

# **PENUNTUN PRAKTIKUM BIOKIMIA**



Disusun Oleh :  
apt, Dwisari Dillasamola, M.Farm  
Prof, Dr, apt, Dian Handayani  
Prof, Dr, apt, Fatma Sri Wahyuni  
apt, Rahmad Abdillah, M.Si

|          |  |
|----------|--|
| NAMA     |  |
| NO BP    |  |
| SHIFT    |  |
| KELOMPOK |  |



**LABORATORIUM BIOKIMIA  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2020**

## **KATA PENGANTAR**

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, sehingga Penuntun Pratikum Biokimia ini dapat kami wujudkan dan selesai tepat pada waktunya. Pembuatan Penuntun Pratikum ini bertujuan untuk membantu mahasiswa dalam melaksanakan praktikum Biokimia di Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

Materi yang dipratikumkan tentang : Pemeriksaan urin secara makroskopis, mikroskopis, dan sedimen urin; Analisa karbohidrat (pemeriksaan urin terhadap glukosa) dan analisa protein (pemeriksaan urin terhadap protein); Pemeriksaan urin atas indikasi bilirubin, urobilin, urobilinogen; Pemeriksaan Haemoglobin; pemeriksaan protein plasma; pemeriksaan gula darah (Diabetes Melitus) dan kreatinin (gangguan fungsi ginjal); pemeriksaan kolesterol (Hiperlipidemia); pemeriksaan SGPT dan SGOT (gangguan fungsi hati). Penuntun pratikum ini juga berisikan lembar kerja percobaan praktikum yang harus dilengkapi mahasiswa setelah melakukan praktikum.

Dalam penyusunan Penuntun Praktikum ini masih terdapat kekurangan, oleh karena itu kami mengharapkan kritik serta saran demi kesempurnaan diktat ini. Semoga Penuntun Pratikum ini ada manfaatnya bagi para pembaca khususnya mahasiswa dalam melaksanakan praktikum Biokimia. Kepada semua pihak yang telah membantu tersusunnya Penuntun Pratikum ini kami ucapkan terima kasih.

Padang, Mei 2020

Penyusun

## Lembar Pengesahan

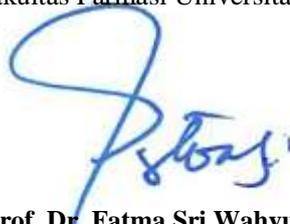
Penuntun Praktikum Biokimia ini, telah di sahkan dan disetujui pada :

Hari : Senin

Tanggal : 1 Juni 2020

Disetujui oleh :

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas



**Prof. Dr. Fatma Sri Wahyuni, Apt**  
NIP 197404132006042001

## JADWAL PRATIKUM BIOKIMIA

| <b>Waktu</b> | <b>Kegiatan Dan Judul Percobaan</b>   |
|--------------|---|
| Minggu ke-1  | Asistensi penjelasan awal pratikum Biokimia   |
| Minggu ke-2  | Pemeriksaan urin secara makroskopis, mikroskopis, dan sedimen urin  |
| Minggu ke-3  | Analisa karbohidrat (pemeriksaan urin terhadap glukosa) dan analisa protein (pemeriksaan urin terhadap protein) |
| Minggu ke-4  | Pemeriksaan urin atas indikasi bilirubin, urobilin, urobilinogen  |
| Minggu ke-5  | Pemeriksaan Haemoglobin   |
| Minggu ke-6  | Pemeriksaan protein plasma  |
| Minggu ke-7  | Pemeriksaan gula darah (Diabetes Melitus) dan kreatinin (gangguan fungsi ginjal)                                |
| Minggu ke-8  | Pemeriksaan kolesterol (Hiperlipidemia)   |
| Minggu ke-9  | Pemeriksaan SGPT dan SGOT (gangguan fungsi hati)  |
| Minggu ke-10 | Ujian Akhir Pratikum  |

## **TATA TERTIB PRATIUM**

1. Pembagian grup : satu shift praktikan dibagi menjadi beberapa kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5-6 praktikan.
2. Tata Tertib Laboratorium :
  - a. Praktikan diharuskan memakai jas laboratorium, handscoon dan masker
  - b. Setiap praktikan harus membawa peralatan pratikum.
  - c. Membawa peralatan khusus untuk pembersihan yaitu lap bersih atatu tisu gulung.
  - d. Kehadiran 100%, apabila berhalangan harus ada keterangan resmi.
  - e. Tidak diperbolehkan meninggalkan ruangan selama pratikum.
  - f. Tidak diperbolehkan menggunakan alat komunikasi (HP) selama pratikum, kecuali satu HP per kelompok untuk dokumentasi
  - g. Tidak diperbolehkan pindah grup atau pindah kelompok .
2. Disiplin kerja :
  - a. Sebelum pratikum dimulai, semua praktikan harus memeriksa kelengkapan alat masing-masing dan bila ada kekurangan, pecah, kotor dan sebagainya segera melaporkan kepada asisten
  - b. Sebelum pratikum dimulai diberikan responsi mengenai materi yang akan dipratikumkan
  - c. Tidak diperbolehkan melakukan kecurangan selama responsi.
  - d. Selesai pratikum semua sampah dibuang ke tempat yang telah disediakan .
  - e. Setiap grup harus ada yang piket untuk memeriksa kelengkapan dan kebersihan laboratorium.
  - f. Selesai pratikum semua peralatan laboratorium yang dipakai harus dikembalikan ke tempat semula dalam keadaan bersih.
3. Yang tidak mengindahkan tata tertib laboratorium akan diskor atau sangsi-sangsi lain sesuai dengan pelanggaran yang dibuat.
4. Tugas praktikan :

- a. Setiap praktikan wajib mengerjakan laporan awal sebelum praktikum dimulai, lembar kerja percobaan selama praktikum, dan laporan akhir setelah praktikum sesuai ketentuan yang berlaku.
- b. Setiap kelompok diharuskan membuat mindmap materi yang akan dipraktikkan untuk dijelaskan sebelum praktikum dimulai.

## DAFTAR ISI

|   | <b>Halaman</b> |
|---|----------------|
| Kata Pengantar .....  | 2              |
| Jadwal Pratikum Biokimia .....  | 3              |
| Tata Tertib Pratikum .....  | 5              |
| Daftar Isi.....   | 7              |
| Pemeriksaan Urine Secara Makroskopis Dan Sedimen Urin .....                             | 8              |
| Pemeriksaan Urine Terhadap Glukosa Dan Protein .....                                    | 24             |
| Pemeriksaan Urine Atas Indikasi Bilirubin, Urobilin Dan Urobilinogen .....              | 32             |
| Pemeriksaan Hemoglobin Darah .....  | 44             |
| Pemeriksaan Protein Plasma .....  | 50             |
| Pemeriksaan Gula Darah (Diabetes Mellitus) Dan Kreatinin (Gangguan Fungsi Ginjal) ..... | 56             |
| Pemeriksaan Kolesterol Darah (Hiperlipidemia) .....                                     | 67             |
| Pemeriksaan Transaminase Serum (Gangguan Fungsi Hati) .....                             | 75             |

## **PEMERIKSAAN URINE SECARA MAKROSKOPIS DAN SEDIMEN URIN**

### **A. PEMERIKSAAN URINE SECARA MAKROSKOPIS**

#### **I. TUJUAN**

Mahasiswa mengetahui volume, warna, kekeruhan, keasaman/reaksi, berat jenis dan bau dari urine.

#### **II. PRINSIP**

Adanya kelainan pada ginjal dapat diketahui dengan melakukan pemeriksaan urin secara makroskopis

#### **III. TEORI**

##### **a. Volume**

- Volume urine normal orang dewasa 800-1600 mL/24 jam tergantung dari pemasukan cairan, penguapan dan sebagainya
- Volume urin siang hari biasanya 3-4 kali volume malam hari
- Peningkatan jumlah urin ( poliuri) ditemukan pada penderita Diabetes mellitus ( DM), Diabetes Insipidus, nefritis kronis, pada saat penyembuhan edema dan penyembuhan dari febris acuta
- Pengurangan jumlah urin ( oliguria) ditemukan pada nefritis akut, eklampsia, diare berat, muntah-muntah hebat, terlalu banyak keluar keringat, dan demam
- Anuria ( tidak terbentuk urin) terjadi pada kolaps dengan tekanan darah sistolik ( 70 mmHg), nefritis akut yang berat dan keracunan HgCl<sub>2</sub>

##### **b. Warna**

- Warna urin normal adalah kuning muda, hal ini disebabkan karena adanya pigmen dalam urin ( Urokrom dan Urobilin)
- Faktor yang mempengaruhi warna urin :
  - a. Konsentrasi urine; makin tinggi konsentrasi, warna urin makin pekat/ gelap
  - b. Keasaman urin ; makin alkalis, warna urine makin gelap

- c. Adanya pengaruh pigmen-pigmen dan pengaruh obat-obatan
  - Darah, menyebabkan urine berwarna merah, coklat, keruh( berawan)
  - Bilirubin, menyebabkan urine berwarna kuning tua, coklat kehijauan
  - Fenol, salisilat dan resorsinol menyebabkan urine berwarna hijau gelap
  - Antipirin menyebabkan urine berwarna kuning hitam
  - Phenacetin, menyebabkan urine berwarna kuning

c. Kekeruhan

Urine normal biasanya jernih, dapat menjadi keruh karena:

1. Fosfat dan nanah

Kekeruhan putih dan tebal dalam urine alkalis atau netral disebabkan karena fosfat/karbonat atau pus/nanah. Fosfat/carbonat menghilang pada penambahan asam cuka 6% ( karbonat akan timbul gas), sedangkan pada pus/nanah tidak hilang pada penambahan asam

2. Darah

Darah menyebabkan urine merah keruh, pada pemeriksaan sedimen ditemukan erythrocyte

3. Bakteri

Biasanya kekeruhan merata, bakteri dapat dilihat dalam sedimen dengan pewarnaan Gram

4. spermatozoa

d. Keasaman/reaksi

- Urine normal pH 4,7-7,5 dengan rata-rata 6
- Untuk memeriksa pH urine dipakai kertas lakmus merah dan lakmus biru
- Bila lakmus biru dicelupkan dalam urin berubah menjadi merah, berarti urin asam
- Bila lakmus merah dicelupkan ke urin berubah warna jadi biru, berarti urin basa/alkalis

- Bila kertas lakmus merah dan biru dicelupkan ke dalam urine kedua-duanya tidak berubah warna, berarti urin netral
- pH diukur dengan kertas pH netrazin, caranya kita ambil sedikit kertas, celupkan dalam urine dan warnanya dirujuk pada standar
- pemeriksaan keasaman urine harus selalu dilakukan, karena:
  - a. pemeriksaan protein harus dilakukan dengan urin yang asam
  - b. interpretasi hasil pemeriksaan urine lebih mudah, bila kita mengetahui reaksi dan berat jenisnya

e. Berat jenis

- Dipakai urinometer yang kecil, dengan skala 1000-1040, yang selalu dikalibrasikan pada temperature 15°C
- Normal BJ uribe sewaktu adalah 1.002-1.030, sedangkan urin 24 jam adalah 1.015-1.025
- Hasil pemeriksaan BJ harus dikoreksi terhadap :
  - a. Suhu ruang
    - Per 3°C di atas 15°C                      » hasil ditambah 1(0.001)
    - Per 3°C di bawah 15°C    » hasil dikurang 1(0.001)
  - b. Kadar gula
    - Per 1% glukosa    » hasil dikurangi 4 (0.004)
  - c. Kadar protein
    - Per 1% protein                      » hasil dikurangi 3 (0.003)

**Contoh :**

Pada penetapan BJ urine yang mempunyai kadar glukosa 1% dan kadar protein 1%, didapatkan hasil BJ adalah 1010 pada suhu ruangan 18°C!

Maka nilai BJ yang sebenarnya dari urine tersebut adalah :

$$1010 + 1 - 4 - 3 = 1004$$

Bila jumlah urine tidak cukup untuk pemeriksaan berat jenis makan tambahkan air dengan jumlah yang sama dan hasil pemeriksaan dikalikan dua terhadap tiga angka dibelakang koma.

### **Arti klinis pemeriksaan berat jenis urine:**

- a. Membantu mendiagnosa glikosuri pada penderita koma, penderita koma diabetika didapati urine yang sangat jernih tetapi mempunyai berat jenis yang tinggi
- b. Untuk mengetahui faal ginjal, melalui percobaan konsentrasi menurut Fishberg:
  - Penderita tidak dibolehkan minum lagi setelah jam 18.00
  - Tidak boleh makan bahan makanan yang mengandung air
  - Boleh kencing sewaktu-waktu
  - Yang diperiksa adalah urin pagi.
    - ✓ Bila BJ urin  $> 1020$  artinya faal ginjal sangat baik
    - ✓ Bila BJ urin  $< 1020$ , ada beberapa kemungkinan
      1. Ada gangguan faal ginjal akibat penyakit primer dari ginjal ( Glomerulonefritis)
      2. Ada udem yang dikeluarkan pada malam hari, misalnya pada penderita dekompensasi jantung

### **Dalam klinik, percobaan konsentrasi menurut Fishberg ini dilakukan:**

- a. Bila diduga adanya suatu penyakit ginjal primer
- b. Bila diduga adanya dekompensasi jantung

### **Keuntungan percobaan konsentrasi menurut Fishberg ini adalah**

- a. Mudah dikerjakan tanpa menyulitkan penderita
- b. Selain memeriksa faal ginjal kita sekaligus memperoleh urin dengan berat jenis tinggi untuk pemeriksaan bahan-bahan yang seringkali negative bila dilakukan pada urin dengan BJ rendah.
- f. Bau

Bau urine normal disebabkan oleh sebagian asam-asam organic yang mudah menguap, yaitu:

  1. Bau aromatic timbul karena pemecahan ureum di dalam urin oleh bakteri
  2. Bau buah ( fruity) terdapat pada ketonuria

3. Bau jengkol terdapat pada keracunan jengkol, sering disertai proteinuria.

#### **IV. PROSEDUR KERJA**

##### 4.1 Alat dan Bahan

###### 4.1.1 Alat

- a. Tabung reaksi
- b. Baker glass
- c. Gelas ukur
- d. Kertas pH

###### 4.1.2 Bahan

- a. Urine pagi
- b. Urine sewaktu
- c. Aquadest

##### 4.2 Cara Kerja

###### a. Volume

Tampung urin 24 jam, masukkan ke dalam gelas ukur, hitung volumenya

###### b. Warna

Amati warna urin

###### c. Kekeruhan

- Masukkan urin ke dalam tabung reaksi tambahkan asam cuka 6%, jika timbul gas berarti kekeruhan disebabkan oleh pospat/carbonat. Jika tidak timbul gas berarti kekeruhan disebabkan karena adanya pus/nanah
- Jika warna urin merah keruh dicurigai adanya eritrosit
- Untuk pemeriksaan kekeruhan karena bakteri, dilakukan pewarnaan gram

###### d. Keasaman

- Tampung 5 mL urin di dalam beaker glass, celupkan kertas lakmus, lihat perubahan warnanya; jika lakmus biru berubah menjadi merah, urin bersifat asam, jika lakmus merah berubah jadi biru, urin basa

e. Berat jenis

- Ukur berat jenis urin menggunakan urinometer, kalibrasi hasil yang didapatkan terhadap temperature 15°C, kadar glukosa, dan kadar protein

f. Bau

- Lakukan pemeriksaan bau urin secara organoleptis

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

| JENIS<br>PENGAMATAN | NORMAL   | HASIL<br>PENGAMATAN |
|---------------------|--|---------------------|
| Volume              | 800-1600 mL                                    |                     |
| Warna               | Kuning muda                                    |                     |
| Kekeruhan           | Tidak keruh                                    |                     |
| Keasaman/reaksi     | pH urin 4,7-7,5 ( rata-rata<br>6)              |                     |
| Berat Jenis         | Sewaktu ; 1.002-1.030<br>24 jam ; 1.015- 1.025 |                     |
| Bau                 | Aromatik                                       |                     |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |

## **B. PEMERIKSAAN SEDIMEN URIN**

### **I. TUJUAN**

Untuk mengetahui unsur-unsur patologis dalam urin

### **II. PRINSIP**

Adanya unsur-unsur yang terdapat dalam urine akan dipresipitaskan dengan cara disentrifugasi dan dianalisa dibawah mikroskop

### **III. TEORI**

#### **A. UNSUR SEDIMEN URINE ORGANIK**

##### **1. Eritrosit**

- Normal dapat dijawab 0 – 1/ LPB (Perbesaran obyektif 40x)
- Berbentuk normal dan berduri (Creanated)
- Bentuk normal yaitu bundar, batas tegas dengan diameter sama besar yaitu  $\pm 7 \mu$  dan bewarna kuning muda. Bentuk ini dijumpai pada urine baru.
- Bentuk berduri yaitu berbentuk seperti durian, terdapat pada urine dengan berat jenis tinggi, karena eritrosit kehilangan cairan.
- Eritrosit dalam urine disebabkan oleh glomerulonefritis, TBC, batu ginjal, infeksi saluran kemih, karsinoma, dll.

##### **2. Leukosit**

- Dalam keadaan normal terdapat  $< 6$  leukosit / LBP.
- Leukosit berdiameter kira-kira  $11 \mu$ , batas tidak jelas dan selalu penuh dengan granula.
- Pada urine baru masih tampak gerakan amuboid, pada urine basa sering berkelompok.
- Adanya leukosit dalam sedimen menunjukkan suatu peradangan disalah satu tempat dalam sistem urogenitalia.

### 3. Silinder

Patofisiologis : Adanya pengendapan albumin, baik itu albumin dari filtrat atau sekre tubuli akan menjaring bahan-bahan yang banyak ditemukan dalam urine. Oleh karena itu terdapat bermacam-macam silinder tergantung bahan yang terkandung dalam urin tersebut.

Macam-macam silinder :

#### a. Silinder Hialin

- Silinder ini tampak pucat bening, homogen. Jika diwarnai dengan penambahan kalium iodide, silinder akan bewarna kuning.
- Silinder ini dijumpai pada nefritis akut, ikhterus tanpa albuminaria, dan pada orang sehat setelah olahraga.

#### b. Silinder Epitel

- Silinder ini mengandung beberapa sel epitel (1 – 2 sel epitel)
- Bila nefritis akut, maka struktur sel epitel masih jelas, tetapi bila prosesnya menjadi kronis maka struktur epitel akan berubah menjadi butir-butir lemak.
- Adanya silinder ini menunjukkan proses degenerasi yang berat dari epitel tubuli ginjal.

#### c. Silinder Berbutir

- Silinder ini mengandung butir-butir halus sampai kasar yang berupa albumin, sel epitel, lemak, leukosit dan eritrosit yang rusak.
- Silinder ini biasanya dijumpai pada nefritis kronis.

#### d. Silinder Eritrosit

- Silinder ini mengandung sel-sel eritrosit
- Biasanya dijumpai pada nefritis akut

#### e. Silinder leukosit

- Silinder ini mengandung sel-sel leukosit

#### f. Silinder Lemak

- Silinder ini mengandung butir-butir lemak
- Biasanya dijumpai pada stadium lanjut nefritis berat

#### g. Silinder Lilin

- Silinder ini tidak bewarna, lebih besar dari silinder hialin, pinggirnya sering tidak rata oleh karena adanya lekukan-lekukan.
  - Biasanya dijumpai pada perubahan degenerasi berat pada ginjal, kadang-kadang dijumpai pada amiloid ginjal.
- h. Silinder Campuran
- Silinder ini mengandung berbagai macam unsur, misalnya campuran epitel, lemak dan eritrosit.
- i. Silinder Fibrin
- Silinder ini mengandung fibrin, dan merupakan silinder palsu.
4. Sel Epitel
- Silinder ini berasal dari ginjal, ureter, kandung kemih, dan uretra.
  - Sel epitel dari tubuli ginjal, sel ini lebih kecil dari sel epitel ureter dan kandung kemih, tetapi lebih besar dari leukosit.
  - Biasanya sel ini selalu terdapat dalam urine, pada glomerulonefritis sel-sel ini bertambah banyak.
5. Spermatozoa
- Biasanya dijumpai pada urine setelah coitus.
  - Spermatozoa mempunyai bentuk badan oval memanjang, tipis dan mempunyai ekor halus.
6. Parasit
- Yang sering ditemukan yaitu Schistosoma dan *Trichomonas vaginalis*.

## B. UNSUR SEDIMEN URINE ANORGANIK

### 1. Kristal yang dapat dijumpai dalam keadaan normal

#### a. Dalam suasana asam :

- Kristal Asam urat  
Kristal ini merupakan produk metabolisme dari pemecahan protein. Biasanya tidak bewarna sampai bewarna kuning, pink, atau coklat. Bentuk seperti batang, kubus, piring atau seperti batu asahan.
- Kristal Kalsium oksalat

Paling sering ditemukan pada urine asam atau netral. Bentuk yang umum yaitu seperti amplop. Kristal ini ditemukan pada urine normal, terutama setelah mengkonsumsi asam askorbat, tomat dan asparagus.

b. Dalam suasana basa :

- Kristal Triple fosfat

Kristal yang bentuknya mirip seperti peti mati, kadang-kadang ditemukan dalam urine basa berbentuk seperti bintang.

- Kristal Kalsium karbonat

Berbentuk seperti spherules-halter yang ditemukan dalam urine basa, dengan ukuran yang kecil sering dikatakan bakteri.

- Kristal Kalsium fosfat

2. Kristal yang dapat dijumpai dalam keadaan abnormal

- Kristal sistin : dijumpai pada kelainan konginetal
- Kristal tyrosin dan leusin : dijumpai pada penyakit hepar yang berat

3. Bahan Amorf yang dapat dijumpai dalam pemeriksaan urine

- Dalam urine asam : Amorf urat
- Dalam urine basa : Amorf fosfat

#### **IV. PROSEDUR KERJA**

##### 4.1 Alat dan Bahan

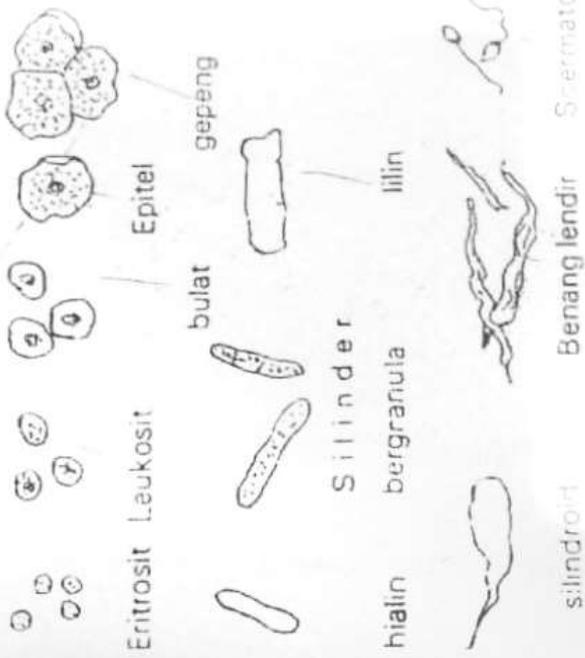
- Cover glass
- Objek glass
- Mikroskop
- Centrifuge
- Tabung Centrifuge
- Pipet tetes
- Sampel Urine

##### 4.2 Cara Kerja

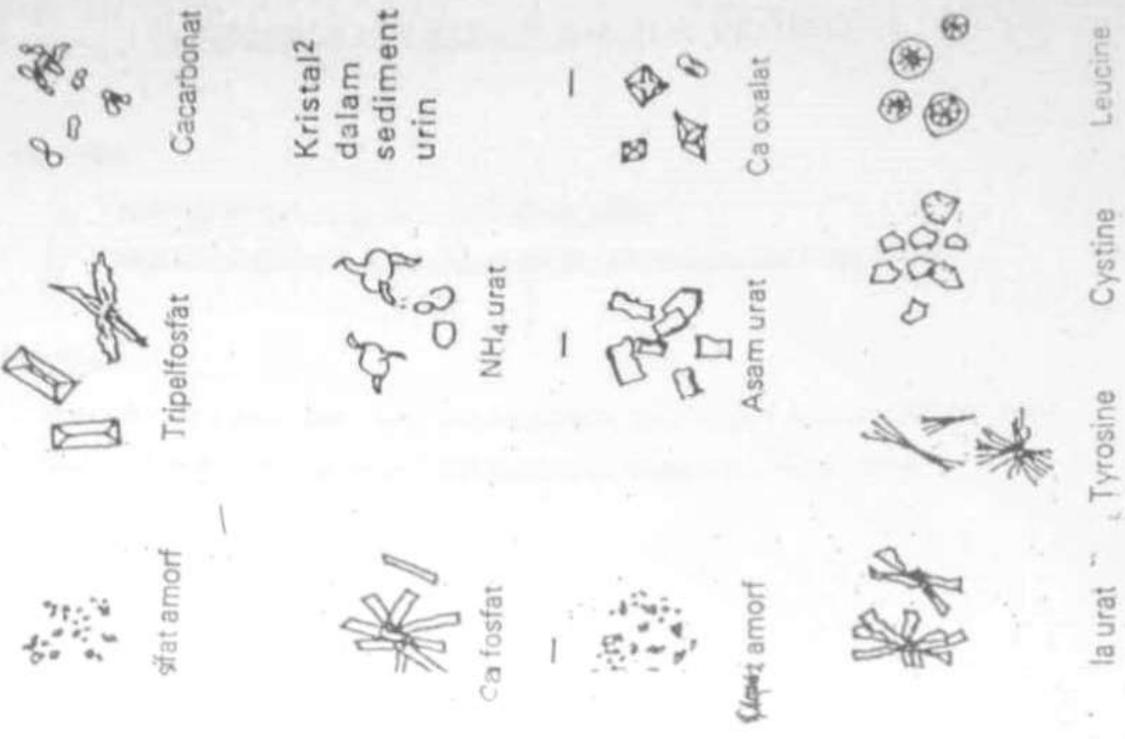
1. Kocok botol penampung urine supaya sedimen bercampur dengan cairan atas.
2. Masukkan urine sebanyak 7-8 ml ke tabung centrifuge.

3. Pusing tabung centrifuge dengan alat centrifuge dengan kecepatan 1.500 - 2.000 rpm dalam waktu 5 menit.
4. Buang cairan atas hingga suspensi sedimen tinggal 0.5 ml.
5. Kocok tabung supaya meresuspensikan sedimen.
6. Teteskan 1 tetes urine diatas objek glass.
7. Periksa dibawah mikroskop dengan lensa objektif 10x kemudian 40x.
8. Cara melaporkan pemeriksaan sedimen urine :
  - Leukosit dan eritrosit dilaporkan jumlah rata-rata per LBP (Lapang Pandang Besar) dengan obyektif 40x.
  - Epitel dan silinder dilaporkan jumlah rata-rata per LPK (Lapang Pandang Kecil) dengan obyektif 10x.
  - Unsur-unsur lain dan kristal-kristal dilaporkan per LPK dengan keterangan :
    - (-) tidak ada
    - (+) ada
    - (++) banyak
    - (+++) banyak sekali

Unsur-unsur organik dalam sediment urin



Unsur-unsur cemaran dalam sediment urin



**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

| JENIS PENGAMATAN     | NILAI NORMAL | HASIL PENGAMATAN |
|----------------------|--------------|------------------|
| Eritrosit (urin)     | 0 – 2 /LPB   |                  |
| Leukosit (urin)      | 0 – 5/LPB    |                  |
| Silinder Hyalin      | < 10 /LPK    |                  |
| Silinder lain-lain   | < 10 /LPK    |                  |
| Epitel Squamous      | < 10 /LPK    |                  |
| Epitel Transisional  | < 10 /LPB    |                  |
| Epitel Renal Tubulus | < 10 /LPB    |                  |
| Bakteri              | Negatif      |                  |
| Kristal              |              |                  |
| Kristal Abnormal     | Negatif      |                  |
| Lain-lain            |              |                  |
| Epitel (urin)        |              |                  |
| Silinder (urin)      |              |                  |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |

## **PEMERIKSAAN URINE TERHADAP GLUKOSA DAN PROTEIN**

### **I. TUJUAN**

1. Untuk menentukan adanya glukosa dalam urin
2. Untuk menentukan adanya protein dalam urin
3. Untuk menentukan adanya indikasi kelainan-kelainan pada fungsi renal

### **II. PRINSIP**

#### 1. Analisis Karbohidrat (Glukosa)

Dalam suasana alkali kuat ditambah dengan pemanasan, gula-gula (reduktor) akan mereduksi ion cupri menjadi cupro dengan hasil terjadi CuOH yang berwarna kuning atau CuO yang berwarna merah, tergantung dari jumlah reduktor yang terdapat dalam urine.

#### 2. Analisis Asam Amino (Protein)

Pemeriksaan berdasarkan pengendapan protein yang terjadi dalam suasana asam. Karena hasil pemeriksaan dinilai dari kekeruhan, maka urine harus jernih.

### **III. TEORI**

#### 1. Pemeriksaan Urine Terhadap Glukosa

Tes glukosa urin dapat dilakukan dengan menggunakan reaksi reduksi, dikerjakan dengan menggunakan fehling, benedict, dan clinitest. Ketiga jenis tes ini dapat digolongkan dalam jenis pemeriksaan semi kuantitatif. Sedangkan tes glukosa dengan enzimatis dilakukan dengan metode carik celup yang tergolong dalam pemeriksaan semi kuantitatif dan kuantitatif. Untuk menyatakan keberadaan suatu glukosa, dapat dilakukan dengan cara yang berbeda – beda. Cara yang tidak spesifik dapat dilakukan dengan menggunakan suatu zat dalam reagen yang berubah sifat dan warnanya jika direduksi oleh glukosa. Diantaranya adalah penggunaan reagen fehling yang dapat dipakai untuk

menyatakan adanya reduksi yang mengandung garam cupri. Sedangkan pembuktian glukosuria secara spesifik dapat dilakukan dengan menggunakan enzim glukosa oxidase.

## 2. Pemeriksaan Urine Terhadap Protein

Protein yang dipanaskan akan membentuk presipitasi yang terlihat berupa kekeruhan. Pemberian asam asetat dilakukan untuk mencapai atau mendekati titik isoelektrik protein. Penetapan kadar protein dalam urin biasanya dinyatakan berdasarkan timbulnya kekeruhan pada urin. Karena padatnya atau kasarnya kekeruhan itu menjadi satu ukuran untuk jumlah protein yang ada, maka menggunakan urin yang jernih menjadi syarat yang penting. Salah satu uji protein urin yang cukup peka adalah dengan melalui pemanasan urin dengan asam asetat. Pemberian asam asetat dilakukan untuk mencapai atau mendekati titik iso-elektrik protein, sedangkan pemanasan bertujuan untuk denaturasi sehingga terjadilah presipitasi. Kekeruhan yang ringan akan sangat sukar untuk dilihat, maka harus menggunakan tabung yang bersih dan bagus. Jika tabung yang akan digunakan sudah tergores, maka tabung tersebut harus diganti. Pada pemberian asam asetat yang sangat berlebihan akan mengakibatkan hasil negatif palsu pada pemeriksaan tersebut.

## IV. PROSEDUR KERJA

### 4.1 Alat-alat

- Tabung Reaksi
- Centrifuge dan Tabungnya
- Penjepit
- Lampu Spritus
- Pipet Tetes
- Water Bath
- Gelas Ukur

## 4.2 Bahan-bahan

- Asam Asetat 10%
- Natrium Asetat
- Asam Asetat Glasial
- Aquadest
- Urin
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Asam Sitrat
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  Anhidrat

## 4.3 Metoda Pengerjaan

### 1) Pemeriksaan Urin Terhadap Glukosa

#### 1.1 Pembuatan Reagen Benedict

- Larutkan 17,3 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dalam 100 ml aquadest dengan pemanasan.
- Larutkan 173 g Natrium Sitrat dan 100 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  Anhidrat dalam 600 ml aquadest, panaskan lalu saring.
- Perlahan-lahan dengan adukan yang konstan, tambahkan larutan sitrat karbonat. Bersihkan seluruh  $\text{CuSO}_4$  dengan aquadest dan ad hingga 1000 ml.

#### 1.2 Cara Kerja

- Masukkan 2,5 ml reagen Benedict kedalam tabung reaksi.
- Tambahkan 0,25 ml (4 tetes) urin dan campurkan.
- Letakkan dalam penangas air mendidih selama 2-3 menit.
- Angkat dan langsung baca hasilnya yang terlihat.

### Catatan

Pemeriksaan Benedict adalah semi kuantitatif artinya dapat menentukan kira-kira jumlah zat dicari dalam bahan pemeriksaan.

Keuntungan: lebih spesifik, semi kuantitatif

Kerugian: kurang sensitif.

## **2) Pemeriksaan Urin Terhadap Protein**

### 2.1 Tes Pemanasan dengan Asam Asetat

#### 2.1.1 Prinsip

Protein akan membentuk endapan atau menggumpal bila dipanaskan dalam suasana asam.

#### 2.1.2 Pembuatan Reagen

Asam asetat 10%

#### 2.1.3 Cara Kerja

- a. Tabung diisi dengan urin sebanyak  $\frac{3}{4}$  nya
- b. Didihkan selama 1-2 menit
- c. Kekeruhan yang terjadi disebabkan oleh fosfat, karbonat, atau albumin
- d. Tambahkan 3 tetes asam asetat 10% tetes demi tetes dalam keadaan mendidih. Kekeruhan yang disebabkan oleh karbonat dan fosfat akan hilang.

### 2.2 Pemeriksaan Secara Bang

#### 2.2.1 Prinsip

Protein akan membentuk endapan atau menggumpal bila dipanaskan dalam suasana asam

#### 2.2.2 Pembuatan Reagen

Natrium asetat 11,8 g dan asam asetat glasial ad aquadest 100 ml

#### 2.2.3 Cara Kerja

5 ml urin ditambahkan 0,5 ml reagen Bang, kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit

#### 2.2.4 Pengamatan Hasil

Bila timbul kekeruhan berarti terdapat protein.

**Catatan:**

Keuntungan cara Bang adalah tidak terganggu oleh kekeruhan oleh garam-garam kalsium, fosfat, dengan adanya buffer dari asam asetat maka didapat pH ideal untuk pengendapan protein.

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

Pemeriksaan Glukosa dengan Benedict

| WARNA                       | KETERANGAN | JUMLAH         | HASIL PENGAMATAN |
|-----------------------------|------------|----------------|------------------|
| Biru hijau tak ada endapan  | (-)        | 0.0 – 0.1 g/dl |                  |
| Hijau dengan endapan kuning | (+)        | 0.5 – 1 g/dl   |                  |
| Kuning                      | (++)       | 1 – 1.5 g/dl   |                  |
| Orange                      | (+++)      | 1.5 – 2.5 g/dl |                  |
| Merah                       | (++++)     | 2.5 – 4 g/dl   |                  |

Pemeriksaan Protein

| WARNA                                 | KETERANGAN | JUMLAH         | HASIL PENGAMATAN |
|---------------------------------------|------------|----------------|------------------|
| Tidak ada kekeruhan                   | (-)        |                |                  |
| Kekeruhan sedikit sekali              | (±)        |                |                  |
| Kekeruhan sedikit (tanpa butir-butir) | (+)        | 10 – 50 mg %   |                  |
| Kekeruhan jelas (berbutir-butir)      | (++)       | 50- 200 mg %   |                  |
| Kekeruhan hebat (berkeping-)          | (+++)      | 200 – 500 mg % |                  |

|            |        |            |  |
|------------|--------|------------|--|
| keping)    |        |            |  |
| Menggumpal | (++++) | > 500 mg % |  |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |

# **PEMERIKSAAN URINE ATAS INDIKASI BILIRUBIN, UROBILIN DAN UROBILINOGEN**

## **A. PEMERIKSAAN URINE ATAS INDIKASI BILIRUBIN**

### **I. TUJUAN**

Untuk menentukan adanya bilirubin dalam urine

### **II. PRINSIP**

Bilirubin dengan reagen Fauchet membentuk suatu kompleks dengan memberikan warna hijau atau biru kehijauan.

### **III. TEORI**

Bilirubin (sebelumnya disebut sebagai hematoïdin) adalah produk rincian kuning normal hemekatabolisme. Heme ditemukan dalam hemoglobin, komponen utama dari sel darah merah. Bilirubin diekskresikan dalam empedu dan urin, dan peningkatan kadar dapat mengindikasikan penyakit tertentu. Hal ini bertanggung jawab untuk warna kuning memar, warna kuning air seni (melalui produk pemecahan direduksi, urobilin), warna coklat dari kotoran (melalui konversi kepada stercobilin), dan perubahan warna kuning pada penyakit kuning.

Fungsi bilirubin:

Bilirubin dibuat oleh aktivitas reduktase biliverdin pada biliverdin, pigmen empedu hijau tetrapyrrolic yang juga merupakan produk katabolisme heme. Bilirubin, ketika teroksidasi, beralih menjadi biliverdin sekali lagi. Siklus ini, selain demonstrasi aktivitas antioksidan ampuh bilirubin, telah menyebabkan hipotesis bahwa peran utama fisiologis bilirubin adalah sebagai antioksidans eluler.

Bilirubin terkonjugasi (bilirubin glukoronida atau hepatobilirubin) masuk ke saluran empedu dan diekskresikan ke usus. Selanjutnya flora usus akan mengubahnya menjadi urobilinogen dan dibuang melalui

feses serta sebagian kecil melalui urin. Bilirubin terkonjugasi bereaksi cepat dengan asam sulfanilat yang terdiazotasi membentuk azobilirubin (reaksi van den Bergh), karena itu sering dinamakan bilirubin direk atau bilirubin langsung.

Bilirubin tak terkonjugasi (hematobilirubin) yang merupakan bilirubin bebas yang terikat albumin harus lebih dulu dicampur dengan alkohol, kafein atau pelarut lain sebelum dapat bereaksi, karena itu dinamakan bilirubin indirek atau bilirubin tidak langsung.

Peningkatan kadar bilirubin direk menunjukkan adanya gangguan pada hati (kerusakan sel hati) atau saluran empedu (batu atau tumor). Bilirubin terkonjugasi tidak dapat keluar dari empedu menuju usus sehingga akan masuk kembali dan terabsorpsi ke dalam aliran darah.

Peningkatan kadar bilirubin indirek sering dikaitkan dengan peningkatan destruksi eritrosit (hemolisis), seperti pada penyakit hemolitik oleh autoimun, transfusi, atau eritroblastosis fatalis. Peningkatan destruksi eritrosit tidak diimbangi dengan kecepatan konjugasi dan ekskresi ke saluran empedu sehingga terjadi peningkatan kadar bilirubin indirek.

## **IV. PROSEDUR KERJA**

### 4.1 Alat dan Bahan

#### 4.1.1 Alat

- Tabung reaksi
- Corong
- Kertas saring
- Pinset
- Pipet tetes
- Pipet takar 5ml

#### 4.1.2 Bahan

- $\text{FeCl}_3$
- Trichloracetate

- BaCl<sub>2</sub>
- Urine

## 4.2 Cara Kerja

### 4.2.1 Percobaan Harrison

- Prinsip : BaCl<sub>2</sub> bereaksi dengan sulfat dalam urine membentuk endapan BaSO<sub>4</sub> dan bilirubin menempel pada molekul ini. FeCl<sub>3</sub> mengoksidasi bilirubin menjadi:

Biliverdin → warna hijau

Bilicyanin → warna biru

Choletelin → warna kuning

- Pembuatan Reagen
  - ✓ Reagen Fauchet : 0,9 g FeCl<sub>3</sub> dilarutkan dalam trichloracetate 25% sampai 100 ml.
  - ✓ Larutan BaCl<sub>2</sub> 10%
    - Cara Pemeriksaan
      - 5 ml urine dimasukkan dalam tabung reaksi
      - Tambahkan 5 ml BaCl<sub>2</sub> 10%, campur, kemudian saring dengan kertas saring
      - Presipitat pada kertas saring dibiarkan sampai kering
      - Tambahkan 1 tetes reagen Fauchet pada presipitat
    - Sensitifitas
      - 0,05 – 0,1 mg bilirubin/dl urine

### 4.2.2 Percobaan Hawkinson

Cara ini menggunakan kertas saring yang tebal (shlesinger atau schull no. 470) yang direndam dengan BaCl<sub>2</sub> jenuh, kemudian kertas saring dikeringkan. Potong kertas saring berukuran 4 x ½ inci.

- Cara Pemeriksaan
  - Pada potongan kertas saring yang mengandung  $\text{BaCl}_2$  ditetaskan urine beberapa tetes
  - Biarkan selama 30 detik sampai 2 menit
  - Teteskan 2-3 tetes reagen Fauchet

## **B. PEMERIKSAAN URINE ATAS INDIKASI UROBILIN (PERCOBAAN SCHLESINGER)**

### **I. TUJUAN**

Untuk menentukan adanya urobilin dalam urine

### **II. PRINSIP**

Urobilin dengan reagem Schlesinger membentuk suatu kompleks dengan memberikan fluorescensi hijau

### **III. TEORI**

Urobilin adalah pigmen alami dalam urin yang menghasilkan warna kuning. Ketika urin kental, urobilin dapat membuat tampilan warna oranye-kemerahan yang intensitasnya bervariasi dengan derajat oksidasi, dan kadang-kadang menyebabkan kencing terlihat merah atau berdarah.

Banyak tes urin (urinalisis) yang memantau jumlah urobilin dalam urin karena merupakan zat penting dalam metabolisme/ produksi urin. Tingkat urobilin dapat memberikan wawasan tentang efektivitas fungsi saluran kemih.

Pembentukan urobilin :

Bilirubin terkonjugasi yang mencapai ileum terminal dan kolon dihidrolisa oleh enzyme bakteri  $\beta$  glukoronidase dan pigmen yang bebas dari glukoronida direduksi oleh bakteri usus menjadi urobilinogen, suatu senyawa tetrapirrol tak berwarna. Sejumlah urobilinogen diabsorpsi kembali dari usus ke perdarahan portal dan dibawa ke ginjal kemudian dioksidasi menjadi urobilin yang member warna kuning pada urine. Sebagian besar urobilinogen berada pada feces akan dioksidasi oleh bakteri usus membentuk sterkobilin yang berwarna kuning kecoklatan.

**Catatan:**

Filtrat yang diperoleh dari percobaan untuk bilirubin menurut Harrison tidak dapat dipakai untuk pemeriksaan urobilin menurut Schlesinger karena urobilin akan diabsorpsi oleh endapan yang terjadi karena  $\text{BaCl}_2$  (dari reagen Fauchet). Oleh karena itu, dalam reagen Fauchet  $\text{BaCl}_2$  diganti dengan  $\text{CaCl}_2$  sehingga pemeriksaan bilirubin menurut Harrison dan pemeriksaan urobilin menurut Schlesinger dapat dirangkap, yaitu filtrat untuk pemeriksaan Schlesinger dan endapan untuk pemeriksaan bilirubin.

**IV. PROSEDUR KERJA**

## 4.1 Alat dan Bahan

## 4.1.1 Alat

- Pipet takar 5 ml/gelas ukur 10 ml
- Pipet tetes
- Kertas saring
- Corong
- Tabung reaksi
- Rak tabung

## 4.1.2 Bahan

- $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$
- Alkohol 96%
- $\text{I}_2$
- KI
- Aquadest
- Urine

## 4.2 Cara Kerja

## 4.2.1 Pembuatan Reagen

- ✓ Reagen Schlesinger

10 g  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  disuspensikan dalam 100 ml alkohol 96%

✓ Larutan Lugol

0,5 g I<sub>2</sub> dan 1 g KI dilarutkan dalam air, setelah larut ditambahkan air sampai 150 ml

4.2.2 Cara Pemeriksaan (?)

- 2,5 ml urine ditambah 1 tetes larutan lugol
- Tambahkan 3,75 ml reagen Schlesinger, kemudian kocok
- Saring sampai didapat filtrat yang jernih
- Filtrat diperiksa/dilihat dengan latar belakang hitam

## **C. PEMERIKSAAN URINE ATAS INDIKASI UROBILINOGEN (PERCOBAAN WALLACE DIAMOND)**

### **I. TUJUAN**

Untuk menentukan adanya urobilinogen dalam urine

### **II. PRINSIP**

Urobilinogen ditambah para-dimetilaminobenzaldehid akan membentuk kompleks berwarna merah anggur

### **III. TEORI**

Urobilinogen adalah larut dalam air dan transparan produk yang merupakan produk dengan pengurangan bilirubin dilakukan oleh interstinal bakteri. Hal ini dibentuk oleh pemecahan hemoglobin. Sementara setengah dari Urobilinogen beredar kembali ke hati, setengah lainnya diekskresikan melalui feses sebagai urobilin. Ketika pernah ada kerusakan hati, kelebihan itu akan dibuang keluar melalui ginjal. Siklus ini dikenal sebagai Urobilinogenenterohepatik siklus. Ada dapat berbagai faktor yang dapat menghambat siklus ini. Salah satu alasan menjadi gangguan lebih dari hemoglobin (hemolisis) karena malfungsi hati berbagai seperti hepatitis, sirosis. Ketika ini terjadi, Urobilinogen lebih diproduksi dan diekskresikan dalam urin. Pada saat seseorang menderita penyakit kuning, itu didiagnosa oleh warna kulit yang sedikit kuning dan warna kuning dari urin. Namun bila ada obstruksi pada saluran empedu, hal itu akan menyebabkan penurunan jumlah Urobilinogen dan ada lebih sedikit urobilin dalam urin.

Untuk mendeteksi jenis kerusakan di hati, tes Urobilinogen dilakukan dengan mengukur kadar urobilinogen dalam urin. Reaksi Aldehid Ehrlich adalah tes umum yang digunakan untuk menguji tingkat Urobilinogen. Sebuah benzaldehida dengan keberadaan asam

berubah warna jika Urobilinogen hadir untuk warna merah muda. Diubah atau tidak adanya lengkap tingkat Urobilinogen biasanya menunjukkan disfungsi hati. Dan peningkatan tingkat petunjuk Urobilinogen urin ke warna merah darah Hemolisis sel. Tujuan utama dari tes ini adalah untuk membantu mengetahui penghalang hati tambahan seperti penyumbatan saluran empedu umum dan juga untuk memungkinkan hati serta gangguan hematologi.

### **Masalah Klinis**

Peningkatan ekskresi urobilinogen dalam urine terjadi bila fungsi sel hepar menurun atau terdapat kelebihan urobilinogen dalam saluran gastrointestinal yang melebihi batas kemampuan hepar untuk melakukan ekskresi.

Urobilinogen meninggi dijumpai pada : destruksi hemoglobin berlebihan (ikterik hemolitik atau anemia hemolitik oleh sebab apapun), kerusakan parenkim hepar (toksik hepar, hepatitis infeksius, sirosis hepar, keganasan hepar), penyakit jantung dengan bendungan kronik, obstruksi usus, mononucleosis infeksius, anemia sel sabit.

Hasil positif juga dapat diperoleh setelah olahraga atau minum atau dapat juga disebabkan oleh kelelahan atau sembelit. Orang yang sehat dapat mengeluarkan sejumlah kecil urobilinogen.

Urobilinogen urine menurun dijumpai pada ikterik obstruktif, kanker pankreas, penyakit hati yang parah (jumlah empedu yang dihasilkan hanya sedikit), penyakit inflamasi yang parah, kolelitiasis, diare yang berat.

## **IV. PROSEDUR KERJA**

### **4.1 Alat dan Bahan**

#### **4.1.1 Alat**

- Pipet takar 5 ml dan 10 ml
- Tabung reaksi

- Rak tabung reaksi

#### 4.1.2 Bahan

- Dimetilaminobenzaldehid
- HCL 37%
- Aquadest
- Urine

#### 4.2 Cara Kerja

##### 4.2.1 Pembuatan Reagen

Larutan aldehid menurut Ehrlich:

Dimetilaminobenzaldehid 2 g dilarutkan dalam HCL 37% sebanyak 50 ml dan dicukupkan volumenya sampai 100 ml dengan penambahan aquadest.

##### 4.2.2 Cara Pemeriksaan

- 1 ml urine ditambah 2 ml reagen Ehrlich
- Dilihat Perubahan warna yang terjadi

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

| Jenis Pemeriksaan | Hasil | Nilai Rujukan | Satuan |
|-------------------|-------|---------------|--------|
| Bilirubin         |       | <0,9          | U/L    |
| Urobilin          |       |               |        |
| Urobilinogen      |       | 4 mg/24 jam   | mg     |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |

## **PEMERIKSAAN HAEMOGLOBIN DARAH (METODA SAHLI DAN FOTOELEKTRIK)**

### **I. TUJUAN**

Untuk menentukan kadar haemoglobin dalam darah

### **II. PRINSIP**

#### ➤ **Metoda Sahli**

Haemoglobin diubah menjadi hematin asam, kemudian warna yang terjadi dibandingkan secara visual dengan standar dalam alat tersebut.

#### ➤ **Metode Fotoelektrik (Sianmethaemoglobin)**

Haemoglobin darah diubah menjadi sianmethaemoglobin (hemiglobinsianida) dalam larutan yang berisi Kalium ferrisianida dan kalium sianida (larutan drabkin).

Larutan Drabkin yang dipakai pada cara ini mengubah hemoglobin, oksihemoglobin, methemoglobin dan karboksihemoglobin menjadi sianmet-hemoglobin kecuali sulfhemoglobin.

### **III. TEORI**

Haemoglobin merupakan protein yang mengandung zat besi, yang terdapat didalam sel darah merah yang berfungsi untuk membawa oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh dan membawa CO<sub>2</sub> dari seluruh tubuh ke paru-paru untuk dikeluarkan. Zat besi dalam bentuk Fe<sup>2+</sup> dalam haemoglobin memberikan warna merah pada darah. Dalam keadaan normal, 100 mL darah mengandung 15 gram haemoglobin yang mampu mengangkut 0,03 gram oksigen. Molekul haemoglobin tersusun atas globin, apoprotein, 4 grup haem dan 1 molekul organik dengan 1 atom besi.

Jumlah haemoglobin didalam darah biasanya dinyatakan dalam gram tiap 100 mL (dL). Jumlah haemoglobin ini tergantung pada usia, jenis kelamin dan kondisi lingkungan. Dalam keadaan normal, jumlah haemoglobin untuk :

- Bayi baru lahir : 17-22 g/dL
- Usia seminggu : 15-20 g/dL

- Usia sebulan : 11-15 g/dL
- Anak-anak : 11-13 g/dL
- Laki-laki dewasa : 14-18 g/dL
- Wanita dewasa : 12-16 g/dL
- Laki-laki separuh baya : 12,4-14,9 g/dL
- Wanita separuh baya : 11,7-13,8 g/dL

### **Aplikasi dalam biokimia klinik**

Penentuan jumlah haemoglobin dalam darah sangat berperan dalam biokimia klinik untuk menentukan diagnose suatu penyakit. Apabila jumlah dalam darah rendah dapat menyebabkan penyakit anemia. Timbulnya penyakit anemia ini disebabkan oleh banyak factor. Factor yang paling utama adalah:

- a. Kehilangan darah (luka parah, pembedahan, pendarahan, kanker usus)
- b. Kekurangan vitamin (besi, vitamin B12 dan folat)
- c. Masalah sumsum (penggantian sumsum tulang oleh darah, pengendapan oleh kemoterapi, pemakaian narkotika, kegagalan ginjal)
- d. Haemoglobin tidak normal (anemia sel sabit)

Sementara itu kadar haemoglobin tinggi terjadi pada:

- a. Orang-orang yang tinggal dikawasan pegunungan (daerah yang tinggi)
- b. Perokok

## **IV. Alat Dan Bahan**

### a. Alat

- Tabung reaksi
- Alat haemometer Sahli terdiri dari :
  - ❖ Tabung pengencer
  - ❖ Pipet Hb (20 µL)
  - ❖ Alat standar (batang standar)
  - ❖ Batang pengaduk
- Pipet tetes
- Stop watch

b. Bahan-bahan

- HCl 0,1 N
- Darah
- Aquadest
- Larutan Drabkin : 1 g Natrium Bikarbonat, 50 mg Kalium sianida, 200 mg Kalium ferrisianida dan aquadest ad 1000 mL.

**V. Prosedur Kerja**

**A. Metode Sahli**

1. Masukkan 5 tetes HCL 0,1 N ke dalam tabung pengencer Haemometer
2. Isaplah darah (Kapiler, EDTA atau oxalate) dengan pipet Haemoglobin sampai garis tanda 20  $\mu$ L
3. Hapuslah darah yang melekat pada sebelah luar ujung pipet
4. Catatlah waktunya dan segeralah alirkan darah dari pipet ke dalam dasar tabung yang berisi HCL tersebut. Hati-Hati jangan sampai terjadi gelembung udara
5. Angkatlah pipet itu sedikit, lalu isap HCl yang jernih itu ke dalam pipet 2 atau 3 kali untuk membersihkan darah yang masih tertinggal dalam pipet
6. Campurlah isi tabung agar darah dan HCl bersenyawa, warna campuran menjadi coklat tua
7. Tambahkan aquadest setetes demi setetes, sambil diaduk dengan batang pengaduk yang tersedia. Persamaan warna campuran dan batang standar harus dicapai dalam waktu 3 sampai 5 menit setelah saat darah dan HCl dicampur. Pada usaha mempersamakan warna hendaknya tabung diputar sedemikian rupa hingga garis bagi tidak terlihat
8. Baca kadar Haemoglobinnya dengan g/100mL darah

## **B. Metode Fotoelektrik**

1. Ke dalam tabung kolorimeter dimasukkan 5 mL larutan Drabkin
2. Dengan pipet Haemoglobin diambil 20  $\mu$ L darah (kapiler, EDTA atau oksalat), sebelah ujung pipet dibersihkan, lalu darah itu dimasukkan ke dalam tabung kolorimeter dengan membilasnya beberapa kali.
3. Campurlah isi tabung dengan membalikkannya beberapa kali. Tindakan ini juga akan menyelenggarakan perubahan haemoglobin menjadi sianmethemoglobin.
4. Bacalah dalam spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm, sebagai blanko digunakan larutan Drabkin.
5. Kadar haemoglobin ditentukan dari perbandingan absorbansinya dengan absorbansi standar sianmethemoglobin.

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

| KTERANGAN        | NILAI      | HASIL<br>PENGAMATAN |
|------------------|------------|---------------------|
| Laki-laki dewasa | 14-18 g/dL |                     |
| Wanita dewasa    | 12-16 g/Dl |                     |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |

## **PEMERIKSAAN PROTEIN PLASMA**

### **I. TUJUAN**

Untuk menentukan adanya protein dalam darah.

### **II. PRINSIP**

Pembentukan warna violet dari protein dengan  $\text{CuSO}_4$ . Albumin diperiksa setelah mengendapkan globulin dengan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  23%.

### **III. TEORI**

Protein berfungsi dalam hampir semua aktivitas fisiologis makhluk hidup yaitu sebagai arsitektur sel, katalis (enzim), pengendali metabolit, proses kontraktilel, pelindung (antibodi) dan senyawa penting lain dalam organisme tingkat tinggi. Protein adalah suatu makromolekul yang tersusun atas molekul-molekul asam amino yang berhubungan satu dengan yang lain melalui suatu ikatan yang dinamakan ikatan peptida. Protein kebanyakan disintesis di hati. Protein plasma yang telah diidentifikasi dan mempunyai jumlah 70% dari darah adalah albumin, globulin, dan fibrinogen. Adapun nilai normal protein plasma adalah sebagai berikut.

Total protein : 6,2 – 8,4 g/dL

Albumin : 3,8 – 5,4 g/dL

Globulin : 1,3 – 3,3 g/dL

Beberapa Fungsi dari Protein Plasma antara lain :

1. Keseimbangan osmotik
2. Pembentukan dan nutrisi jaringan
3. Enzim, hormone, pembekuan darah ( fibrinogen, AT III ) dan jaringan tubuh
4. Transportasi yakni sebagai pembawa (carrier) senyawa yang melewati membran plasma (asam lemak bebas, bilirubin, obat-obatan)
5. Berperan sebagai antibodi (globulin) dan komplemen

Albumin adalah protein utama dalam plasma manusia ( 3,8- 5,4 g/dL) dan membentuk sekitar 60% protein plasma total. Sekitar 40% albumin terdapat dalam plasma dan 60% sisanya terdapat diruang ekstrasel. Hati menghasilkan sekitar 12 g albumin /hari, yaitu sekitar 25% dari semua sintesis protein oleh hati dan separuh jumlah protein yang disekresikannya. Sintesis albumin berkurang pada beragam penyakit terutama penyakit hati. Albumin dalam bidang klinik sangat berperan dalam mempertahankan tekanan osmotik intravasular dan mencegah edema. Tekanan osmotik intravaskular selalu lebih tinggi 18mmHg dibanding ektravaskular, ini disebut juga sebagai *Oncotic pressure*. *Oncotic pressure* inilah yang dipertahankan terutama oleh albumin plasma.

Albumin disintesa di hepar, oleh karenanya penyakit hepar yang kronis selalu disertai oleh udem. Udem juga terdapa pada penyakit ginjal seperti sindrom nefrotik dan glumerulonefritis kronis dengan patofisiologi yang berbeda. Dalam kasus ini, ginjal berperan sebagai faktor kehilangan albumin melalui glomerulus yang dapat menurunkan kadar albumin plasma. Berbeda dengan hipoprotein pada penyakit hepar yakni ketika sintesa albumin itu sendiri yang berkurang.

Proses metabolisme protein akan menghasilkan produk eliminasi utamanya yaitu urea, disamping itu juga terdapat asam urat, urobilin, kreatinin, dll.

#### **IV. PROSEDUR KERJA**

##### 4.1 Alat

- Spektrofotometer
- Sentrifus
- Centrifuge tube
- Pipet 0,05 ml , 1 ml , 10 ml
- Waterbath

##### Bahan

- Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 23%
- Reagen Biuret
- Eter

- Serum kontrol / Standar

#### 4.2 Metoda Pengerjaan

##### **CARA MEMBUAT FILTRAT ALBUMIN**

- Untuk pemeriksaan albumin, globulin diendapkan dengan teknik salting out ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sebagai pengendap globulin)
- Presipitasi globulin diikat dengan eter sehingga presipitasinya akan mengapung ke permukaan. Setelah disentrifus akan didapatkan filtrat albumin yang jernih, filtrat inilah yang akan digunakan dalam pemeriksaan albumin.

1. Buat 2 jenis larutan yaitu larutan standar dan sampel dengan mencampurkan bahan-bahan berikut.

| ZAT                               | TES St  | TES S   |
|-----------------------------------|---------|---------|
| Serum St                          | 0,25 ml | -       |
| Serum S                           | -       | 0,25 ml |
| $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 23%, 37o | 5 ml    | 5 ml    |

2. Setelah kedua jenis larutan telah dibuat, tunggu 5 menit. Masing-masing larutan tambahkan 1 ml eter. Kocok kuat selama 1 menit, kemudian biarkan 5 menit.

3. Sentrifus selama 5 menit, 1500 rpm.

4. Dari masing-masing tes ambil filtrat, dimana :

F St = Filtrat albumin dari serum standar

F S = Filtrat albumin dari serum sampel

##### **PEMERIKSAAN ALBUMIN**

1. Buat 3 jenis larutan yaitu larutan b, standar dan sampel dengan mencampurkan bahan-bahan berikut.

| ZAT                             | TES B | TES St | TES S |
|---------------------------------|-------|--------|-------|
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 1 ml  | -      | -     |
| Filtrat St                      | -     | 1 ml   | -     |
| Filtrat S                       | -     | -      | 1 ml  |
| Biuret                          | 3 ml  | 3 ml   | 3 ml  |

2. Setelah ketiga jenis larutan telah dibuat, tunggu 10 menit. Lakukan analisis dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  546 nm, St = 4,2 (tergantung Batch)

$$F = \frac{C}{A} \quad \text{atau} \quad C = \frac{As}{Ast} \times 4,2 \text{ g/100ml}$$

Ket : C = Kadar albumin

A = Albumin

As = Kadar Albumin Sampel

ASt = Kadar Albumin Standar

### PEMERIKSAAN TOTAL PROTEIN

1. Buat 3 jenis larutan yaitu larutan b, standar dan sampel dengan mencampurkan bahan-bahan berikut.

| ZAT           | TES B | TES St  | TES S   |
|---------------|-------|---------|---------|
| Reagen Biuret | 3 ml  | 3 ml    | 3 ml    |
| Serum St      | -     | 0,05 ml | -       |
| Serum S       | -     | -       | 0,05 ml |

2. Setelah ketiga jenis larutan telah dibuat, tunggu 10 menit. Lakukan analisis dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  546 nm. Nilai standar = 6,35 (tergantung nomor batch).

#### **PERHITUNGAN NILAI GLOBULIN**

$$\text{Globulin} = \text{Total Protein} - \text{Albumin}$$

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

| <b>No.</b> | <b>Nama Pemeriksaan</b> | <b>Hasil</b> | <b>Nilai Rujukan</b> | <b>Satuan</b> |
|------------|-------------------------|--------------|----------------------|---------------|
| 1.         | Albumin                 |              | 3,8-5,4              | g/dL          |
| 2.         | Globulin                |              | 1,3- 3,3             | g/dL          |
| 3.         | Total Protein           |              | 6,2 – 8,4            | g/dL          |

## **PEMERIKSAAN GULA DARAH (DIABETES MELLITUS) DAN KREATININ (GANGGUAN FUNGSI GINJAL)**

### **A. PEMERIKSAAN GULA DARAH (DIABETES MELLITUS)**

#### **I. TUJUAN**

Untuk menentukan adanya glukosa di dalam darah

#### **II. PRINSIP**

Gula akan mereduksi  $K_3Fe(CN)_6$ . Sisa  $K_3Fe(CN)_6$  akan direaksikan dengan KI yang akan menghasilkan  $I_2$ .  $I_2$  yang dihasilkan dititer dengan  $Na_2S_2O_3$ . Dengan perhitungan kimia  $K_3Fe(CN)_6$  yang telah tereduksi dapat diperhitungkan yang setara dengan jumlah gula.

#### **III. TEORI**

Gula darah terdiri dari glukosa, fruktosa dan galaktosa. Tapi glukosa merupakan monosakarida yang paling dominan. Sedangkan fruktosa akan meningkat pada diet buah yang banyak dan galaktosa darah akan meningkat pada wanita hamil dan laktasi.

Pada laboratorium pemeriksaan gula darah banyak dilakukan mengingat kepentingan diagnostik klinik yang luas dalam bidang kedokteran. Dalam keadaan fisiologis kadar gula darah mempunyai variasi namun dipertahankan dalam batas normal, yang mana nilai tersebut tergantung kepada waktu setelah makan, jenis makanan dan termasuk metoda yang digunakan dalam pemeriksaan. Yang lazim sekarang digunakan adalah metoda enzimatik yang hanya mendeteksi glukosa darah.

Pada metoda non enzimatik, seperti metoda reduksi atau kalorimeter, selain glukosa zat-zat lain ikut terbaca, seperti fruktosa, galaktosa, vitamin C dan lain-lain. Nilai normal untuk true glukosa darah adalah 60-100 mg/100ml wholeblood dalam keadaan puasa (Nucter) minimal 10 jam, 70-110 dengan metoda Orto-Toluidin dan lebih tinggi lagi 80-120 mg dengan metoda reduksi. Metoda reduksi yang sering dipakai adalah metoda Hagedorn Jensen dibanding metoda Nelson atau

Samogy. Puasa 10 jam merupakan syarat yang penting dalam pemeriksaan glukosa darah, sebab hasil yang didapat lebih bermakna bila dibandingkan pemeriksaan sewaktu waktu (random)

Sumber glukosa dalam darah :

1. Usus

Gula darah akan meningkat setelah makan yang berasal dari usus tapi akan normal kembali setelah kurang lebih 2 jam

2. Glikogen

Glikogen merupakan cadangan karbohidrat dalam tubuh yang dengan cepat dapat dimobilisasi, bila kadar gula darah mulai menurun dalam sirkulasi, terutama untuk kepentingan energi tubuh pada waktu lapar.

3. Asam lemak

Lemak merupakan cadangan berikutnya setelah glikogen. Melalui proses lipolisis yang kemudian masuk jalur glukoneogenesis yang akhirnya menjadi glukosa.

4. Protein

Protein digunakan untuk keperluan energi akan terjadi pada kelaparan yang telah lanjut. Melalui proses deaminasi asam amino akan terbentuk glukosa baik asam amino ketogenik ataupun glukogenik.

Pemakaian gula darah

1. Gula darah merupakan sumber energi yang paling aktif digunakan oleh tubuh melalui glikolisis lengkap (Embden Meyerhof, Krebs cycle).
2. Selain untuk energi, glukosa disintesa menjadi asam lemak melalui malonil pathway dan kemudian dengan gliserol akan membentuk trigliserida.
3. Disamping glukosa disimpan sebagai lemak cadangan melalui lipogenesis, glukosa dapat juga digunakan sebagai bahan dasar untuk sintesa asam amino nonesensial melalui proses aminasi asam keto.

4. Glukosa juga dapat disintesa menjadi bahan aktif lain seperti golongan glikolipid atau glikoprotein dan lain lain.
5. Sebaliknya bila pemakaian glukosa mengalami hambatan seperti kekurangan insulin atau reseptor pada dinding sel akan berakibat meningkatnya gula darah yang disebut hiperglikemi, bila kadar gula tersebut telah melewati ambang kemampuan ginjal, akan keluar ke urin sebagai glikosuria.

#### **IV. PROSEDUR KERJA**

##### **4.1 Alat dan bahan**

###### 4.1.1 Alat

1. Buret micro 2 ml
2. Tes tube
3. Blood lancet
4. Kapas,funel
5. Penangas air (waterbath)

###### 4.1.2 Bahan

1. Zincsulfat 0,45%
2. NaOH 0,1N
3.  $K_3Fe(CN)_6$  0,005N
4. KI
5. Asetic acid
6. Amilum
7.  $Na_2S_2O_3$  0,005N

##### **4.2 Cara kerja**

1. Campur NaOH dengan  $ZnSO_4$  dalam testube masing masing 1 ml dan 5 ml.
2. Tambahkan 0,1 ml darah kapiler, campur, lalu rebus selama 4 menit.
3. Saring dan cuci dengan aquadest melalui saringan kapas (2x3 ml), air cucian masukan ke filtrat.

4. Filtrat ditambah dengan 2 ml  $K_3Fe(CN)_6$  rebus selama 15 menit, dinginkan lalu tambah 3 ml KI dan 2 ml acetic acid .
5. Tambahkan 2-3 tetes amilum lalu titer dengan Na tiosulfat.
6. Blanko dibuat sama tapi tanpa darah, perlakuan yang lain sama.
7. Catat  $Na_2S_2O_3$  terpakai, kadar gula lihat tabel (sampel-blanko).

#### **4.3 Fungsi reagen**

Campuran Zinculfat dan NaOH merupakan pengendap protein sebab mengganggu reaksi kimia. Amilum berfungsi sebagai indikator yang bewarna biru dengan  $I_2$ .

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

| Jenis Pemeriksaan   | Hasil | Nilai Rujukan | Satuan |
|---------------------|-------|---------------|--------|
| Glukosa darah puasa |       | 80 – 109      | mg/dl  |
| Glukosa darah 2 jam |       | 100 - 144     | mg/dl  |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |

## **B. PEMERIKSAAN KREATININ DARAH**

### **I. TUJUAN**

Untuk mengetahui adanya kreatinin di dalam darah.

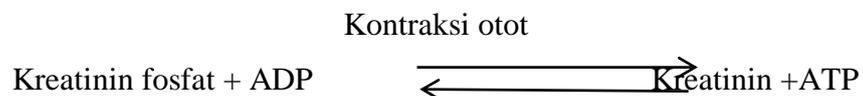
### **II. PRINSIP**

Yang sering digunakan adalah metoda Jaffe, yaitu pembentukan kreatinin pikrat yang berwarna merah, bila kreatinin direaksikan dengan pikrat alkalis. Warna yang terbentuk diukur dengan fotometer atau spektrofotometer pada 520 nm. Kalkulasi dihitung dengan membandingkan absorbance sampel dan standart yang telah diketahui kadarnya.

Harga normal untuk metoda ini adalah 0,6 – 1,1 mg/100 ml serum dan 0,7 -1,5/100 ml whole blood. Untuk pemeriksaan kreatinin harus dilakukan deproteinisasi yaitu menggunakan Na tungstat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> . filtrat disebut dengan filtrat bebas protein (FBP) atau lebih populer dengan filtrat folin wu. Filtrat juga bisa digunakan untuk pemeriksaan asam urat.

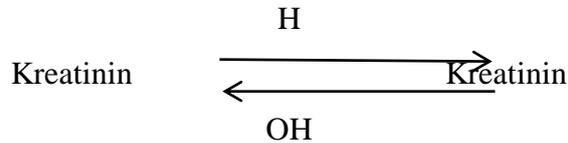
### **III. TEORI**

Kreatinin merupakan hasil pemecahan kreatinin fosfat dalam otot. Pada pemecahan ini akan dihasilkan kreatinin dan energi fosfat (Pi). Jadi kreatinin fosfat merupakan salah satu senyawa carier energi. Carier energi yang lain 1.2-bifosfogliserat, fosfoenolpiruvat, asetil CoA, dll.



Kreatinin tergolong non protein nitrogen yang secara kontinu diekskresikan ke urin. Jumlah ekskresi per 24 jam dipengaruhi oleh massa otot dan kontraksinya. Pada keadaan normal tubuli ginjal aktif mengekskresi kreatinin dan jumlahnya akan ditambah dengan kreatinin yang berasal dari darah. Jadi peranan diagnostik kreatinin darah

berfungsi ganda yakni terhadap faal ekskresi ginjal dan kontraksi otot. Pada penelitian dengan menggunakan teknik radioisotop  $N_{13}$  pada kreatinin berasal dan asam amino arginin, glisin dan metionin.



Creatinin clearance, untuk menilai faal ekskresi tubuli ginjal adalah kemampuan ginjal mengekskresikan kreatinin per menit. Dihitung dengan mengukur volume darah atau plasma yang dibersihkan dan sejumlah kreatinin yang diekskresikan ke dalam urin per menit (ml/menit)

#### IV. PROSEDUR KERJA

##### 4.1 Alat dan bahan

###### 4.1.1 Alat

1. Centrifuges aparatus
2. Tabung centrifuges
3. Spektrofotometer

###### 4.1.2 Bahan

1. Na tungstat 10%
2.  $H_2SO_4$  0,006 N
3. FBP

##### 4.2 Cara kerja

*Teknik membuat FBP cara Folin Wu*

1. Gunakan tabung sentrifuge
2. Masukkan 1 ml serum darah
3. Tambahkan aquadest 7 ml
4. Tambahkan 1 ml Na tungstat 10% campur 3 menit, tunggu 5 menit
5. Tambahkan 1 ml  $H_2SO_4$  0,006 N, disentrifus 15 menit dengan 1500 rpm

Mengambil filtrat harus hati hati jangan sampai keruh. Bila menggunakan serum standart juga dibuat FBP nya. Bila digunakan standart murni juga diberlakukan sama tanpa deproteinisasi, karena standart murni tidak mengandung protein. Kemudian sediakan 3 buah test tube dengan label B,S dan St

*Cara membuat pikrat alkalis*

Campur pikrat alkalis jenuh dengan NaOH 10% 7:1 Sampel dan standart dibaca dengan spektrofotometer

*Cara membuat FO*

Air + Na tungstat + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan perbandingan 8 : 1 : 1. Tujuan supaya PH sama dengan sampel

*Skema kerja*

| Reagensia          | Blank | Standart | Sampel |
|--------------------|-------|----------|--------|
| FO                 | 2 ml  | -        | -      |
| FBP serum standart | -     | 2 ml     | -      |
| FBP serum sampel   | -     | -        | 2 ml   |
| Pikrat alkalis     | 1 ml  | 1 ml     | 2 ml   |

$$C = \frac{As}{Ast} \times C St \text{ mg\%}$$

St = Nilai standart serum

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN**  
**(PRODIA)**

| Jenis Pemeriksaan | Hasil | Nilai Rujukan | Satuan |
|-------------------|-------|---------------|--------|
| Kreatinin         |       | 0.70 – 1.20   | mg/dl  |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |

## **PEMERIKSAAN KOLESTEROL DARAH (HIPERLIPIDEMIA)**

### **A. METODA LIBERMAN BURCHARD (LB)**

#### **I. TUJUAN**

Untuk menentukan adanya kolesterol dalam darah.

#### **II. PRINSIP**

Kolesterol dengan acetic anhydride dan asam sulfat pekat pada temperature kamar membentuk senyawa bewarna hijau tua. Dengan ini cara ekstraksi dan deproteinisasi dapat ditiadakan.

#### **III. TEORI**

Kolesterol merupakan senyawa lemak kompleks yang dihasilkan oleh tubuh dengan bermacam-macam fungsi, antara lain untuk membuat hormon seks, hormon korteks adrenal, vitamin D, dan untuk membuat garam empedu yang membantu usus untuk menyerap lemak. Jadi, bila takarannya pas atau normal, kolesterol adalah lemak yang berperan penting dalam tubuh. Namun, jika terlalu banyak, kolesterol dalam aliran darah justru berbahaya bagi tubuh.

#### **IV. PROSEDUR KERJA**

##### **4.1 Alat**

- Spektrofotometer atau filter fotometer
- Kuvet
- Tabung reaksi

##### **4.2 Bahan**

- Reagensia pewarna (campuran asam asetat glacial dengan asam asetat anhidrat)
- Standard kolesterol atau serum kolesterol
- Serum sampel
- Asam sulfat konsentrid pa

### 4.3 Cara Kerja

| Zat           | Test Blank | Test Serum Standar | Test Serum Sampel |
|---------------|------------|--------------------|-------------------|
| Serum standar | -          | 0,05 ml            | -                 |
| Serum sampel  | -          | -                  | 0,05 ml           |
| Aqua          | 0,05 ml    | -                  | -                 |
| Pewarna       | 3 ml       | 3 ml               | 3 ml              |

Campur , tunggu 20 menit kemudian tambahkan masing-masing test 0,5 ml asam sulfat konsentrit pada dinding tabung tepat diatas cairan, segera setelah penambahan asam sulfat , laulu dinginkan dalam beaker yang berisi air dingin 15-25°C, tunggu 5 menit dan kocok sekaligus ketiga test, kemudian baca setelah 10 menit denga 610 nm atau 560-580 nm bila pakai filter.

$$C = As/Ast \times \text{konsentrasi standart (lihat batch)}$$

**Ket : As = Absorban sample**

**Ast = Absorban standar**

#### **Catatan :**

Berhubungan reaksinya sangat sensitive terhadap kelembapan, maka pergunakanlah pipet dan alat-alat gelas yang bersih dan kering. Serum yang mengandung bilirubin akan memberikan nilai yang lebih besar , 1 mg/ 100 ml bilirubin menghasilkan kenaikan nilai kolesterol sebesar 5-6 mg/ 100 ml serum. Jangan menggunakan serum yang sudah terhemolisis.

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

| <b>Jenis Pemeriksaan</b> | <b>Hasil Pengamatan</b> | <b>Nilai Rujukan</b> | <b>Satuan</b> | <b>Ket</b> |
|--------------------------|-------------------------|----------------------|---------------|------------|
| Kolesterol               |                         | < 200                | mg/ dL        |            |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |

## **B. METODA CHOD-PAP**

### **I. TUJUAN**

Untuk menentukan adanya kolesterol dalam darah.

### **II. PRINSIP**

Kolesterol total ditetapkan dengan reaksi ester kolesterol dihidrolisis, gugus 3- OH kolesterol dioksidasi, kemudian hydrogen peroxide yang merupakan salah satu hasilreaksi ditetapkan secara enzimatis. Absorbansi warna diukur pada panjang gelombang 500 nm.

### **III. TEORI**

Kolesterol adalah suatu molekul lemak di dalam sel dibagi menjadi LDL, HDL, total kolesterol dan trigliserida. Kolesterol sebenarnya merupakan salah satu komponen lemak. Seperti kita ketahui, lemak merupakan salah satu zat gizi yang sangat diperlukan oleh tubuh kitadisamping zat gizi lain seperti karbohidrat, protein, vitamin dan mineral. Lemak merupakan salah satu sumber energi yang memberikan kalori paling tinggi. Disamping sebagai salah satu sumber energi, sebenarnya lemak atau khususnya kolesterol memang merupakan zat yang sangat dibutuhkan oleh tubuh kita terutama untuk membentuk dinding sel-sel dalam tubuh.

### **IV. PROSEDUR KERJA**

#### **4.1 Alat**

- Spektrofotometer
- Kuvet
- Pipet piston
- Sentrifuga

#### **4.2 Bahan**

- Reagensia
- Standard kolesterol atau serum kolesterol

- Serum sampel
- Aquades

### 4.3 Cara Kerja

| Zat           | Test Blank (µl) | Serum Standar (µl) | Serum Sampel(µl) |
|---------------|-----------------|--------------------|------------------|
| Serum standar | -               | 10                 | -                |
| Serum sampel  | -               | -                  | 10               |
| Aqua          | 10              | -                  | -                |
| Reagen        | 1000            | 1000               | 1000             |

Campur , lalu inkubasi selama 20 menit pada suhu ruang. Kemudian baca absorbansi sampel. Hitung konsentrasi kolesterol dalam sampel.

$$C = A_s/A_{st} \times \text{konsentrasi standart (lihat batch)}$$

**Ket :  $A_s$  = Absorban sample**

**$A_{st}$  = Absorban standar**

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

| <b>Jenis Pemeriksaan</b> | <b>Hasil Pengamatan</b> | <b>Nilai Rujukan</b> | <b>Satuan</b> | <b>Ket</b> |
|--------------------------|-------------------------|----------------------|---------------|------------|
| Kolesterol               |                         | < 200                | mg/ dL        |            |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |

## PEMERIKSAAN TRANSAMINASE SERUM (GANGGUAN FUNGSI HATI)

### I. TUJUAN

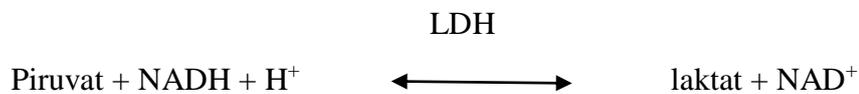
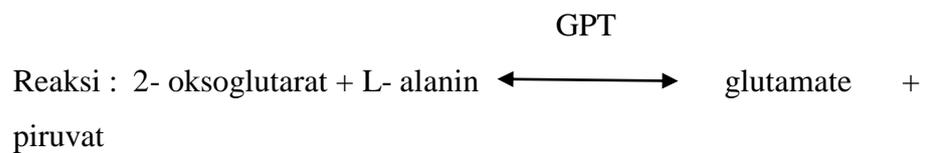
Untuk menentukan adanya enzim transaminase dalam serum.

### II. PRINSIP

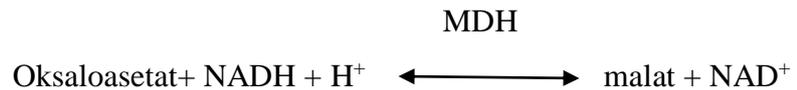
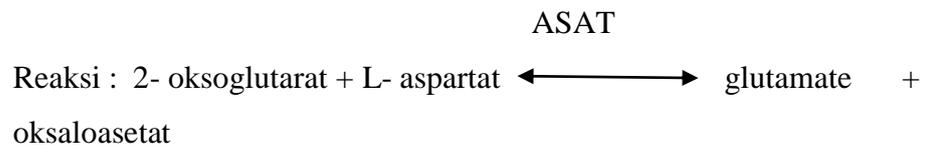
Pemeriksaan enzim transaminase yang direkomendasikan oleh IFCC (International Federation Clinical Chemistry) yaitu teknik UV kinetic pada 340 nm.

#### 2. 1 SGPT

Enzim yang ada pada serum pasien mengkatalisir reaksi antara oksoglutarat dengan L-alanin membentuk glutamate dan piruvat . piruvat yang terbentuk bereaksi dengan NADH yang akan membentuk laktat dan NAD. Berkurangnya NADH akan  $\Delta$ sebanding dengan aktifitas GPT yang dapat dilihat dari A setelah 1 menit reaksi berlangsung.



## 2.2 SGOT

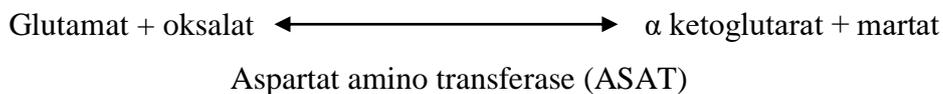


### III. TEORI

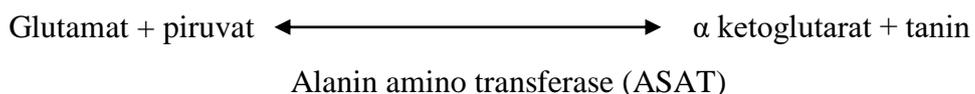
Enzim transaminase adalah enzim intrasel yang berfungsi mengkatalisir reaksi pemindahan (gugusan amino (NH<sub>2</sub>)) dan suatu asam amino sehingga terbentuk turunan asam keto yang baru dan disamping itu terbentuk pula asam amino baru.

Contoh :

Glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT)



Glutamat piruvat transaminase (SGPT)



- SGOT = ASAT (AST) = aspartat amino transferase = OT
- SGOT banyak terdapat di mitokondria dan sitoplasma
- SGPT = ALAT (ALT) = alanin amino transferase = PT
- SGPT banyak terdapat dalam sitoplasma

Pada prinsipnya semua sel mengandung enzim ini namun yang mayoritas adalah sel hati, jantung dan otak. Pada keadaan adanya nekrosis sel yang hebat, perubahan permeabilitas membrane atau kapiler enzim ini akan bocor ke sirkulasi. Sebab itu enzim ini akan meningkat jumlahnya pada keadaan nekrosis sel atau adanya

radang akut atau kronis. Jika terjadi peningkatan SGPT atau SGOT biasanya diaplikasikan pada penyakit hati, infark miokard, trauma otot hepar, dan lain-lain

#### **IV. PROSEDUR KERJA**

##### **4.1 Alat**

- Spektrofotometer atau filter fotometer
- Kuvet
- Tabung reaksi

##### **4.2 Bahan**

- Reagen solution = reagen 1
- Reagen start = reagen 2
- Serum sampel

##### **4.3 Cara Kerja**

- **SGPT**

Campur reagen 1 dan reagen 2 dengan perbandingan 4 ; 1, berarti 1 botol reagen solution ditambah dengan reagen start. Setelah dicampur disebut reagen solution campur.

1. 50  $\mu$  l serum + 500  $\mu$  l reagen solution campur, setelah itu kurang lebih satu menit baca A kemudian baca tiap menit selama 3 menit. Atau baca setelah 3 menit langsung

2. Hasil

Hasil =  $\Delta$  A/ menit x 1746 U/ I (sebaiknya cari factor baru dengan serum kontrol)

- **SGOT**

Campur reagen 1 dan reagen 2 dengan perbandingan 4 ; 1, berarti 1 botol reagen solution ditambah dengan reagen start. Setelah dicampur disebut reagen solution campur.

1. 50  $\mu$  l serum + 500  $\mu$ l reagen solution campur, setelah itu kurang lebih satu menit baca A kemudian baca tiap menit selama 3 menit. Atau baca setelah 3 menit langsung

2. Hasil

Hasil =  $\Delta$  A/ menit x 1746 U/ I (sebaiknya cari factor baru dengan serum kontrol)

**LEMBAR HASIL PENGAMATAN  
(PRODIA)**

| <b>Jenis Pemeriksaan</b> | <b>Jenis kelamin</b> | <b>Hasil Pengamatan</b> | <b>Nilai Rujukan</b> | <b>Satuan</b> | <b>Ket</b> |
|--------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|---------------|------------|
| SGPT                     | Pria                 |                         | 9- 43                | Unit/l        |            |
|                          | Wanita               |                         | 9- 36                | Unit/l        |            |
| SGOT                     | Pria                 |                         | 10-35                | Unit/l        |            |
|                          | Wanita               |                         | 10-31                | Unit/l        |            |

**LEMBAR KERJA PERCOBAAN**

**Topik :**

**Nama :**

**Tanggal :**

**BP :**

**Asisten :**

**Kelompok :**

| <b>Percobaan</b> | <b>Pengamatan</b> |
|------------------|-------------------|
|                  |                   |