

Modul Praktikum



MODUL PRAKTIKUM BIOKIMIA II



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SYIAH KUALA**
Tahun Ajaran Genap 2019/2020

LEMBAR PENGESAHAN

MODUL KEGIATAN PRAKTIKUM BIOKIMIA PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER



Banda Aceh, 20 Juli 2020
Koordinator Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala



dr. Rima Novirianthy, Sp.Onk.Rad
NIP. 198111232008012016

MODUL KEGIATAN PRAKTIKUM

BIOKIMIA II

Edisi Kedua

Copyright ©2019

Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

Cetakan Pertama: Februari 2019

Diterbitkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

Semua hak cipta terpelihara

Penerbitan ini dilindungi oleh Undang-undang Hak Cipta dan harus ada izin oleh penerbit sebelum memperbanyak, disimpan, atau disebar dalam bentuk elektronik, mekanik, foto kopi, dan rekaman atau bentuk lainnya.

**TIM PENYUSUN
MODUL KEGIATAN PRAKTIKUM BIOKIMIA
FK UNSYIAH**

dr. Sakdiah, M.Sc
Bagian Biokimia
Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

dr. Siti Hajar, M.Kes, M.Ked(Oph),SpM
Bagian Biokimia – Ilmu Kesehatan Mata
Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

Dr. drh. Al-Azhar, M.Kes
Bagian Biokimia
Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

Dr. Sofia, S.Si, M.Sc
Bagian Biokimia
Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

dr. Juwita, M.Biomed
Bagian Biokimia
Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

KATA PENGANTAR

Pendidikan metode *Problem Based Learning (PBL)* dilaksanakan dengan pendekatan utama berpusat pada aktivitas belajar secara mandiri oleh praktikan, terstruktur dengan baik, berdasarkan masalah nyata, terintegrasi, berbasis masyarakat dan pendekatan klinis yang terintegrasi sejak awal. Metode ini juga dapat menghasilkan kemampuan komunikasi dan keterampilan belajar yang optimal, sejak pendidikan hingga tahap profesi dalam memberi pelayanan sebagai dokter di masa depan. Hal tersebut dapat dicapai dengan adanya penyusunan pemetaan kurikulum yang berkesinambungan. Pelaksanaan metode *PBL* diharapkan dapat menghasilkan dokter layanan primer/keluarga yang profesional, serta mampu mengembangkan, menerapkan serta mengikuti perkembangan ilmu kedokteran mutakhir.

Pelaksanaan Kurikulum Berbasis Kompetensi (KBK) di Indonesia menggunakan metode *PBL* berpedoman pada SK Menteri Kesehatan No. 1457/MOH/SK/X/2003, dan SK Konsil Kedokteran Indonesia (KKI) tentang Standar Kompetensi Dokter yang diterbitkan pada April 2006. Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala telah menjalankan kurikulum ini sejak tahun akademik 2006/2007 dan terus meningkatkan pengembangan kurikulumnya hingga saat ini. Sejalan dengan pengembangan kurikulum, kegiatan pembelajaran melalui praktikum harus terus ditingkatkan. Kegiatan praktikum merupakan salah satu proses yang harus dijalankan mahasiswa dalam kurikulum ini. Praktikum diharapkan mampu memberikan pembelajaran nyata bagi mahasiswa untuk menerapkan teori yang didapatkan di dalam kelas ke bentuk eksperimen langsung pada topik yang telah disusun.

Praktikum Biokimia merupakan salah satu kegiatan pembelajaran yang disusun berdasarkan daftar kompetensi yang harus dicapai bagi sarjana kedokteran dan kesehatan. Mahasiswa dengan bimbingan dosen melakukan pengujian teori biokimia yang diberikan di ruang kelas oleh dosen melalui praktik sains langsung di laboratorium. Kegiatan praktikum biokimia sangat diperlukan dalam mendukung dan memperdalam pemahaman mahasiswa di bidang ilmu biokimia. Akhir kata, besar harapan modul praktikum biokimia II ini dapat membantu mahasiswa mencapai tujuan belajar yang maksimal.

Banda Aceh, Februari 2019

D e k a n,

Prof. Dr. dr. Maimun Syukri, Sp.PD-KGH
NIP. 196112251990021001

PETUNJUK UMUM

1. Praktikan harus bekerja dengan disiplin, sungguh-sungguh, cermat dan teliti untuk mencapai keberhasilan dan terhindar dari kecelakaan dalam laboratorium.
2. Reagen yang sudah digunakan harus disimpan dalam wadah tertutup rapat.
3. Reagen yang tidak jernih harus disaring terlebih dahulu sebelum digunakan.
4. Reagen harus ditambah sedemikian banyaknya sesuai petunjuk penuntun praktikum sehingga peristiwa yang ditimbulkan (mengendap, melarut atau menguap) terhenti dengan sendirinya.
5. Larutan dan endapan yang mengandung iodium, natrium, dan argentum tidak boleh dibuang, tapi harus dimasukkan ke dalam botol yang sudah disediakan untuk itu.
6. Semua alat sebelum digunakan harus dicuci bersih.
7. Pengambilan bahan kimia berbentuk kristal atau tepung harus menggunakan sendok porselin yang bersih.
8. Jagalah kemurnian bahan kimia yang digunakan. Hindari menggunakan satu pipet untuk beberapa bahan kimia karena akan mencemari bahan kimia tersebut.
9. Jangan biarkan meja tempat bekerja dipenuhi dengan alat-alat.
10. Botol reagen harus dalam keadaan tertutup dan tersusun rapi setiap selesai dipergunakan.
11. Setiap selesai praktikum, praktikan diwajibkan mencuci, memeriksa dan menyerahkan alat kepada petugas untuk diperiksa keutuhannya.
12. Setelah kegiatan praktikum selesai, meja praktikum harus dibersihkan dan bangkunya disusun rapi kembali.
13. Bahan kimia yang sudah dipakai jangan dibuang ke dalam bak (wastafel), tetapi harus dikumpulkan di suatu tempat untuk dibuang keluar.
14. Mintalah selalu petunjuk kepada pembimbing atau asisten untuk kegiatan praktikum yang kurang jelas.

TATA TERTIB PRAKTIKUM BIOKIMIA

1. Praktikan harus hadir tepat waktu. Bila terlambat lebih dari 10 menit, praktikan tidak diperbolehkan lagi mengikuti praktikum tersebut.
2. Praktikan diwajibkan memakai jas praktikum (memakai dan membuka jas harus diluar laboratorium) dengan rapi.
3. Praktikan harus menyediakan sendiri perlengkapan praktikum berupa korek api, kain lap, tissue, pipet tetes dan sikat tabung reaksi.
4. Setiap kali akan praktikum, diadakan pretes. Bahan yang diuji berhubungan dengan praktikum yang akan dikerjakan.
5. Setiap kali akan praktikum, para praktikan harus membuat rencana kerja terlebih dahulu.
6. Pengamatan tentang jalannya praktikum harus dicatat dalam lembar pengamatan. Berdasarkan data tersebut disusun laporan praktikum yang harus diserahkan paling lambat di hari praktikum berikutnya. Praktikan yang tidak dapat menyerahkan laporan di saat praktikum berikutnya tidak dapat mengikuti praktikum di hari tersebut.
7. Di saat praktikum, praktikan tidak boleh meninggalkan ruang praktikum tanpa seizin dosen/pembimbing praktikum.
8. Praktikum harus selalu dihadiri (wajib hadir).
9. Apabila praktikan merusak atau menghilangkan alat laboratorium dengan alasan apapun diwajibkan mengganti dengan bentuk yang sama.
10. Praktikan yang melanggar tata tertib praktikum tidak dibenarkan mengikuti ujian final praktikum.

KEAMANAN DI LABORATORIUM BIOKIMIA

Setiap orang yang bekerja di laboratorium wajib mencegah terjadinya kecelakaan, baik terhadap dirinya sendiri maupun terhadap lingkungan sekitarnya. Sumber-sumber kecelakaan adalah:

1. Zat kimia agresif. Zat ini merusak pakaian, kulit dan dapat menimbulkan luka bakar. Zat seperti ini adalah asam keras (H_2SO_4 , HCl , HNO_3 , HF , dll) dan basa keras (KOH , $NaOH$, dll).
2. Gas-gas beracun seperti Lampu Gal, H_2S , HCN , CO dan NO_2
3. Hati-hati dengan zat yang mudah terbakar seperti alkohol, eter, benzene, kloroform dan pembakar spiritus.
4. Bila terjadi kebakaran, maka tindakan yang harus diambil adalah:
 - a. Matikan/tutup semua aliran gas, sumber gas atau listrik
 - b. Padamkan api dengan kain tebal/goni yang basah atau dengan alat pemadam api
 - c. Dilarang keras memakai air keran untuk memadamkan api yang timbul karena akan membakar zat-zat organik
 - d. Kadang-kadang pemadaman dapat dilakukan dengan pasir
5. Bila ada orang yang terbakar, teman sekitarnya harus mematikan api dengan kain tebal yang basah. Orang yang terbakar jangan berlari kemana-mana untuk menyebarkan nyala api.
6. Bagian tubuh yang terbakar oleh api tidak boleh dicuci dengan air tetapi harus diberi salep bakar, bubuk bismut atau mentega dan kemudian dibalut.
7. Bila terkena asam/basa keras harus dicuci dengan air sebanyak-banyaknya atau zat lain yang dapat menetralkan asam/basa tersebut. Bila lukanya besar dan berbahaya segera dibawa ke dokter.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iv
PETUNJUK UMUM	v
TATA TERTIB PRAKTIKUM	vi
KEAMANAN DI LABORATORIUM.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
BAB I AIR SENI	1
1.1 Dasar Teori.....	1
1.1.1 Sifat Urine Normal	1
1.1.2 Zat Normal dalam Urine.....	2
1.1.3. Zat Abnormal dalam Urine.....	5
1.2 Percobaan Urine.....	6
1.2.1 Cara Pengumpulan Urine	7
1.2.2 Pemeriksaan Sifat Urine	7
1.2.3 Menunjukkan Adanya Garam Amonium	8
1.2.4 Menunjukkan Adanya Belerang	8
1.2.5 Menunjukkan Adanya Kreatinin	9
1.2.6 Menunjukkan Adanya Glukosa	10
1.2.7 Menunjukkan Adanya Protein.....	11
1.2.8 Menunjukkan Adanya Zat Keton	12
1.2.9 Menunjukkan Adanya Urea.....	12
1.2.10 Menunjukkan Adanya Empedu dan Garam Empedu	13
1.3 Lembar Pengamatan.....	15
BAB II URINE KUANTITATIF.....	23
2.1 Dasar Teori	23
2.1.1 Penetapan Kadar Asam Urat	23
2.1.2 Penetapan Kadar Kreatinin Urine.....	24
2.2 Lembar Pengamatan	26
DAFTAR PUSTAKA	30

1

AIR SENI

1.1 DASAR TEORI

Air seni atau urine merupakan cairan jernih agak kuning, berbau khas, dan bereaksi agak asam, yang dihasilkan oleh ginjal melalui proses filtrasi, reabsorpsi, dan ekskresi. Urine mengandung banyak zat hasil metabolisme yang dikeluarkan dari tubuh. Pada beberapa penyakit, kadar suatu zat yang biasa terdapat dalam urine mungkin dikeluarkan dalam jumlah sangat besar atau sangat sedikit. Oleh karena itu, penetapan kuantitatif susunan urine sangat penting dalam klinis.

1.1.1 Sifat Urine Normal

a. Volume

Pada orang dewasa, setiap hari urine diproduksi 600-2500 ml. Volume urine tergantung pada asupan air, suhu lingkungan, makanan, keadaan fisik dan mental.

b. Berat Jenis

Berat jenis urine normal berkisar 1,003 – 1,030, tergantung zat terlarut di dalamnya. Berat jenis urine dipengaruhi oleh volume dan susunan urine. Dua (2) angka terakhir dari berat jenis urine (angka desimal kedua dan ketiga) dikalikan dengan 2,6 (Koefisien Long) menyatakan jumlah zat padat total dalam gram per liter. Pada urine 24 jam dengan volume 1200 ml, kira-kira berat jenisnya adalah 50 gram.

c. Reaksi

Urine bersifat asam dengan pH sekitar 6,0 (4,7 – 8,0). Keasaman urine meningkat jika asupan protein tinggi, antara lain pada keadaan asidosis dan demam. Urine dapat bereaksi basa akibat perubahan urea menjadi amoniak dengan melepaskan CO₂. Pada keadaan alkalosis, urine juga bersifat basa.

d. Warna

Urine normal berwarna kuning pucat sampai kuning. Warna urine berubah menurut konsentrasi dan volumenya. Zat warna yang terdapat pada urine adalah urokrom, urobilin, dan hematoporfirin.

Pada keadaan demam, urine dapat berwarna kuning tua atau kecoklatan. Pada penyakit hati, pigmen empedu dapat mewarnai urine sehingga urine berwarna kelabu sampai merah. Obat tertentu juga dapat mewarnai urine.

Urine normal biasanya transparan. Pada urine yang alkalis, dapat terjadi kekeruhan akibat endapan kalsium fosfat. Urine yang sangat asam akan mengendapkan garam asam urat yang berwarna kemerahan.

e. Bau

Urine segar berbau khas. Bau urine dapat berubah akibat pengaruh zat yang diekskresikan dan makanan. Pada keadaan ketosis, akan tercium bau aseton yang dikeluarkan dalam urine.

1.1.2 Zat Normal dalam Urine

a. Urea

Urea merupakan hasil akhir utama dari proses katabolisme protein pada mamalia. Ekskresinya berhubungan langsung dengan asupan protein. Dalam keadaan normal, diekskresikan sekitar 25 g urea per hari (80-90% dari seluruh senyawa nitrogen yang dikeluarkan lewat urine). Ekskresi urea meningkat pada beberapa keadaan yang disertai dengan peningkatan katabolisme protein seperti demam, diabetes, atau peningkatan berlebihan dari aktivitas korteks adrenal. Sekresi urea dari urine menurun pada asidosis dan penyakit hati yang berat.

b. Amonia

Jumlah amonia dalam urine normal sangat sedikit. Kadar amonia urine menurun pada kondisi asidosis, namun meningkat pada keadaan ketosis dan diabetes mellitus.

c. Kreatinin

Kreatinin merupakan hasil akhir pemecahan kreatin. Koefisien kreatinin adalah jumlah miligram kreatinin yang dikeluarkan melalui urine dalam 24 jam per kilogram berat badan.

d. Kreatin

Kreatin terdapat pada urine bayi dan sangat sedikit pada urine orang dewasa normal. Ekskresi kreatin pada pria sekitar 6% dari Total Output (keluaran) kreatin. Pada wanita, ekskresi kreatin lebih bervariasi (2,0 – 2,5 kali dibanding pria). Ekskresi kreatin meningkat pada wanita hamil dan pada keadaan patologi tertentu seperti kelaparan, kegagalan metabolisme karbohidrat, hipertiroidisme, miopati, dan infeksi. Ekskresi kreatin menurun pada keadaan hipotiroidisme.

e. Asam Urat

Asam urat merupakan hasil akhir terpenting oksidasi purin dalam tubuh. Purin berasal dari nukleoprotein makanan dan hasil pemecahan nukleoprotein sel tubuh. Ekskresi asam urat meningkat pada keadaan leukemia, hepatitis, dan pirai (gout).

f. Asam Amino

Pada orang dewasa, hanya sekitar 150-200 mg asam amino yang dikeluarkan dalam waktu 24 jam melalui urine. Pengeluaran asam amino meningkat pada hepatitis dan beberapa keadaan keracunan (kloroform dan karbon tetraklorida).

g. Alantoin

Alantoin berasal dari oksidasi parsial asam urat dan hanya sedikit sekali dijumpai di dalam urine manusia.

h. Klorida

Klorida terutama dikeluarkan sebagai natrium klorida (NaCl). Sebagian besar klorida yang dibentuk berasal dari NaCl makanan, sehingga

pengeluarannya bervariasi menurut asupan garam. Dalam keadaan normal, jumlah NaCl yang dikeluarkan sekitar 9 – 16 g/hari.

i. Sulfat

Sulfat urine terutama berasal dari hasil metabolisme protein yang mengandung asam amino bersulfat (mengandung sulfat) seperti metionin, sistein, dan sistin. Ekskresi sulfat dalam urine bervariasi menurut asupan protein.

j. Fosfat

Fosfat urine berikatan dengan natrium, kalium, kalsium, dan magnesium. Garam kalsium dan magnesium fosfat akan mengendap pada urine alkalis. Makanan, khususnya protein, mempengaruhi fosfat. Ekskresi fosfat meningkat pada penderita penyakit sumsum tulang dan hiperparatiroidisme, namun menurun pada penderita penyakit ginjal. infeksi, dan hipoparatiroidisme.

k. Oksalat

Jumlah oksalat dalam urine biasanya rendah, namun meningkat pada penyakit metabolik tertentu (hiperoksaluria).

l. Mineral

Ion Na⁺, K⁺, Ca²⁺, dan Mg²⁺ merupakan 4 kation cairan ekstrasel yang ditemukan di dalam urine. Kandungan Na⁺ berbeda menurut kebutuhan fisiologi. Kalium urine meningkat jika asupannya meningkat, pada katabolisme jaringan yang hebat, dan pada alkalosis. Ekskresi Na⁺ dan K⁺ juga dikendalikan oleh aktivitas korteks adrenal. Kadar Ca²⁺ dan Mg²⁺ urine relatif rendah, namun dapat berubah pada kondisi patologi tertentu seperti kelainan metabolisme tulang.

m. Vitamin, Hormon, dan Enzim

Vitamin, hormon, dan enzim ditemukan sangat sedikit di dalam urine. Adanya senyawa ini penting untuk mendiagnosis penyakit tertentu. Amilase

dan disakaridase meningkat pada penyakit pankreatitis. Hormon khoriogonadotropin ditemukan pada urine wanita hamil.

1.1.3 Zat Abnormal dalam Urine

a. Protein

Urine normal sangat sedikit mengandung protein, yaitu 30-200 mg per hari. Peningkatan ekskresi protein dalam urine disebut proteinuria. Ini dapat terjadi pada kebocoran ginjal, misalnya akibat glomerulonefritis.

b. Glukosa

Dalam keadaan normal, kadar glukosa urine tidak lebih dari 1 g sehari, dan dengan uji Benedict akan menunjukkan hasil negatif. Peningkatan kadar glukosa urine disebut glukosuria, yang dapat ditemukan pada kondisi diabetes mellitus (kencing manis).

c. Gula Lain

Pada penyakit tertentu, yang umumnya bersifat genetik, dapat ditemukan gula selain glukosa di dalam urine, yaitu:

1. Fruktosa

Kondisi yang disebut fruktosuria ini umumnya merupakan penyakit genetik.

2. Galaktosa

Keadaan ini disebut galaktosuria, dan umumnya bersifat genetik.

3. Laktosa

Keadaan yang disebut laktosuria ini terjadi pada wanita yang sedang laktasi.

4. Pentosa

Kondisi ini disebut pentosuria, dan terjadi jika seseorang banyak mengonsumsi makanan yang tinggi kandungan pentosa.

5. Benda Keton (Aseton, Asam Asetoasetat, dan Asam Betahidroksi Isobutirat).

Pada keadaan normal, urine hanya mengandung 3-15 mg benda keton per hari. Ekskresi benda keton meningkat pada saat kelaparan, gangguan metabolisme karbohidrat tertentu (misalnya diabetes mellitus), kehamilan,

pemberian anestesi eter, dan pada keadaan asidosis tertentu. Adanya benda keton dalam urine akan menimbulkan bau khas, yaitu bau aseton.

d. Bilirubin dan Garam Kolat

Bilirubin dan garam kolat akan terdapat di dalam urine jika terjadi sumbatan di saluran empedu, sehingga empedu banyak masuk ke aliran darah dan dibuang melalui urine. Urine akan berwarna seperti air teh. Jika bilirubin dan garam kolat menumpuk di jaringan subkutan, terjadi ikterus. Adanya bilirubin dapat diperiksa dengan uji Gmelin, sedangkan adanya garam kolat dapat dibuktikan dengan uji Hay.

e. Darah

Pada penyakit tertentu, mungkin ditemukan darah dalam urine. Keadaan yang disebut hematuria ini dapat terjadi pada radang ginjal atau saluran kemih di bawahnya. Bila eritrosit pecah, hemoglobin keluar dan memasuki urine. Adanya hemoglobin di dalam urine disebut hemoglobinuria. Adanya darah dapat dilihat secara makroskopis atau mikroskopis tergantung jumlahnya, sedangkan adanya hemoglobin dapat diperiksa dengan uji benzidin.

f. Indikan

Indikan adalah K-indoksil sulfat, dan terdapat di dalam urine penderita obstipasi atau abses. Pada keadaan ini, triptofan dalam molekul protein diubah menjadi indol, yang kemudian diubah menjadi indikan dan diekskresikan melalui urine. Adanya indikan dapat dibuktikan dengan pereaksi Obermayer, yang akan mengubah indikan menjadi biru indigo yang larut dalam kloroform.

1.2 PERCOBAAN URINE

Urine mengandung hasil metabolisme dalam tubuh, baik yang fisiologi maupun patologi. Oleh karena itu, pemeriksaan urine dapat membantu penegakan diagnosa penyakit, mengikuti perjalanan penyakit atau gangguan metabolisme dan organ, serta menyelidiki faktor yang berhubungan dengan gangguan metabolisme tersebut.

Susunan urine setiap 24 jam tidak banyak berbeda. Akan tetapi, susunan urine sewaktu sepanjang hari dapat berbeda cukup berarti. Karena itu, diperlukan pengetahuan memilih contoh atau sampel urine yang sesuai dengan tujuan pemeriksaan. Penetapan jumlah suatu zat tertentu pada urine harus dilakukan terhadap urine 24 jam.

Pada keadaan normal, terjadi banyak perubahan pada urine akibat kerja bakteri. Perubahan ini akan mempengaruhi nilai pemeriksaan kimia atau mikroskopis urine. Sebagai contoh, urea akan berubah menjadi amonium karbonat, gula akan dipecah menjadi CO_2 dan H_2O . Urine akan menjadi keruh dan terjadi pemecahan zat-zat yang membentuk endapan.

Untuk menghindari terjadinya perubahan di atas digunakan zat pengawet yang tidak ada pengaruh atau sedikit pengaruhnya terhadap susunan urine seperti toluene atau formaldehida.

1.2.1 Cara Pengumpulan Urine

Urine hari pertama dibuang pada waktu yang telah ditentukan (misalnya jam 6 pagi). Semua urine setelah waktu itu sampai waktu yang sama di hari berikutnya, dikumpulkan. Urine kemudian disimpan dalam keadaan dingin dengan toluene sebagai pengawet. Pada hari yang sudah ditentukan, urine dibawa ke laboratorium untuk diperiksa.

1.2.2 Pemeriksaan Sifat Urine

Catat semua hal berikut ini:

- a. Volume urine (dalam ml)
- b. Warna, bau, dan kejernihan urine
- c. pH urine dengan menguji reaksinya terhadap lakmus, kertas nitrazin, atau kertas indikator universal. Keasaman urine juga dapat diperiksa dengan merah kongo atau fenolftalein, namun ini tidak bersifat rutin.
- d. Berat jenis urine

Penentuan Berat Jenis Urine

Isi sebuah gelas piala dengan urine, dan letakkan urinometer di dalamnya. Urinometer tidak boleh menyentuh tabung. Catat suhu urine tersebut. Tiap

urinometer sudah dikalibrasi pada suhu tertentu. Bila suhu urine tidak sama dengan suhu kalibrasi, lakukan koreksi sebagai berikut:

Tambahkan 0,001 pada angka yang ditunjukkan urinometer untuk setiap peningkatan suhu 3° C di atas suhu kalibrasi, dan kurangi 0,001 pada angka yang ditunjukkan urinometer untuk setiap perbedaan suhu 3° C di bawah suhu kalibrasi.

1.2.3 Menunjukkan Adanya Garam Amonium

Tambahkan NaOH 10% encer sebanyak 0,5 ml pada 2 ml urine sehingga reaksinya alkali. Panaskan urine tersebut dan cium bau yang keluar. Uji uapnya dengan lakmus merah yang sudah dibasahi dengan air, atau dengan setetes pereaksi Nessler pada kertas saring. Larutan Nessler berubah menjadi jingga kemerahan oleh amoniak.

1.2.4 Menunjukkan Adanya Belerang

Belerang (sulfat) dalam urine dapat dibedakan menjadi 3 bentuk, yaitu:

1. Sulfat anorganik, menyusun 85 - 90% dari sulfat urine total.
2. Sulfat etereal, merupakan senyawaan asam sulfat dengan zat organik seperti fenol, indol, dan sebagainya. Semua sulfat ini terurai pada pemanasan dengan asam. Jumlahnya sekitar 5 - 15% dari sulfat urine total, yaitu sekitar 0,04 - 0,1 g.
3. Sulfat tak teroksidasi, merupakan sulfat netral yang mencakup sulfida, sistin, dan sebagainya. Urine mengandung 8 - 160 mg sulfat tak teroksidasi per volume 24 jam, atau sekitar 5 - 25% dari sulfat per total urine 24 jam.

Cara Kerja

1. Sulfat Anorganik

Tambahkan HCl 2% sebanyak 3 tetes dan BaCl₂ 2% encer sebanyak 3 tetes pada 10 ml urine. Terlihat endapan putih. Endapan apakah itu? Saring campuran ini dan simpan filtratnya untuk uji sulfat etereal.

2. Sulfat Etereal

Didihkan filtrat dari percobaan (1) selama beberapa menit menggunakan waterbath. Bila tidak terbentuk endapan, tambahkan lagi larutan HCl 2%

sebanyak 3 tetes dan panaskan. Jika perlu tambahkan lagi larutan BaCl_2 2% encer sebanyak 3 tetes. Kekeruhan menyatakan adanya sulfat etereal.

3. Sulfat Tak Teroksidasi

Masukkan 10 ml urine ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 1 butir Zn dan sedikit HCl encer. Tutup tabung tersebut dengan kertas saring yang sudah dibasahi dengan larutan Pb-asetat. Terlihat kertas saring itu berubah menjadi hitam. Zat apakah itu dan bagaimana proses pembentukannya?

1.2.5 Menunjukkan Adanya Kreatinin

1. Reaksi Jaffe

Reaksi ini berdasarkan pembentukan tautomer kreatinin pikrat yang berwarna merah jika kreatinin direaksikan dengan larutan pikrat alkalis. Warna merah akan berubah menjadi kuning jika larutan diasamkan. Reaksi Jaffe merupakan dasar kolorimetri untuk penetapan kadar kreatinin.

Cara Kerja

Ambil 2 buah tabung reaksi dan isi keduanya dengan 5 ml urine. Tambahkan 1 ml asam pikrat jenuh dan 1 ml NaOH 10% pada setiap tabung, perhatikan warna merah yang terbentuk. Tambahkan HCl 2% sebanyak 3 tetes pada salah satu tabung. Bandingkan hasilnya dengan tabung yang tidak ditambah HCl. Bandingkan percobaan ini terhadap larutan glukosa 2% sebanyak 5 ml yang ditambahkan asam pikrat jenuh dan NaOH. Apakah senyawa yang terbentuk sama?

2. Uji Nitroprusida Weyl

Dalam larutan alkalis, kreatinin membentuk zat berwarna merah, yang dengan larutan nitroprusida akan berubah menjadi kuning. Warna tersebut akan berubah menjadi hijau, dan kemudian biru akibat pembentukan biru Berlin (reaksi Salkowsky) jika larutan diasamkan dengan asam asetat.

Cara Kerja

Masukkan 5 tetes larutan Na-nitroprusida 0,1 M dan 5 ml urine ke dalam tabung reaksi. Buat larutan menjadi alkalis dengan menambahkan larutan

NaoH 10% tetes demi tetes hingga terbentuk warna merah yang segera berubah menjadi kuning.

1.2.6 Menunjukkan Adanya Glukosa

Adanya glukosa dalam urine dapat ditunjukkan berdasarkan kemampuan glukosa mereduksi ion logam tertentu dalam larutan alkalis seperti Cu, Bi, Hg, dan Fe. Uji ini tidak spesifik untuk glukosa karena gula atau zat pereduksi lain juga dapat memberi hasil positif.

Cara untuk menunjukkan adanya glukosa berdasarkan reduksi ion Cu adalah uji Fehling dan uji Benedict. Uji Benedict lebih baik untuk pemeriksaan glukosa urine karena tidak banyak zat yang dapat mengganggu jalannya reaksi. Uji Fehling kurang dapat dipercaya karena beberapa zat yang terdapat dalam urine seperti asam urat, asam glukoronat, nukleoprotein, dan asam homogentisat, akan memberi hasil positif. Kloroform, yang digunakan sebagai pengawet, juga dapat memberi hasil positif karena terbentuknya zat pereduksi dari kloroform akibat pengaruh alkali panas.

Uji Nylander merupakan pemeriksaan glukosa urine berdasarkan reduksi ion Bi. Hasil positif dinyatakan oleh terbentuknya endapan logam Bi yang berwarna hitam. Uji ini dapat diganggu oleh beberapa zat. Albumin misalnya, akan memberi hasil positif, sementara adanya indikan dan pigmen urine dalam jumlah besar akan menyebabkan reaksi menjadi negatif.

Uji Benedict (Semikuantitatif)

Dengan uji ini dapat diperkirakan secara kasar kadar glukosa dalam urine.

Cara Kerja

Campur 2,5 ml pereaksi Benedict kualitatif dengan 4 tetes urine. Panaskan selama 5 menit pada penangas air mendidih atau didihkan di atas api kecil selama 1 menit. Biarkan menjadi dingin. Ulangi uji ini terhadap urine yang mengandung:

- a. Glukosa 0,3%
- b. Glukosa 1%
- c. Glukosa 5%
- d. Galaktosa 1%.

Penafsiran

Warna Larutan	Penilaian	Kadar Glukosa
Biru/hijau keruh	-	-
Hijau/kuning hijau	+	kurang dari 0,5 %
Kuning/kuning kehijauan	++	0,5 – 1 %
Jingga	+++	1 – 2 %
Merah	++++	lebih dari 2 %

1.2.7 Menunjukkan Adanya Protein

1. Uji Koagulasi

Cara Kerja

Panaskan 5 ml urine jernih (saring jika perlu) hingga mendidih selama 1-2 menit. Bila terbentuk endapan, tambahkan 3 – 5 tetes asam asetat 2%. Apakah endapan itu hilang atau bertambah? Endapan yang hilang dengan penambahan asam asetat menyatakan fosfat, sedangkan endapan yang bertambah setelah penambahan asam menyatakan protein.

Catatan. Kelebihan asam akan menyebabkan protein yang sudah mengendap kembali melarut.

2. Uji Osgood-Haskins

Tambahkan 1 ml larutan asam asetat 50% dan 3 ml NaCl jenuh 30% pada 5 ml urine. Pembentukan endapan setelah penambahan asam asetat menyatakan garam empedu atau asam urat, sedangkan endapan yang terbentuk setelah penambahan garam mungkin disebabkan oleh protein Bence Jones atau globulin dalam jumlah besar.

Lakukan cara berikut untuk membedakan antara protein Bence Jones dengan albumin atau globulin. Panaskan campuran di atas perlahan-lahan sampai mendidih. Bila endapan hilang, menunjukkan protein Bence Jones. Endapan yang tetap ada setelah pemanasan menunjukkan albumin atau globulin.

Adanya protein Bence Jones dapat juga ditunjukkan dengan cara berikut. Panaskan urine dengan hati-hati dan perhatikan suhunya. Pada suhu 40⁰ C mulai timbul kekeruhan, yang akan menggumpal bila suhu mencapai 60⁰ C. Asamkan sedikit dengan asam asetat dan panaskan sampai 100⁰ C. Sebagian endapan akan hilang. Saring selagi masih panas, endapan akan terbentuk lagi setelah tabung menjadi dingin.

1.2.8 Menunjukkan Adanya Zat Keton

1. Uji Iodoform (Lieben)

Tambahkan larutan lugol sebanyak 2 tetes dan NaOH 10% sebanyak 0,5 ml pada urine 2 ml. Adanya endapan kuning menunjukkan zat keton. Uji ini juga positif untuk alkohol, namun reaksinya jauh lebih lambat. Bila dipakai amoniak sebagai pengganti NaOH (uji Guning), maka reaksi menjadi lebih spesifik untuk aseton.

2. Uji Nitroprusida (Legal)

Tambahkan Na-nitroprusida dan NaOH pada urine sampai bereaksi basa. Bila terdapat aseton, akan terbentuk warna merah. Warna merah dapat juga disebabkan oleh kreatinin, namun warnanya akan hilang dengan penambahan asam asetat.

3. Uji Nitroprusida (Rothera)

Tambahkan kristal amonium sulfat pada 5 ml urine sampai jenuh. Tambahkan 2-3 tetes Na-nitroprusida 5% segar (baru dibuat) dan 1-2 ml NH₄OH pekat. Campur dan biarkan selama ½ jam. Terbentuknya warna ungu menunjukkan adanya zat keton. Warna coklat tidak menunjukkan hasil positif.

Catatan. Uji ini lebih peka terhadap asam asetoasetat.

1.2.9 Menunjukkan Adanya Urea

Adanya urea dapat ditunjukkan berdasarkan pembentukan kristal yang dapat dilihat dengan mikroskop. Dengan HNO₃ pekat, akan terbentuk kristal urea nitrat, sedangkan dengan asam oksalat akan terbentuk urea oksalat.

Urea dapat juga ditunjukkan melalui penambahan enzim urease. Amoniak yang terbentuk dapat ditentukan berdasarkan baunya yang khas atau pengaruhnya terhadap kertas lakmus.

Cara Kerja.

Tambahkan sejumlah urease dan sepotong kertas lakmus merah ke dalam 5 ml urine. Campur dengan baik dan biarkan pada suhu 38-40⁰ C selama 10 menit. Perhatikan perubahan warna kertas lakmus.

1.2.10 Menunjukkan Adanya Empedu dan Garam Empedu

Pigmen empedu yang terkandung dalam urine dapat ditunjukkan dengan uji Gmelin, uji Gmelin modifikasi Rosenbach, atau dengan uji Harrison. Garam empedu dapat ditunjukkan dengan uji Petternkofer.

1. Uji Gmelin

Masukkan 2 ml HNO₃ pekat ke dalam tabung reaksi. Tambahkan urine 2 ml dengan hati-hati sehingga terbentuk 2 lapisan cairan. Reaksi positif ditunjukkan oleh adanya perubahan warna mulai dari hijau yang berubah menjadi biru, ungu, merah, dan jingga.

2. Uji Gmelin Modifikasi Rosenbach

Letakkan sepotong kertas saring di atas corong, basahi dengan urine. Bubuhkan 1 tetes HNO₃ pekat pada ujung kerucut kertas saring dan lihat perubahan warna seperti pada uji Gmelin.

3. Uji Harrison

Basahi sepotong kertas saring dengan larutan BaCl₂ 10% dan keringkan. Masukkan kertas saring tersebut ke dalam urine selama 1 detik, angkat, dan tambahkan 1 tetes pereaksi Fouchet. Warna hijau yang terbentuk menunjukkan adanya bilirubin.

4. Uji Petternkofer

Tambahkan sedikit gula pasir (sukrosa) ke 5 ml urine dalam tabung reaksi. Tambahkan 2 ml larutan H₂SO₄ pekat dengan hati-hati melalui dinding tabung

sehingga terbentuk 2 lapisan cairan. Cincin merah yang timbul pada perbatasan cairan menunjukkan adanya garam empedu.

1.3 LEMBAR PENGAMATAN

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

2

URINE KUANTITATIF

2.1 DASAR TEORI

2.1.1 PENETAPAN KADAR ASAM URAT (FRANKE DAN BENEDICT)

Asam urat mereduksi arsenofosfotungstat menjadi arsenofosfotungstit yang berwarna biru. Warna ini dibandingkan dengan suatu larutan standar asam urat yang diperlakukan dengan cara yang sama.

Pereaksi:

- Pereaksi asam arsenofosfotungstat (beracun)
- NaCN 5% dengan 2 ml NH₄OH pekat per liter (beracun)
- Larutan standar asam urat 0,1 mg/ml

Cara Kerja

Encerkan 5 ml urine menjadi 100 ml dengan akuades. Ambil 10 ml larutan dengan pipet volume dan masukkan ke dalam labu takar 50 ml. Dengan menggunakan buret, tambahkan 5 ml NaCN 5% dan 1 ml pereaksi arsenofosfotungstat. Biarkan selama tepat 5 menit, lalu encerkan sampai 50 ml. Ulangi perlakuan terhadap 20 ml larutan standar asam urat. Bandingkan keduanya dengan alat kolorimeter visual.

Perhitungan

$$\text{Kadar asam urat (g/24 jam)} = \frac{R_u}{R_{st}} \times 4 \times \frac{\text{ml urine 24 jam}}{20 \times \frac{5}{100}} \times \frac{1}{1000}$$

Untuk penetapan dengan kolorimeter fotoelektris atau spektrofotometer, buatlah blanko dengan menggunakan 20 ml air suling dan perlakukan dengan cara seperti di atas. Gunakan filter hijau (520 nm).

Penafsiran

Walaupun cara yang berdasarkan daya reduksi asam urat ini tidak spesifik, namun hasilnya cukup memuaskan. Hasil yang lebih tepat dapat diperoleh dengan jalan mengendapkan asam urat terlebih dahulu dengan menggunakan AgNO_3 .

Asam urat dicerna oleh enzim urikase. Berdasarkan perbedaan intensitas warna yang terbentuk sebelum dan sesudah pemberian enzim tersebut, kadar asam urat dapat ditentukan. Dengan cara ini, ternyata 80-90% warna yang terbentuk pada pemeriksaan urine langsung, disebabkan oleh asam urat.

2.1.2 PENETAPAN KADAR KREATININ URINE (REAKSI JAFFE)

Dasar

Kreatinin bereaksi dengan asam pikrat pekat dalam larutan alkalis, membentuk tautomer kreatinin pikrat yang berwarna merah.

Pereaksi:

- a. Larutan asam pikrat jenuh
- b. NaOH 10%
- c. Larutan standar kreatinin 1 mg/ml

Cara Kerja

Sediakan 2 labu takar 100 ml. Isi labu pertama dengan 1 ml urine, dan labu kedua dengan 1 ml larutan standar. Tambahkan 20 ml larutan asam pikrat jenuh dan 1,5 ml larutan NaOH 10% pada masing-masing labu. Kocok perlahan dan biarkan selama 25 menit. Encerkan larutan sampai 100 ml dengan akuades, dan homogenkan dengan cara membolak-balik labu tersebut. Lakukan segera pembacaan absorbansi dengan kolorimeter visual.

Perhitungan

$$\text{Kadar kreatinin (g/24 jam)} = \frac{R_{sp}}{R_{st}} \times 1 \times \frac{\text{ml urine 24 jam}}{1} \times \frac{1}{1000}$$

Penetapan Koefisien Kreatinin

Untuk penetapan dengan kolorimeter fotoelektrik atau spektrofotometer, buatlah blanko dengan menggunakan 1 ml air suling dan perlakukan dengan cara seperti di atas. Pergunakan filter hijau (540 nm).

2.2 LEMBAR PENGAMATAN

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

Percobaan ke : ()
Tanggal Percobaan :
Nama Percobaan :

Prosedur/ Cara kerja	Hasil Pengamatan

Asisten

()

DAFTAR PUSTAKA

- Alaerts G dan Santika SS. 1987. Metode Penelitian Air. Usaha Nasional, Surabaya.
- Hawk PB, Oser BE, and Summerson WH. 1954. Practical Physiology Chemistry. 13th Ed. McGraw-Hill Book Co., Toronto
- Djas HMJ, Kamaruddin M, Husin A, dan Isa M. 1990. Penuntun Praktikum Biokimia I. Laboratorium Biokimia LIPA Unsyiah. Banda Aceh.