ml asam nitrit pekat ke dalam tabung reaksi
2. Miringkan tabung reaksi tersebut kemudian tetesi urin dengan menggunakan pipet secara perlahan sehingga urin turun melalui sepanjang tabung
3. Amati perubahan warna yang terjadi

d. Ammonia dalam urin

1. Masukkan 2ml urin ke dalam tabung reaksi
2. Panaskan dengan menggunakan lampu spirtus
3. Ciumlah bau yang ditimbulkannya

e. Evaluasi

1. Hasil pengamatan sifat fisik urin

Hari / Tanggal pengamatan	
1. Warna 2. Volume 3. Bau 4. Buih 5. Kekeruhan 6. Berat jenis 7. pH	

2. Apa yang dapat anda simpulkan dari hasil pengamatan sifat fisik urin?

3. Hasil pengamatan sifat kimia urin

Senyawa	Hasil		Reaksi
	Ada	Tidak	
Glukosa			
Albumin			
Amonia			

4. Faktor apa yang dapat mempengaruhi senyawa kimia dalam urin?

f. Referensi

- a. Poedjadi, Supriyanti, Dasar-Dasar Biokimia, 2005, UI Press, Jakarta
- b. Murray, Granner, Mayes, Rodwell, Biokimia Harper, 1997, EGC, Jakarta
- c. Linder, Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan pemakaian secara klinis, 2006, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.

MODUL 2

PEMERIKSAAN GLUCOSE GOD - PAP

TUJUAN

1. Tujuan Umum

Mahasiswa mampu mengetahui prinsip pemeriksaan Glukosa pada sampel serum.

2. Tujuan Khusus

a. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan Glukosa pada sampel serum.

b. Mahasiswa mampu menginterpretasikan hasil dari pemeriksaan Glukosa pada sampel serum.

METODE

“GOD-PAP” Fotometri : Uji Enzimatis

PRINSIP

Penentuan glukosa setelah oksidasi enzimatik oleh oksidase glukosa. Indikator kolorimetri yang digunakan adalah quinoneimine, yang dihasilkan dari 4-aminoantipyrine dan phenol oleh hidrogen peroksida pada aksi katalis peroksidase.

ALAT DAN BAHAN

Alat:

- Mikropipet + tip
- Spektrofotometer
- Tabung serologi
- Rak tabung
- Beaker glass

Bahan:

- Reagen
 - Buffer Phospate pH 7,5 250 mmol/L
 - Phenol 5 mmol/L
 - 4-aminoantipyrine 0,5 mmol/L
 - Glucose Oxidase (GOD) ≥ 10 kU/L
 - Peroxidase (POD) ≥ 1 kU/L

CARA KERJA

	Blanko	Sampel
Sampel	-	10 μ L
Blanko	10 μ L	-
Reagent	1000 μ L	1000 μ L

Campur, inkubasi 20 menit pada suhu 20°C-25°C atau 10 menit pada 37°C.
Baca Absorbansi Blanko dalam waktu 60 menit

INTERPRETASI HASIL

	mg/dl	mmol/L
Baru Lahir :		
Janin	53-158	3.5-8.8
1 jam	36-99	2.0-5.5
2 jam	36-89	2.2-4.9
5-14 jam	34-77	1.9-4.3
10-28 jam	46-81	2.6-4.5
44-52 jam	48-79	2.7-4.4
Anak-Anak		
1-6 tahun	74-127	4,1-7.0
7-19 tahun	70-106	3.9-5.9
Dewasa (Plasma)	70-115	3.9-6.4

MODUL 3

PENENTUAN KADAR KOLESTEROL (Metoda CHOD – PAP)

TUJUAN PERCOBAAN

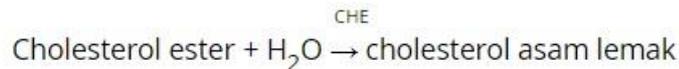
Setelah menyelesaikan percobaan ini mahasiswa diharapkan dapat :

1. Menyiapkan pasien untuk pemeriksaan kolesterol darah
2. Menginterpretasikan hasil laboratorium yang diperoleh

PRINSIP

Berdasarkan pada metode CHOD-PAP. Yaitu kolesterol ditetapkan langsung dalam serum plasma dan sisi reaksi dimana ester kolesterol dihidrolisis, gugus 3-OH dihidrolisis kemudian hidrogen yang merupakan hasil reaksi (secara enzimatik)

REAKSI



TEORI

1 Pengertian Kolesterol

Kolesterol adalah lemak yang terdapat dalam aliran darah atau berada dalam sel tubuh, yang sebenarnya dibutuhkan untuk pembentukan dinding sel dan sebagai bahan baku beberapa hormon, namun apabila kadar kolesterol dalam darah berlebihan, akan mengakibatkan penyakit jantung koroner dan stroke. Kolesterol secara alami bisa dibentuk oleh tubuh sendiri, selebihnya didapat dari makanan hewani, seperti daging, unggas, ikan, margarin, keju, dan susu. Makanan yang berasal dari nabati, seperti buah, sayur, dan beberapa biji-bijian, tidak mengandung kolesterol.

Kolesterol sendiri tidak larut dalam darah, untuk itu perlu berikatan dengan pengangkutnya yaitu lipoprotein, yaitu low-density lipoprotein (LDL) atau high-density lipoprotein (HDL). Kolesterol yang normal harus di bawah 200 mg/dl. Apabila di atas 240, anda berisiko tinggi terkena serangan jantung atau stroke. Mengukur kadar kolesterol

dengan metode "CHOD-PAP"². Menjelaskan nilai normal kolesterol serta kadar patologis dari hasil. Melakukan diagnosa dini penyakit apa saja yang disebabkan oleh hasil kolesterol abnormal / patologis melalui bantuan hasil praktikum yang dilakukan. Metabolisme lipoprotein dapat dibagi atas 3 jalur, yaitu jalur metabolisme eksogen, jalur metabolisme endogen dan jalur reverse cholesterol transport pathway (RCTP).

Makanan berlemak yang kita makan terdiri dari trigliserida dan kolesterol. Selain lemak yang berasal dari makanan, dalam usus juga terdapat kolesterol dari hati yang dieksresi bersama empedu ke usus halus. Baik lemak di usus halus yang berasal dari makanan maupun berasal dari hati disebut lemak eksogen. Trigliserid dan kolesterol dalam usus halus akan diserap ke dalam enterosit mukosa usus halus. Trigliserida akan diserap sebagai asam lemak bebas sedang kolesterol akan diserap sebagai asam lemak sebagai kolesterol. Di dalam usus halus asam lemak bebas akan dirubah lagi menjadi trigliserid, sedang kolesterol akan mengalami esterifikasi menjadi kolesterol ester dan keduanya bersama fosfolipid dan apolipoprotein akan membentuk lipoprotein yang dikenal dengan kilomikron.

2 Kolesterol HDL

Kolesterol HDL disebut sebagai lemak yang "baik", lantaran dapat membersihkan dan mengangkut timbunan lemak dari dinding pembuluh darah ke hati. Kolesterol HDL yang ideal harus lebih tinggi dari 40 mg/dl untuk pria, atau di atas 50 mg/dl untuk wanita. Penyebab kolesterol HDL yang rendah adalah kurang gerak badan, terlalu gemuk, serta kebiasaan merokok. Selain itu hormon testosteron pada pria, steroid anabolik, dan progesteron bisa menurunkan kolesterol HDL; sedangkan hormon estrogen wanita menaikkan HDL sedangkan perbedaan kolesterol Lp(a) adalah suatu variasi dari kolesterol LDL. Lp(a) yang tinggi berbahaya bagi jantung. Penyebab peningkatan Lp(a) belum jelas, mungkin berkaitan dengan faktor genetik.

HDL merupakan kolesterol "baik" yang membawa lipoprotein dengan kerapatan tinggi (high-density lipoproteins). Bila memiliki lebih artinya berada pada risiko rendah terkena penyakit jantung koroner.

2.1 Kadar HDL ("Kolesterol Baik")

Kurang dari 50 (wanita)/ 40 (pria)	Normal
Lebih dari 60	Tinggi

HDL mengangkut kolesterol dari sel-sel untuk kembali ke liver. Semakin tinggi kadar HDL, semakin baik bagi kita. Progesteron, anabolic steroid, dan testosteron cenderung menurunkan HDL, sementara estrogen menaikkan kadar HDL.

2.2 Rasio Kolesterol

Biasanya diberikan hasil kolesterol sebagai rasio kolesterol total terhadap kolesterol HDL (hal ini sama dengan menyatakan kolesterol total dibandingkan dengan kolesterol HDL).

Menurut American Heart Association (AHA), rasio sebaiknya di bawah 5:1 dengan jumlah optimal 3.5:1. Mungkin juga untuk membandingkan kolesterol LDL dengan kolesterol HDL untuk mendapatkan rasio (sama saja dengan menyatakan rasio kolesterol LDL terhadap kolesterol HDL). Dalam hal ini, rasio harus di bawah 3.5. Bagaimanapun, AHA merekomendasikan untuk menggunakan angka mutlak untuk kolesterol dibandingkan rasio. Alasannya angka mutlak dapat membantu dokter memutuskan tipe penyembuhan yang dibutuhkan pasien dibandingkan rasio.

3 Kolesterol LDL.

Kolesterol LDL merupakan kolesterol “jahat” yang membawa lipoprotein dengan kerapatan rendah (low-density lipoproteins). Sebaiknya kadar kolesterol LDL rendah karena berkaitan dengan risiko lebih tinggi penyakit jantung. Kolesterol LDL atau Lemak yang “Jahat” Kolesterol LDL adalah lemak yang “jahat”, karena bisa menimbun pada dinding dalam dari pembuluh darah, terutama pembuluh darah kecil yang mensuplai makanan ke jantung dan otak. Timbunan lemak itu makin lama makin tebal dan makin keras, yang dinamakan arteriosklerosis, dan akhirnya menyumbat aliran darah. Kolesterol LDL yang optimal adalah bila kadarnya dalam darah di bawah 100 mg/dl. Kolesterol LDL 100 – 129 mg/dl dimasukkan kategoriperbatasan (borderline), apabila di atas 130 dan disertai factor risiko lain seperti merokok, gemuk, diabetes, tidak olahraga, apalagi jika sudah mencapai 160 atau lebih, maka segera perlu diberi obat.

Kurang dari 100	Optimal
100-129	Mendekati optimal
130-159	Batas normal tertinggi
160-189	Tinggi
Lebih dari 190	Sangat tinggi

LDL adalah pengangkut kolesterol dari liver ke sel-sel. Bila terlalu banyak LDL, kolesterol akan menumpuk di dinding-dinding arteri dan menyebabkan sumbatan arteri

(aterosklerosis). Semakin rendah kadar LDL, semakin kecil risiko Anda terkena serangan jantung dan stroke. Faktor risiko penyakit jantung dan stroke lainnya menentukan seberapa tinggi LDL Anda seharusnya dan penanganan apa yang tepat bagi Anda.

3.1 Menghitung kolesterol LDL

Bila trigliserida kurang dari 400 mg/dL, dokter dapat menghitung kadar LDL kolesterol berdasarkan kadar kolesterol total, kolesterol HDL dan trigliserida yang telah diperiksa. Persamaan yang digunakan dokter : $\text{Kolesterol LDL} = \text{kolesterol total} - (\text{kolesterol HDL} + \text{trigliserida}/5)$). Hanya dokter yang sebaiknya menentukan cara terbaik untuk mengevaluasi dan menafsirkan kadar kolesterol. Diskusikan dengan dokter bila memiliki pertanyaan tentang kadar kolesterol atau cara terbaik untuk mengurangi risiko terkena penyakit jantung.

4 Rasio Kolesterol

Yang dimaksud dengan Rasio Kolesterol (Cholesterol Ratio) adalah perbandingan dari kolesterol total dibagi dengan kolesterol HDL. Misalnya bila kolesterol total anda 200 mg/dl, kolesterol HDL 50 mg/dl, maka Rasio Kolesterol adalah $200 : 50 = 4 : 1$. Upayakan Rasio selalu di bawah 5 : 1, rasio yang optimal adalah 3.5 : 1.

Kolesterol pada Wanita

Umumnya wanita mempunyai kolesterol HDL yang lebih tinggi daripada pria. Hormon estrogen wanita bisa menaikkan HDL, sehingga wanita sebelum menopause jarang kena serangan jantung. Wanita juga lebih banyak yang trigliseridanya tinggi. Makin tua dan makin gemuk, menyebabkan kolesterol dan trigliseridanya makin tinggi pula. Sebenarnya proses penebalan pembuluh darah atau arteriosklerosis dimulai dari kolesterol yang tinggi pada masa anak. Oleh karena itu, upayakan kolesterol darah di bawah 170 mg/dl dan kolesterol LDL paling tinggi 110 mg/dl untuk anak dan remaja.

Untuk memperbaiki kadar trigliserida omega 3 dan serat memiliki peranan yang cukup penting. Oleh karena itu konsumsi suplemen jely gamat, spirulina dan vitaluxor dianjurkan bagi mereka yang memiliki masalah. Kalung bio Fir dapat digunakan untuk menunjang kesehatan. sekedar info berikut ini adalah ambang batas trigliserida dalam darah sbb :

1. Kadar yang diinginkan : maksimal 150 mg / dl
2. kadar ambang batas tinggi : antara 151 - 250 mg /dl
3. Kadar trigliserida tinggi : 251 - 400 mg / dl
4. Kadar trigliserida amat tinggi : 401 mg / dl atau lebih

ALAT DAN BAHAN

Alat	Bahan
Spektrofotometer Kuvet Pipet piston Alat gelas standar laboratorium	Serum darah Plasma heparin EDTA - -Regensia mengandung : 4-Aminoantipyrin 0,30 mmol/L, Phenol 6 mmol/L, Peroksidase $\geq 0,5$ U/mL, Kolesterol esterase $\geq 0,15$ U/mL Kolesterol oksidase $\geq 0,1$ U/mL, Pipes buffer 80 mmol/L ; pH 6,8 -standar : 5,17 mmol/l (200 mg/dl)

Persiapan dan stabilitas larutan

1. Reagen :

Larutan siap untuk digunakan . reagen ini stabil sampai waktu kadaluarsa bila disimpan pada 2-8 °C, tidak terkontaminasi dan terlindung dari cahaya langsung

2. Standar

Larutan siap untuk digunakan. Larutan standar stabil sampai waktu kadaluarsa bila disimpan pada 2-8 °C.

PROSEDUR

Panjang gelombang : Spektrofotometer ; panjang gelombang 546 nm

Suhu inkubasi : 20-25°C

Pengukuran dilakukan terhadap blanko reagen (BR)

Untuk setiap seri pemeriksaan hanya dibutuhkan satu BR

Cara kerja

1. Pipetkan kedalam tabung reaksi / kuvet :

	blanko reagent (μ l)	Standar (μ l)	Sampel (μ l)
Aquades	10	-	-
Standar	-	10	-
Sampel	-	-	10
Reagen	1000	1000	1000

2. Campurkan dan inkubasikan selama 10 menit pada 20-25°C atau selama 5 menit pada 37°C

3. Baca absorbansi sampel (A_{sampel}) terhadap BR dalam waktu 1 jam.

4. Perhitungan :

1. Dengan menggunakan standar

Konsentrasi kolesterol dalam sampel :

$$\text{Konsentrasi kolesterol (mmol/l)} = \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standar}}} \times 5.17$$

$$\text{Konsentrasi kolesterol (mg/dl)} = \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standar}}} \times 200$$

2. Dengan menggunakan Faktor :

Konsentrasi kolesterol dalam sampel (C) dapat dihitung dengan rumus:

Panjang Gelombang	mg/100 ml	mmol/l
546 nm	$C = 840 \times A_{\text{sampel}}$	$C = 21,7 \times A_{\text{sampel}}$
500 nm	$C = 553 \times A_{\text{sampel}}$	$C = 14,3 \times A_{\text{sampel}}$

Pertanyaan :

- Tuliskan struktur kolesterol dan jelaskan manfaat kolesterol di dalam tubuh kita
- Mengapa kolesterol di dalam tubuh ada dalam bentuk lipoprotein dan sebutkan macam – macam lipoprotein
- Selain kolesterol, apa saja yang termasuk lipid plasma

PEMERIKSAAN CHOLESTEROL TOTAL

TUJUAN

1. Tujuan Umum

Mahasiswa mampu mengetahui prinsip pemeriksaan Kolesterol Total pada sampel serum.

2. Tujuan Khusus

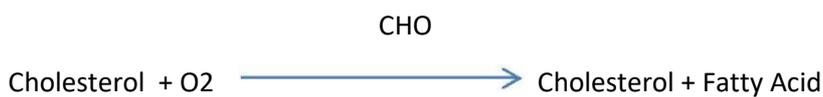
- Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan Kolesterol Total pada sampel serum.
- Mahasiswa mampu menginterpretasikan hasil dari pemeriksaan Kolesterol Total pada sampel serum

METODE

Metode pemeriksaan yang digunakan adalah metode kolorimetrik enzimatis CHOD-PAP

PRINSIP

Kolesterol ditentukan secara hidrolisis dan oksidasi enzimatis. Indikator kolorimetri adalah quinoneimine yang dihasilkan dari 4-aminoantipyrine dan fenol dengan katalisator peroksidase membentuk quinoneimine yang berwarna merah. Intensitas warna sebanding dengan konsentrasi kolesterol dan dapat ditentukan secara fotometrik. Absorbansi warna diukur pada panjang gelombang 546 nm.



ALAT DAN BAHAN

Alat:

- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Pipet ukur
- Ball pipet
- Mikropipet 10 μl
- Yellow tip
- Gelas beaker 50 mL
- Kuvet
- Spektrofotometer
- Stopwatch

Bahan:

- Sampel

- Standar 168 mg/dL
- Aquades

CARA KERJA

1. Ambil 3 tabung reaksi dan masing-masing tabung diberi label “blanko”, “standar”, dan “test”
2. Masing-masing tabung diberi larutan sebagai berikut :

	Blanko	Standar	Test
Reagen	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Aquades	10 µl	-	-
Standar	-	10 µl	-
Serum	-	-	10 µl

3. Campuran dalam masing-masing tabung dihomogenkan
4. Campuran diinkubasi -25° pada C) suhu selamarung 20 (2m
5. Masing-masing campuran dituang ke dalam kuvet
6. Absorbansi campuran tadi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm dengan titik nol sebagai blanko
7. Hasil absorbansi dicatat dan dihitung kadar kolesterol total.

INTERPRETASI HASIL

Parameter	Nilai rujukan (mg/dl)
Nilai rujukan normal	< 200
Resiko sedang	200 –240
Resiko tinggi	>240

MODUL 4

PEMERIKSAAN SGOT

(SERUM GLUTAMIC–OXALOACETIC TRANSAMINASE)

TUJUAN

1. Tujuan Instruksional Umum
 - a. Mahasiswa mampu mengetahui prinsip pemeriksaan SGOT pada serum
 - b. Mahasiswa mampu memahami teknik/cara pemeriksaan SGOT pada sampel serum
2. Tujuan Instruksional Khusus
 - a. Mahasiswa dapat melakukan pemeriksaan kadar SGOT pada serum
 - b. Mahasiswa dapat mengetahui kadar SGOT pada serum yang diperiksa

METODE

Metode yang digunakan adalah metode spektrofotometri UV berdasarkan IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) (Modifikasi)

PRINSIP

Aspartat amino transferase (ASAT/AST) mengkatalis transaminase dari L-aspartate dan 2-oxoglutarate membentuk L-glutamate dan oxaloacetate> Oxaloacetate direduksi menjadi L-milate oleh enzim malate dehydrogenase (MDH) dan nicomamide Adenin denodeotide 9NADH) teroksidasi menjadi NAD. Banyaknya NADH yang teroksidasi berbanding lurus dengan aktifitas AST dan diukur secara fotometrik pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 340 nm.

ALAT DAN BAHAN

Alat:

- Mikropipet 100 μ l
- Mikropipet 500 μ l
- Blue tip
- Tabung reaksi
- Kuvet
- Spektrofotometri

Bahan:

- Reagen ERBA ASAT (SGOT)
- | | | |
|----|----------------------|-----------------|
| R1 | Tris-Buffer (pH 7,8) | 110 mmol/L |
| | L-Aspartate | 340 mmo/L |
| | LDH | ≥ 4000 U/L |
| | MDH | ≥ 750 U/L |
| R2 | CAPS | 20 mmol/L |
| | 2-Oxoglutarate | 85 mmol/L |
| | NADH | 1,05 mmol/L |
- Sampel serum
 - Standar

CARA KERJA

1. Disiapkan semua alat dan bahan yang akan diperlukan
2. Monoreagen dibuat dengan mencampurkan 4 bagian R1 dengan 1 bagian R2, kemudian ditunggu 30 menit.
3. Sebanyak 500 μ l monoreagen ASAT (GOT) dimasukkan ke dalam tabung reaksi
4. Ditambahkan 50 μ l sampel serum dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi reagen.

5. Absorbansi larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm.
6. Absorbansi dibaca setelah 1 menit. Absorbansi dibaca kembali setelah 1,2 menit berikutnya.
7. Hasil data absorbansi sampel dicatat lalu dilakukan perhitungan kadar SGOT dari sampel serum yang diperiksa.

INTERPRETASI HASIL

1. Dengan aktivasi pyridoxal - S- phosphate

- a. Wanita dewasa : < 31 U/L
- b. Laki-laki dewasa : < 35 U/L
- c. Anak-anak
 - 1 –3 Tahun : < 50 U/L
 - 4 –6 tahun : < 45 U/L
 - 7 –9 tahun : < 40 U/L
 - 10 –12 tahun : < 40 U/L
 - 13 –15 tahun : < 35 U/L
 - 16 –18 tahun : < 35 U/L
 -

2. SGOT tanpa aktivasi pyridoxal –S –phosphate

- a. Wanita dewasa : < 31 U/L
- b. Laki-laki dewasa : < 35 U/L

MODUL 5

PEMERIKSAAN SGPT (SERUM GLUTAMIC-PYRUVIC TRANSAMINASE)

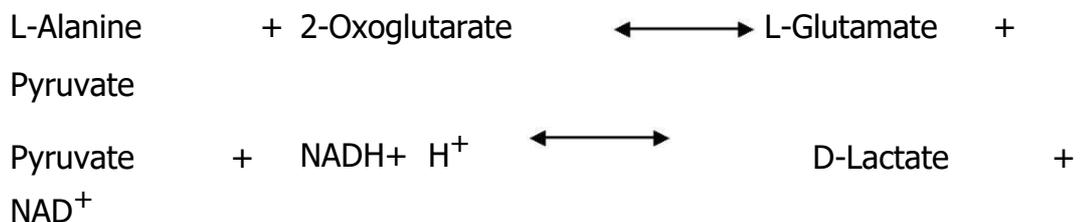
TUJUAN

1. Tujuan Umum
 - a. Mahasiswa mengetahui prinsip pemeriksaan SGPT/ALAT pada serum.
 - b. Mahasiswa mengetahui prosedur pemeriksaan SGPT/ALAT pada serum.
2. Tujuan Khusus
 - a. Mahasiswa mampu melakukan pemeriksaan SGPT/ALAT pada serum.
 - b. Mahasiswa dapat mengetahui kadar SGPT/ALAT pada serum sampel.

METODE

Uji UV menurut IFCC (Internasional Federasi dari Kimia Klinik dan Laboratorium Kesehatan).

PRINSIP



Penambahan Pyridoxal-5-phosphate (P-5-P) menstabilkan aktivitas transaminase dan menghindari nilai-nilai palsu rendah dalam sampel mengandung P-5-P, e.g endogen cukup, misalnya dari pasien dengan infark miokard, penyakit hati, dan pasien perawatan intensif.

ALAT DAN BAHAN

Alat:

- Tabung reaksi
- Rak tabung
- Mikropipet
- Tip
- Spektrofotometer
- Tempat limbah (ember)

Bahan:

- Sampel serum (Ni Made Meita Suari, 23 tahun)
- Reagen 1
 - TRIS pH 7,15 140 mmol/L
 - L-Alanie 700 mmol/L
 - LDH (Lactate dehydrogenase) 2300 U/L
- Reagen 2
 - 2-oxoglutarate 85 mmol/L
 - NADH 1 mmol/L
 - Pyridoxal-5-Phosphate FS Buffer pH 9,6 100 mmol/L
 - Pyridoxal-5-phosphate 13 mmol/L

CARA KERJA

Pembuatan monoreagen

Dipipet 20ml Reagen 1 (4 bagian R1) dan dipipet 5ml Reagen 2 (1 bagian R2), dihomogenkan dan ditempatkan dalam botol reagen.

Pemeriksaan SGPT

1. Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap.
2. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
3. Dipipet 500µl monoreagen, ditempatkan pada tabung reaksi.

4. Dipipet 50µl sampel, dicampurkan dengan reagen yang telah dipipet sebelumnya.
5. Dihomogenkan dan dibaca absorbansinya pada spektrofotometer kurang dari 1 menit.

NILAI NORMAL

Laki-laki : 0 - 50 IU/L

Perempuan : 0 - 35 IU/L

MODUL 6

PEMERIKSAAN BILIRUBIN TOTAL

TUJUAN

1. Tujuan Umum

Mahasiswa dapat memahami cara pemeriksaan bilirubin total direct dan indirect.

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk dapat melakukan pemeriksaan bilirubin total direct dan indirect.
- b. Untuk dapat mengetahui kadar pemeriksaan bilirubin total direct dan indirect pada suatu sampel serum.

METODE

Uji fotometri menggunakan 2,4 dicloroaniline (DCA)

PRINSIP

Prinsip bilirubin direct adalah bilirubin direct dihadapkan pada bentuk diazotisasi 2,4 dicloroaniline membentuk warna merah yang bercampur dalam asam sedangkan bilirubin total yaitu dihadapkan bentuk diazotasi 2,4 dikloroaniline menyediakan penentuan yang aman dari bilirubin total.

ALAT DAN BAHAN

Alat:

- mikropipet
- tip
- tabung reaksi
- rak tabung reaksi
- spektrofotometer

Bahan :

- serum
- aquades
- tissue

CARA KERJA

Bilirubin Total

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Di buat formula pada masing –masing tabung dengan rincian sebagai berikut.

	Blanko	kalibrator	Sampel
Sampel	-	25µl	25µl
Aquades	25µl	-	-
Reagen 1	1000µl	1000µl	1000µl

3. Dihomogenkan kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37° C atau 10 menit pada suhu 20-25 ° C.
4. Di baca absorbansi A1 lalu ditambahkan reagen 2 (blanko, kalibrator maupun sampel masing-masing 250 µl).
5. Dihomogenkan kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37° C atau 30 menit pada suhu 20-25 ° C.
6. Di baca absorbansi A2 nya

Bilirubin Direct

1. Di buat formula pada masing –masing tabung dengan rincian sebagai berikut.

	Blanko	kalibrator	sampel
Sampel		100µl	100µl
Aquadest	50µl	-	-
Reagen 1	1000µl	1000µl	1000µl

2. Dihomogenkan kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37° C atau 30 menit pada suhu 20-25 ° C.
3. Dibaca konsentrasinya pada spektrofotometer.

INTERPRETASI HASIL

Kategori	Total	Kadar Bilirubin	
		Direct	Indirect
Dewasa	0,1-1,2	0,1-0,3	0,1-1,0
Anak-anak	0,2-0,8	-	0,1-1,0
Bayi baru lahir	1,0-1,2	-	0,1-1,0

MODUL 7

PEMERIKSAAN CREATININ

TUJUAN

1. Tujuan Instruksional Umum
Mahasiswa dapat mengetahui cara pemeriksaan kadar kreatinin dalam serum.
2. Tujuan Instruksional Khusus
 - a. Mahasiswa dapat melakukan pemeriksaan kadar kreatinin dalam sampel serum dengan metode Jaffe.
 - b. Mahasiswa dapat mengetahui kadar kreatinin dalam sampel serum
 - c. Mahasiswa dapat menginterpretasikan hasil pemeriksaan.

METODE

Metode yang digunakan adalah metode *jaffe reaction*

PRINSIP

Kreatinin akan bereaksi dengan asam pikrat dalam suasana alkali membentuk senyawa kompleks yang berwarna kuning jingga. Intensitas warna yang terbentuk setara dengan kadar kreatinin dalam sampel, yang diukur dengan Fotometer dengan panjang gelombang 490 nm.

ALAT DAN BAHAN

Alat :

- Spektrofotometer
- Tabung reaksi dan rak tabung
- Tip
- Mikropipet 10 ul dan 1000 ul
- Beaker glass

Bahan :

- Tissue
- Sampel Serum
- Reagen Kreatinin : R1 : Natrium hidroksida 0,2 mol/L
R2 : Asam pikrat 20 mmol/L
- Standart kreatinin 2 mg/dL
- Aquades

CARA KERJA

1. Disiapkan alat dan bahan yang digunakan serta dikondisikan dalam suhu ruang.
2. Disiapkan 3 buah tabung reaksi yang telah diberi label blanko ,standar, test.
3. Dipipet masing-masing ke dalam tabung :

	Blanko	Standar	Sampel
Aquadest	25µl	-	-
Standar	-	25 µl	-
Sampel	-	-	25 µl
Monoreagent	500 j	500µl	500µl

4. Campuran dihomogenkan, lalu diinkubasi selama 1 menit.
5. Lalu absorbansi larutan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm.
6. Absorbansi dicatat, lalu dihitung kadar kreatinin pada sampel.

INTERPRETASI HASIL

Nilai kreatinin normal pada metode jaffe reaction adalah:

Laki-laki : 0,6 - 1,1 mg / dL

Wanita : 0,5 - 1,9 mg / dL

MODUL 8

UJI SENYAWA PROTEIN

A. Tujuan Praktikum

- a. Mahasiswa memahami konsep dasar reaksi biokimia dalam tubuh
- b. Menunjukkan adanya asam amino tirosin
- c. Menentukan adanya protein dalam suatu larutan uji

B. Dasar Teori

Protein berasal dari kata protos atau proteos yang berarti pertama atau utama. Protein dalam sel berfungsi sebagai zat utama dalam pembentukan dan pertumbuhan tubuh, juga dapat digunakan sebagai sumber energi jika tubuh kekurangan karbohidrat dan lemak. Melalui hidrolisis oleh asam atau enzim, protein akan menghasilkan asam amino.

Berdasarkan strukturnya, protein digolongkan menjadi protein sederhana dan protein gabungan. Protein sederhana, hanya terdiri atas molekul sederhana (misalnya protein fiber dan protein globular), sedangkan protein gabungan terdiri atas protein dan gugus prostetik dan terdiri atas karbohidrat, lemak, atau asam nukleat.

Protein mempunyai arti bagi tubuh apabila protein tersebut dapat melakukan aktivitas biokimia yang menunjang kebutuhan tubuh. Aktivitas ini tergantung pada struktur dan konformasi molekul protein. Jika konformasi protein berubah, misalnya oleh perubahan suhu, pH, atau adanya reaksi dengan senyawa lain, ion logam, maka aktivitas biokimia dari protein tersebut akan berkurang atau bahkan rusak yang dikenal dengan istilah denaturasi. Denaturasi berasal dari kata "de" yang berarti "keluar" dan "natural" yang berarti "alami". Jadi denaturasi adalah keluar dari sifat aslinya akibat perusakan oleh berbagai faktor.

Kerusakan yang paling mendasar pada denaturasi protein terletak pada struktur kimianya, bukan struktur primernya yang berupa ikatan peptida. Akibat kerusakan pada struktur kimianya, protein akan kehilangan sifat fisik dan faalnya yang asli. Terjadinya perubahan faal protein dapat menghilangkan sifat alami seperti sifat enzim dan antibodi. Enzim yang mengalami denaturasi akan kehilangan sifat biokatalis dan hormon protein akan kehilangan fungsi regulatornya terhadap metabolisme tubuh. Antibody akan kehilangan fungsi aglutinasinya terhadap antigen lawan.

Protein yang mengalami denaturasi pada akhirnya akan mengalami perubahan sifat fisik seperti ukuran molekul, kelarutan, atau konsistensinya. Faktor yang dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein terdiri dari faktor kimia dan fisika. Faktor kimia berupa adanya bahan kimia yang mengganggu muatan protein sehingga menyebabkan rusaknya ikatan kimia protein. Faktor ini dapat berupa asam, basa, garam anorganik, logam berat, *dehydrating agent* (seperti alkohol), urea, dan pelarut organik. Sedangkan faktor fisika terdiri dari suhu, sinar uv, tekanan, faktor mekanis seperti pengocokan dan sebagainya.

C. Prinsip Percobaan

a. Uji Millon

Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih yang akan berubah menjadi warna merah bila dipanaskan

b. Uji Biuret

Uji biuret digunakan untuk menunjukkan adanya ikatan peptida dalam suatu polipeptida. Reaksi positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi biru, ungu, atau kemerah-merahan pada larutan.

D. Alat dan Bahan

Alat	Bahan
1. Pipet tetes	1. Pepton 1%
2. Pipet ukur	2. Larutan putih telur 1%
3. Tabung reaksi	3. Reagen millon
4. Rak tabung	4. Larutan NaOH 2N
5. Lampu spirtus	5. CuSO ₄ 0,1N

E. Prosedur Kerja

Uji Millon

- Ke dalam tiap tabung reaksi dimasukkan 1 jenis protein sebanyak 3ml dan 5 tetes pereaksi millon. Campur sampai homogen
- Larutan dipanaskan dengan hati-hati, dan amati perubahan warna yang terjadi

Uji Biuret

1. Ke dalam 2 buah tabung reaksi bersih dimasukkan 2 ml NaOH dan 2 tetes CuSO₄, campur sampai homogen.
2. Ke dalam masing-masing tabung, tambahkan 1 jenis protein sebanyak 1 ml. campur sampai homogen.
3. Amati perubahan warna yang terjadi.

Uji Ninhidrin

1. Ke dalam 0,1 ml larutan 2% albumin (putih telur) tambahkan 1 ml 0,1N larutan buffer asetat pH 5 dan kemudian tambahkan 20 tetes larutan ninhidrin dalam aseton
2. Panaskan campuran tersebut diatas penangas air mendidih selama beberapa menit, perhatikan warna yang terjadi

Pengendapan dengan logam berat

1. Ke dalam 1 ml larutan albumin (putih telur) tambahkan tetes demi tetes 0,2% larutan CuSO₄ hingga terjadi endapan. Perhatikan perubahan yang terjadi pada setiap kali penetesan. Perhatikan pula apakah endapan terbentuk, dan apakah endapan yang terbentuk larut kembali atau tambahkan dengan penambahan reagen yang berlebih
2. Ulangi setiap tahap (1) untuk larutan 2% Pb-asetat, 2% HgCl₂, 2% FeCl₃, dan 2% CuSO₄

Titik Isoelektrik Protein

1. Kedalam 5 tabung reaksi masing-masing tambahkan 5 ml larutan 0,5% kasein (air susu). Selanjutnya pada kelima tabung tersebut tambahkan masing-masing buffer asetat pH 6,0;5,3;5,0;4,1; dan 3,8
2. Kocok campuran baik-baik serta catat derajat kekeruhan setelah : 0 menit, 10 menit, dan 30 menit.
3. Setelah 30 menit kelima tabung diatas dipanaskan dalam –enangas air mendidih selama 30 menit. Pembentukan endapan/kekeruhan paling cepat terjadi dekat titik isoelektrik larutan protein. Perhatikan apa yang terjadi dan catat.

F. Evaluasi

- a. Apakah uji biuret dapat dilakukan untuk menguji semua jenis protein?
- b. Asam amino tirosin termasuk ke dalam jenis asam amino esensial ataukah non esensial? Jelaskan perbedaannya!

G. Referensi

- a. Poedjiadi, Supriyanti, Dasar-Dasar Biokimia, 2005, UI Press, Jakarta
- b. Murray, Granner, Mayes, Rodwell, Biokimia Harper, 1997, EGC, Jakarta
- c. Linder, Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan pemakaian secara klinis, 2006, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta

PEMERIKSAAN TOTAL PROTEIN

TUJUAN

1. Tujuan Umum
 - a. Mahasiswa dapat mengetahui cara pemeriksaan total protein pada sampel serum secara fotometri.
 - b. Mahasiswa dapat menjelaskan cara pemeriksaan total protein pada sampel serum secara fotometri.
2. Tujuan Khusus
 - a. Mahasiswa dapat melakukan pemeriksaan total protein pada sampel serum.
 - b. Mahasiswa dapat menentukan kadar total protein pada sampel serum.

METODE

Tes fotometri berdasarkan metode biuret

PRINSIP

Bersama dengan ion tembaga, protein membentuk kompleks warna biru violet dalam larutan alkali. Absorbansi warna berbanding lurus dengan konsentrasi.

ALAT DAN BAHAN

Alat:

- Mikropipet
- Tissue
- Aquadest
- Tabung reaksi
- Spektrofotometer
- Beaker Glass
- Botol semprot
- Blue Tip dan Yellow Tip
- Mikropipet

Bahan:

- Monoreagen(1:4) R1:R2
- Aquadest
- Standar
- Reagen tdd: **R1** : Sodium hidroksida 100mmol/L
Potassium sodium tartrat 17mmol/L
R2 : Sodium hidroksida 500mmol/L
Potassium sodium tartrat 80mmol/L
Potassium iodide 75mmol/L
Tembaga sulfat 20mmol/L

CARA KERJA

1. Digunakan APD dengan baik, benar dan lengkap
2. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
3. Dipastikan semua alat dan bahan siap untuk digunakan
4. Disiapkan tiga buah tabung reaksi, masing-masing diisi label dengan standar, blanko dan sampel
5. Dipipet masing-masing 500 μ L monoreagen kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing tiga tabung reaksi
6. Dipipet 10 μ L aquadest dan dimasukkan pada tabung blanko
7. Dipipet 10 μ L standar reagen dan dimasukkan pada tabung standar
8. Dipipet 10 μ L sampel serum dan dimasukkan pada tabung sampel
9. Dihomogenkan dan diinkubasi selama 5 menit , pada suhu 20-25°C / 37°C dan dibaca absorbansi tidak lebih dari 60 menit.
10. Dibaca absorbansi sampel pada panjang gelombang 546 nm
11. Diinterpretasikan hasil pemeriksaan total protein yang didapat

INTERPRETASI HASIL

Dewasa: 6.6-8.8 g/dl

Anak-anak	Perempuan	Laki-laki
1-30 hari	4.2 - 6.2 g/dl	4.1 - 6.3 g/dl
1-6 bulan	4.4 - 6.6 g/dl	4.7 - 6.7 g/dl
6 bulan-1 tahun	5.6 - 7.9 g/dl	5.5 - 7.0 g/dl
1-18 tahun	5.7 -8.0 g/dl	5.7 -8.0 g/dl

PEMERIKSAAN ALBUMIN

TUJUAN

1. Untuk mengetahui pemeriksaan albumin dalam serum yang diperiksa
2. Untuk mengetahui kadar albumin serum yang diperiksa.

METODE

Metode yang digunakan adalah BCG (Bromocresol green)

PRINSIP

Dengan adanya BCG (Bromocresol green) pada pH yang sedikit asam, serum albumin memproduksi perubahan warna dari indikator kuning hijau menjadi hijau –biru yang absorbansinya diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 632 nm.

ALAT DAN BAHAN

Alat :

- Tabung serologi
- Kuvet
- Spektrofotometer
- Pipet ukur
- Ball pipet
- Mikropipet
- Tip
- Rak tabung serologi

Bahan:

- Reagen albumin
- Serum control
- Sampel serum
- Aquadest

CARA KERJA

1. Semua alat dan bahan disiapkan terlebih dahulu.
2. Reagen dan sampel dikondisikan pada suhu ruang.
3. Disiapkan 3 tabung serologi dan dilabeli blanko, standard an test.
4. Dipipet 2 mL reagen albumin dan dimasukkan pada ketiga tabung.
5. Pada tabung blanko ditambahkan 0,01 mL aquadest.
6. Pada tabung standar ditambahkan 0,01 mL serum standar.
7. Pada tabung sampel ditambahkan 0,01 m L sampel serum.
8. Masing – masing dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 632 nm.

NILAI NORMAL

3 –4,5 g % albumin

MODUL 9

ANALISIS ENZIM

A. Tujuan Praktikum

1. Mahasiswa memahami konsep dasar reaksi biokimia dalam tubuh
2. Mahasiswa memahami cara kerja enzim
3. Mahasiswa mengetahui pengaruh konsentrasi enzim, konsentrasi substrat serta pH terhadap aktivitas enzim amilase
4. Mahasiswa mengetahui pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim amilase
5. Mahasiswa mengetahui dan dapat menentukan besar suhu optimum yang mempengaruhi kerja enzim amilase.

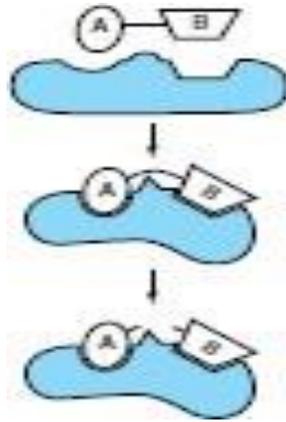
B. Dasar Teori

Enzim merupakan kelompok senyawa protein yang berfungsi sebagai katalis untuk proses biokimia yang terjadi baik di dalam maupun diluar sel. Enzim berfungsi sebagai biokatalisator yang mengatur kecepatan berlangsungnya proses fisiologis, sehingga memegang peranan penting dalam kesehatan. Enzim bersifat spesifik dan memiliki kekhasan yang tinggi. Satu molekul enzim hanya dapat bereaksi dengan satu jenis substrat. Selain itu enzim bersifat efisien dalam bereaksi, sehingga dapat menurunkan energi aktivasi. Karena enzim merupakan suatu protein maka sintesisnya dalam tubuh diatur dan dikendalikan oleh system genetic. Pada beberapa penyakit tertentu (terutama pada gangguan genetik yang menurun) bisa jadi terdapat kelebihan atau kekurangan, bahkan kehilangan satu atau lebih enzim pada jaringan tertentu.

Dalam reaksi enzimatik, molekul awal yang masuk ke dalam tubuh disebut dengan substrat, yang kemudian akan diubah oleh enzim menjadi senyawa lain yang berbeda yang dinamakan dengan produk, hampir seluruh proses yang berlangsung di dalam sel hidup memerlukan enzim dalam aktifitasnya. Namun karena enzim bersifat selektif terhadap substratnya dan hanya mampu melakukan sedikit reaksi dari sekian banyak kemungkinan yang ada, maka keberadaan enzim dalam suatu sel menentukan jalur metabolis yang terjadi dalam sel yang bersangkutan.

Aktifitas enzim yang spesifik disebut dengan model "key and lock" (kunci dan anak kunci), dimana satu jenis enzim hanya akan bereaksi dengan satu jenis substrat. Reaksi pengikatan substrat oleh enzim pun hanya terjadi di sisi aktif enzim saja, yang hanya merupakan bagian kecil dari molekul enzim itu

sendiri. Seperti halnya anak kunci yang hanya dapat bereaksi jika dipasangkan dengan lubang kunci yang sesuai. Jika anak kunci tersebut dipasangkan pada bagian pintu yang lain, maka anak kunci tidak akan dapat bereaksi. Model reaksi enzim terhadap substrat dapat dianalogikan sebagai berikut:



Gambar 1. Mekanisme Lock and Key

Dalam metabolisme tubuh, enzim berperan dalam menjaga keseimbangan tubuh (homeostasis). Adanya malfungsi berupa mutasi, produksi yang berlebihan atau kurang pada salah satu jenis enzim dapat menyebabkan timbulnya penyakit genetik. Misalnya mutasi yang terjadi pada salah satu asam amino pada fenil alanin hidroksilase yang mengkatalisis penyusunan fenil alanin dapat menyebabkan penyakit yang disebut dengan fenilketonuria, dimana pada tingkat kronis keadaan ini dapat menimbulkan degradasi mental.

Dalam aktifitasnya, ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kerja enzim, antara lain:

1. Konsentrasi enzim

Pada konsentrasi substrat tertentu yang tetap, kecepatan reaksi bertambah seiring dengan bertambahnya enzim.

2. Konsentrasi substrat

Penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Namun pada batas konsentrasi tertentu, bertambahnya konsentrasi substrat tidak akan menyebabkan kecepatan reaksi bertambah besar karena tempat aktif pada enzim telah jenuh oleh substrat.

3. Suhu

Karena enzim adalah suatu protein, maka kenaikan suhu dapat menyebabkan terjadinya denaturasi sehingga bagian aktif enzim terganggu dan menyebabkan kecepatan reaksi menurun. Namun kenaikan suhu sebelum terjadinya proses denaturasi dapat menaikkan kecepatan reaksi. Sebagian besar enzim tidak aktif jika dipanaskan sampai 60°C. Jika suhu diturunkan, aktifitas enzim akan kembali (reversible). Namun jika pemanasan terlalu tinggi, aktivitas enzim tidak akan kembali karena enzim mengalami koagulasi.

4. pH

struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungan, sehingga perubahannya dapat berpengaruh terhadap efektifitas enzim. Setiap jenis enzim memiliki pH tertentu (pH optimum) yang dapat menyebabkan kecepatan reaksi paling tinggi. Umumnya enzim tubuh memiliki aktifitas paling optimal pada pH 5-9. Akan tetapi ada beberapa enzim pencernaan yang aktifitas optimalnya berada pada pH asam atau basa. Misalnya pepsin dan rennin memiliki pH optimum 1-2 (asam), amilase saliva memiliki pH optimum 6-7 (tidak bekerja pada pH <4 atau >9), tripsin pada pH 7,7; katalase 7,6; ribonuklease 7,8, arginase 9,7.

5. Inhibitor (hambatan)

Umumnya semua enzim dapat dihambat aktivitasnya oleh senyawa kimia (termasuk obat-obatan yang digunakan dalam kedokteran). Adanya inhibitor dapat mempengaruhi aktivitas katalitik enzim menjadi berkurang atau bahkan rusak. Mekanisme kerja inhibitor ada yang bersifat kompetitif dan non kompetitif, artinya inhibitor tersebut bersifat berkompetisi dalam menempati sisi aktif enzim.

Dalam bidang industri, enzim telah dimanfaatkan secara luas. Misalnya enzim amilase yang terdapat dalam cairan pencuci piring berfungsi untuk mengangkat residua atau sisa-sisa makanan berupa karbohidrat yang menempel pada alat makan. Kemudian protease yang digunakan untuk mengangkat protein yang menempel pada lensa kontak untuk mencegah infeksi pada mata, serta enzim ligninase yang digunakan untuk mengangkat atau membersihkan kandungan lignin yang terdapat dalam limbah bahan bakar.

C. Prinsip Percobaan

1. Pengaruh konsentrasi enzim, substrat, dan pH terhadap aktivitas enzim amilase.

Terbentuknya kompleks biru tua antara amilum dan iodium. Amilum setelah dihidrolisa oleh amilase secara berturut-turut akan membentuk dekstrin dan oligosakarida dengan masing-masing tingkat kemampuan mengikat iodium yang berbeda.

Amilum → Amilodekstrin → Eritrodekstrin → Akrodekstrin → Maltosa
(Amil+I₂) (biru tua) (merah) (tak berwarna) (tak berwarna)

2. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim amilase

Kenaikan suhu sebelum terjadinya denaturasi dapat menaikkan kecepatan reaksi. Namun jika kenaikan suhu terjadi saat mulai terjadinya proses denaturasi akan mengurangi kecepatan reaksi. Karena ada dua pengaruh yang berlawanan, maka akan terjadi suatu titik optimum, yaitu suhu paling tepat bagi suatu reaksi. Pada umumnya enzim yang terdapat pada hewan memiliki suhu optimum antara 40°C -50°C, sedangkan pada tumbuhan antara 50°C -60°C. sebagian besar enzim terdenaturasi pada suhu diatas 60°C.

D. Alat dan Bahan

Alat	Bahan
1. Tabung reaksi	1. Larutan amilum 1%
2. Pipet ukur 1ml, 5ml	2. NaCl 1%
3. Thermometer air	3. HCl 1N
4. Stopwatch	4. NaOH 1N
5. Kulkas	5. Larutan iodium encer
6. Rak tabung	6. Air liur
7. Waskom	7. Air es
8. Beaker glass	8. akuades
9. Corong	
10. Kaki tiga	
11. Kawat kasa	

E. Prosedur Kerja

1. Siapkan 5 buah tabung reaksi, masing-masing diisi dengan 3ml larutan amilum 1%
2. Pada tabung 1, masukkan 1ml NaCl 1% dan 1 ml air liur
3. Pada tabung 2 dan 3, masukkan 1 ml NaOH 1N dan 1 ml air liur
4. Pada tabung 4, masukkan 1 ml HCl 1N dan 1 ml air liur
5. Pada tabung 5, masukkan 1 ml akuades dan 1 ml air liur
6. Tabung 1, 2, 4, dan 5 diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit

7. Tabung 3 diinkubasi dalam kulkas selama 10 menit
8. Setelah semua tabung diinkubasi, tambahkan 3 tetes iodium dan perhatikan perubahan warna yang terjadi.

F. Evaluasi

1. Berdasarkan hasil pengamatan saudara, berapa besar suhu optimum yang memungkinkan enzim amilase dapat bekerja efektif?
2. Pada menit berapa terjadi titik akromatis? Faktor yang menyebabkan hal tersebut?
3. Bagaimana hubungan antara kenaikan dan penurunan suhu lingkungan terhadap aktivitas enzim?

G. Referensi

- a. Poedjiadi, Supriyanti, Dasar-Dasar Biokimia, 2005, UI Press, Jakarta
- b. Murray, Granner, Mayes, Rodwell, Biokimia Harper, 1997, EGC, Jakarta
- c. Sadikin, Biokimia Enzim, 2002, Widya Medika, Jakarta.
- d. Linder, Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan pemakaian secara klinis, 2006, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.

MODUL 10

DARAH: PEMERIKSAAN HEMOGLOBIN

A. Tujuan Praktikum

Menentukan kadar hemoglobin dalam darah

B. Dasar Teori

Dalam keadaan normal, sel darah memiliki bentuk bikonkaf. Namun dalam keadaan tertentu sel darah merah juga dapat berbentuk bola sempurna (sferositosis) atau berbentuk seperti telur (ovalositosis). Dalam bentuk normalnya, sel darah merah ini bersifat semi permeable, dimana saat harus melalui pembuluh kapiler yang memiliki diameter lebih kecil dibanding diameter sel darah itu sendiri, maka sel darah merah akan mengambil bentuk lain sedemikian rupa sehingga diameternya menjadi lebih kecil daripada kapiler. Sedangkan dalam bentuk sferositosis atau ovalositosis, sifat permeable ini tidak dimiliki, sehingga banyak sel darah merah yang mengalami kerusakan atau pecah saat harus melalui kapiler yang ukurannya kecil. Keadaan ini disebut dengan hemolisis intravaskuler. Akibatnya, seseorang yang mengalami keadaan tersebut akan mengalami kekurangan darah (anemia).

Fungsi pengangkutan oksigen untuk didarkan ke seluruh sel dalam rangka memperoleh energi dilakukan oleh hemoglobin yang terkandung dalam sel darah merah. Hemoglobin merupakan protein yang kompleks, tersusun dari protein globin dan senyawa bukan protein yang disebut dengan Heme. Heme merupakan senyawa bernama porforon yang bagian pusatnya ditempati oleh logam besi (Fe). Satu molekul hem mengandung satu atom besi, dan satu protein globin hanya mengikat satu molekul hem. Namun demikian satu molekul hemoglobin terdiri dari 4 buah kompleks molekul globin dan hem, sehingga dalam satu molekul hemoglobin mengandung 4 atom besi. Dalam rumus kimia dituliskan sebagai $Hb(Fe)_4$.

Dalam hemoglobin, senyawa besi yang menjalankan fungsi pengikatan dan pelepasan oksigen. Sehingga apabila dalam tubuh terjadi penurunan kadar Fe akan mengakibatkan penurunan kadar hemoglobin, sehingga jumlah oksigen yang dibawa pun berkurang. Hal ini menimbulkan keadaan anemia.

Gejala umum anemia dapat dilihat dari wajah penderita yang tampak pucat, selaput lendir pada bagian mulut dan bagian dalam konjungtiva mata tampak pucat, selain itu penderita akan mengalami

mudah lelah. Anemia yang tidak teratasi dalam jangka waktu lama akan mengganggu kinerja berbagai organ karena kekurangan oksigen sebagai salah satu precursor (bahan baku) untuk menghasilkan energi. Bahkan lebih jauh lagi dapat mengganggu fungsi susunan saraf pusat sehingga mempengaruhi kemampuan intelegensi. Jika terjadi pada anak-anak, akan mengganggu proses tumbuh kembangnya.

C. Prinsip Percobaan

Kadar Hb normal pada wanita dewasa adalah 13-14,5 gr/100ml, pada pria dewasa 15-16 gr/100ml, pada anak-anak 20gr/100ml, pada remaja 18gr/100ml

D. Alat dan bahan

Alat	Bahan
1. Lancing device	1. needle lancet
2. Haemometer sahli	2. alkohol swab
3. Bengkok	3. HCl 0,1N
	4. Klorin
	5. Akuades
	6. Hand scoend

E. Prosedur kerja

Metode Sahli

1. Isilah tabung pengencer (tabung sahli) dengan HCl 0,1N sebanyak 20mm³
2. Desinfeksi ujung jari yang akan diambil darahnya dengan menggunakan alkohol swab
3. Tusuk ujung jari tersebut dan biarkan darah keluar terlebih dahulu. Setelah itu hisap darah yang keluar dengan menggunakan pipet kapiler sampai batas bertanda biru pada pipet atau sebanyak 20mm³
4. Pindahkan darah tersebut ke dalam tabung yang telah diisi HCl secara perlahan dan jaga agar tidak terjadi gelembung
5. Bilaslah pipet beberapa kali dengan HCl dalam tabung pengencer hingga tidak ada darah yang tertinggal
6. Jika sudah tidak ada darah yang tertinggal dalam pipet, segera cuci pipet tersebut dengan menggunakan larutan klorin, dengan cara menghisap larutan klorin lalu dikeluarkan kembali selama beberapa kali untuk mencegah agar pipet tidak tersumbat.

7. Encerkan sampel darah tersebut dengan meneteskan akuades sambil dikocok secara perlahan dengan menggunakan pengaduk gelas sampai warna darah dalam tabung sama dengan warna cairan pada tabung standar.
8. Setelah warna sampel darah sama dengan warna standar, bacalah skala yang ditunjukkan pada tabung pengencer sehingga didapatkan konsentrasi hemoglobin dari sampel darah yang diambil.

Metode Kertas

1. Desinfeksi ujung jari yang akan diambil darahnya dengan menggunakan alkohol swab
2. Tusuk ujung jari tersebut dan biarkan darah keluar terlebih dahulu
3. Tempelkan kertas pengukur pada darah, lalu biarkan kering sesaat (± 3 detik)
4. Cocokkan warna pada kertas pengukur dengan warna standar yang ada di bagian belakang buku Hemoglobin.
5. Kadar yang terukur dalam satuan puluhan pada metode ini dapat dikonversi menjadi satuan belasan dengan membandingkan pada tabung skala hemoglobin dengan metode sahli.

F. Evaluasi

1. Hasil pengamatan hemoglobin darah:
Probandus :
Usia :
Jenis Kelamin :
Kadar Hb :
2. Apakah kadar Hb dari probandus tersebut normal/tidak? Mengapa!
3. Apa yang dapat mempengaruhi kadar Hb dalam darah dan bagaimana apabila kadar Hb seseorang jauh di bawah normal?

G. Referensi

- a. Poedjiadi, Supriyanti, Dasar-Dasar Biokimia, 2005, UI Press, Jakarta
- b. Murray, Granner, Mayes, Rodwell, Biokimia Harper, 1997, EGC, Jakarta
- c. Sadikin, Biokimia Darah, 2002, Widya Medika, Jakarta.

