

## BAB I

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. UREMI.

##### 1.1. Beberapa pendapat tentang uremi.

Istilah uremi oleh sarjana yang bernama Piorry dan L. Heritier pada tahun 1840 dinyatakan bahwa yang dimaksud dengan uremi adalah adanya urine dalam darah, disebabkan retensi urine dalam darah. ( 9, 23 )

Sebelum ini oleh seorang sarjana bernama Richard Bright pada tahun 1827 telah pula diperhatikan adanya hubungan antara tertimbunnya urine terhadap kerusakan ginjal yang dapat menimbulkan penyakit "Brights disease" (10).

Oleh profesor G.M. Bull dari Queen's University Belfast dinyatakan bahwa kegagalan ginjal tidak hanya ditunjukkan oleh adanya urine dalam darah, tetapi juga tidak hanya disebabkan oleh adanya racun-racun yang tertimbun dalam tubuh, atau oleh karena racun-racun yang tertahan dalam tubuh sebagai hasil akhir dari metabolisme protein dan nitrogen, melainkan disebabkan juga oleh adanya ketidak seimbangan susunan cairan tubuh dan

volume cairan tubuh ( 21 ).

Kondisi diatas adalah menunjukkan bahwa ginjal sudah tak mampu lagi menyerap zat-zat penting yang diperlukan tubuh. Juga ginjal telah tidak mampu lagi mengeluarkan zat-zat racun yang harus dikeluarkan dari tubuh (12,21).

Adanya kegagalan ginjal dalam hal ini dapat disebabkan antara lain :

- adanya kerusakan glomerulus sendiri yang menyebabkan daya filtrasi menurun.
- karena kerusakan glomerulus maka kemungkinan menyebabkan pula kerusakan tubulus, sehingga fungsi tubuluspun menurun.
- atau dapat pula adanya gangguan aliran darah dalam glomerulus. Kesemuanya ini menyebabkan gejala-gejala klinik dari uremi yang komplek. (10,12,21).

Adanya urea dalam darah tidak mengganggu selama berada dalam batas-batas normal, yaitu selama terjadi korelasi antara jumlah urea yang terbentuk dan urea yang dikeluarkan.

Bila terjadi gangguan dari "glomerulo filtration rate" sehingga menurun maka jumlah urea yang dikelu-

ken dari tubuh juga turun, sehingga urea dalam darah meningkat. ( 9,11 )

Apabila penurunan "glomerulo filtration rate" mencapai lebih besar dari 60% maka keadaan demikian akan menuju kepada uremia ( 20 )

Kecepatan terbentuknya urea dalam tubuh tergantung kepada jumlah nitrogen yang masuk dalam tubuh dan jumlah jaringan yang mengalami pemecahan. Selain itu urea dalam darah juga dapat meningkat jika ada perdarahan dalam lambung dan usus.

Dengan demikian akan membantu mamberatkan uremia. (25)

Tetapi walaupun demikian ureum dalam darah adalah faktor yang sangat lemah untuk menunjukkan adanya gangguan fungsi ginjal, hal ini akan lebih jelas ditunjukkan oleh adanya kreatinin dalam plasma, dimana merupakan hasil terakhir dari metabolisme protein yang harus dikeluarkan melalui ginjal. Jadi kerusakan ginjal akan menyebabkan tertumpuknya kreatinin dalam tubuh(10).

## 1.2. Gangguan toleransi glukosa pada uremi.

Dengan fungsi ginjal yang tidak normal, maka metabolisme dalam tubuhpun terganggu.

Adanya gangguan toleransi glukosa pada uremi pertama kali telah dituliskan oleh Haman dan Hirman pada tahun 1917 ( 21 ).



Linder, Koller dan van Slike pada tahun 1925 telah pula menunjukkan adanya hubungan antara gangguan toleransi karbohidrat terhadap kegagalan ginjal yang manahan (14). Para sarjana ini telah menunjukkan adanya kenaikan kadar glukosa dalam darah setelah pemberian glukosa secara "oral" selama pemeriksaan toleransi glukosa (14).

Pada umumnya penderita dengan uremi 65 - 100 % mengalami gangguan toleransi karbohidrat. Untuk mengetahui adanya gangguan ini biasanya dilakukan "glucose tolerance test" (15).

Gleh para sarjana telah dibuktikan bahwa pada penderita dengan uremi baik dengan kegagalan ginjal yang mandadak ataupun pada kegagalan ginjal yang manahan didapatkan gangguan toleransi glukosa. Briggs bersama kawan-kawannya menyatakan bahwa pada penderita ini didapatkan kadar gula yang lebih tinggi dibandingkan terhadap orang normal pada saat 60 menit, 90 menit dan 120 menit sesudah pemberian glukosa secara per oral.

Perkoff dengan kawan-kawannya memperkirakan bahwa, urea mempunyai efek yang spesifik terhadap metabo-

liane glukosa pada penderita uremi.

Tetapi tidak berhasil mendapatkan pengaruh urea terhadap metabolisme glukosa pada tikus percobaannya. Akan tetapi dapat diketahui bahwa urea dengan konsentrasi yang tinggi dapat mengganggu sintesis enzim dalam metabolisme glukosa ( 9 ).

Hasil pendapat para sarjana diatas adalah menunjang anggapan mengapa kadar gula dalam darah pada penderita uremi selama pemeriksaan toleransi glukosa adalah lebih tinggi dibandingkan terhadap orang normal.

### 1.3. Kadar Insulin pada uremi.

Pada penderita uremi yang mengalami gangguan toleransi glukosa oleh Briggs dengan kawan-kawannya dinyatakan bahwa hal ini disebabkan karena tidak efektifnya insulin yang diproduksi oleh penderita tersebut.

Dari hasil penelitiannya didapatkan bahwa kadar insulin dalam keadaan puasa pada penderita dengan uremi adalah lebih tinggi dari pada kadar insulin dalam keadaan puasa untuk orang normal. ( 6 )

Juga penurunan kadar insulin dalam plasma dari penderi-

ta ini dibandingkan dengan orang normal adalah lebih lambat, dan pada perbedaan ini adalah sangat menyolok pada saat puasa serta pada saat 2 jam setelah pemberian glukosa pada pemeriksaan "Oral Glucose Tolerance Test". (6, 17)

Pada umumnya pemaksaan glukosa yang terganggu pada penderita dengan uremia dapat dikatakan disebabkan karena adanya sekresi insulin yang tidak normal, tetapi sarjana lain ada yang berpendapat bahwa jumlah sekresi insulin adalah normal walaupun derajat sensitivitasnya adalah rendah. Atau dapat juga dikatakan sekresi insulin adalah cukup, walaupun respon dari pankreasnya lambat (14,15,18,20). Hampers dengan kawan-kawannya menyatakan bahwa pada penderita uremi terjadi gangguan toleransi glukosa oleh karena pembentukan insulin yang menurun, atau dapat juga dikatakan karena pelepasan insulin yang menurun (19).

Sarjana lain berpendapat bahwa keadaan demikian mungkin disebabkan oleh adanya "insuline neutralising factors" atau "insuline antagonist system". Tetapi ternyata oleh Hampers dengan kawan-kawan pada pemeriksaan secara invitro tidak ditemukan adanya "insuline antagonist" yang dapat didialyssa. Atau dengan kata lain adanya "insuline antagonist" tak dapat dideteksi dengan cara dialyssa. (13).



Lindall menyatakan bahwa respon insulin pada penderita ini yang mengalami dialisa adalah normal, jika pada penderita ini tidak mengalami "hyperpara thyroid" (14).

Forkoff dengan kawan-kawannya menyatakan bahwa pada penderita uremi membuat tidak aktifnya insulin eksogen yang diberikan. Dimana ini ditunjukkan dengan terlamatnya turannya glukosa dalam darah selama pemeriksaan insulin eksogen tersebut. (14)

Sarjana lain mengemukakan pula bahwa kadar insulin yang lebih tinggi dibandingkan terhadap orang normal pada pemeriksaan toleransi glukosa dari penderita uremi, disebabkan oleh karena tidak aktifnya insulin yang dihasilkan.

Pemula lain berpendapat bahwa keadaan diatas disebabkan karena sekresi insulin yang meningkat. Dapat juga disebabkan oleh karena penurunan dari "insulin degradation" atau mungkin pula disebabkan "half life" dari pada insulin yang bertambah (6,14,18).

Kesemu pendapat para sarjana diatas adalah seimbang pendapat mengapa insulin pada penderita dengan uremi lebih tinggi dibandingkan terhadap orang normal.

#### 1.4. Keadaan sel pada jaringan perifer dari penderita uremi.

Pada penderita dengan uremi yang menyebabkan

tingginya kadar glukosa dalam darah selama pemeriksaan "Glucose Tolerance Test" adalah mungkin disebabkan jaringan perifer yang tidak sensitif terhadap insulin. Juga hal ini mungkin sekali disebabkan karena pemakaian glukosa pada jaringan perifer yang menurun. Pemakaian glukosa yang menurun ini disebabkan karena adanya hambatan metabolisme dalam sel oleh suatu "toxin" atau mungkin juga disebabkan adanya "plasma factor" yang mengikat insulin yang aktif (14).

Sarjana lain mengemukakan bahwa mungkin disebabkan karena dua faktor yaitu :

1. pada "erythrocyte membrane" terjadi penurunan permeabilitas terhadap glukosa.
  2. terjadi penurunan "erythrocyte glycolysis".
- (22).

Karton dengan kawan-kawannya juga mengemukakan bahwa hal diatas mungkin disebabkan karena mekanisme dari (17)

1. adanya pengikatan insulin pada jaringan perifer, sehingga menyebabkan tidak efektif.
2. penurunan efek dari insulin pada "glucose transport" melalui sel saringan.
3. karena adanya metabolisme glukosa intraselular yang tidak normal.



Jadi semua sarjana diatas adalah menunjang pendapat mengapa glukosa dalam darah penderita uremi adalah lebih tinggi dibandingkan dengan orang normal selama pemeriksaan toleransi glukosa.

## 2. Pemeriksaan Toleransi Glukosa secara "oral".

### 2.1. Cara pelaksanaan pemeriksaan Toleransi Glukosa.

"Glucose Tolerans Test" adalah sangat penting untuk mendiagnosa adanya diabetes mellitus, walaupun ketidak normalan dalam hasil pemeriksaan cara ini diberikan juga oleh beberapa kelainan seperti "nephritis", "hyperthyroidism" dan lain-lain (15).

Pada orang yang akan diperiksa toleransi glukosanya, maka selama tiga hari terakhir sebelum pemeriksaan harus mendapatkan susunan makanan 300 gram karbohidrat dan 3000 kalori tiap hari. Jadi dapat dikatakan susunan makanan itu 55% - 60% adalah karbohidrat. Pada malam terakhir saat akan diperiksa harus berpuasa minimum 8 jam dan tidak lebih dari 16 jam sampai saat pemeriksaan (15).

Beban glukosa yang diberikan untuk anak-anak tidak lebih dari 50 gram untuk orang dewasa antara 50 gram sampai 100 gram.

Pemeriksaan terhadap sampel darah dari vena diambil saat berpuasa, kemudian 1 jam, 2 jam dan 3 jam sesudah pemberian glukosa secara "oral". (15)

Pada umumnya kadar gula tertinggi dicapai pada saat 30 sampai 60 menit setelah pemberian glucose "oral" dan akan turun sampai normal setelah 2 jam, pada pemeriksaan toleransi glukosa tersebut.

Apabila pada pemeriksaan ternyata didapatkan "post prandial hypoglycemia" maka pemeriksaan dilanjutkan sampai 4 jam, 5 jam dan 6 jam setelah pemberian glukosa. (16).

"Glucose Tolerance Test" dapat dilakukan dua cara yaitu :

1. Secara "intra-venous" dimana cairan glukosa dimasukkan dalam tubuh melalui vena.
2. Secara "per-oral" dimana cairan glukosa kita berikan dengan diminum saja.

Fajane (1960) menyatakan bahwa cara "Oral Glucose Tolerance Test" adalah lebih sensitif dibandingkan terhadap cara "Intra-venous Glucose Tolerance Test" (4).

Selama pemeriksaan dilakukan penderita tidak diperkenankan terlalu banyak bergerak dan sebaiknya dalam keadaan istirahat.

### 3. GLUKOSA.

#### 3.1. Penyerapan glukosa dalam "gastro intestinalis tract".

Yang diserbsi dari carbohydrate adalah monosaccharida dan yang paling penting adalah glukosa, fruk-

tose dan galactose.

Beberapa di asaccharide diabsorbsi dan dihydrolisa dalam usus kecil, tetapi polysaccharide tak dapat diabsorbsi. Galactose diabsorbsi lebih cepat dari pada glucose tetapi fructose diabsorbsi lebih lambat.

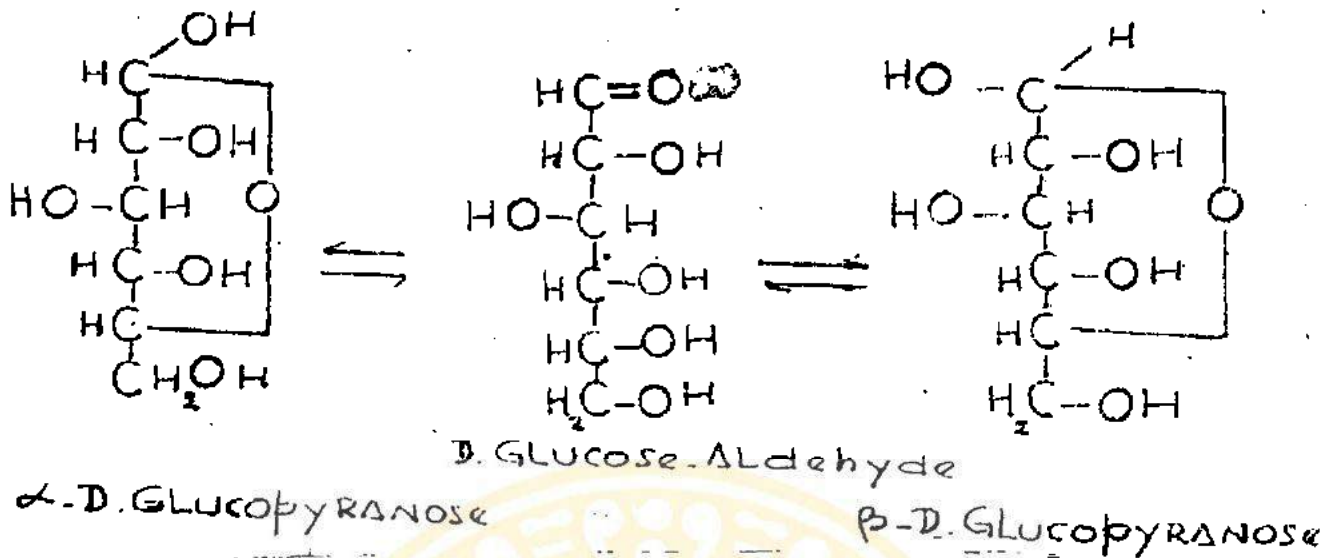
Absorbsi dari monosaccharide dapat terjadi dalam lambung dan usus besar tetapi yang utama adalah dalam usus kecil. Dimana absorbsi dari glucose adalah sempurna dalam waktu 1 jam dengan takaran 1 gram tiap kilogram berat badan (11).

### 3.2. Glukosa dalam larutan.

Kristal glukosa yang murni yang dilarutkan dalam air pada temperatur kamar adalah L - D glukopyranose, tetapi dengan adanya atom karbon yang tidak simetris maka akan terjadi perubahan pemutaran bidang polarisasi. Pada larutan glukosa yang baru saja dilarutkan berbentuk  $\alpha$  - D glukopyranose dengan daya putar spesifik (+)112°, setelah beberapa lama akan terjadi penurunan pemutaran bidang polarisasi sampai (+) 52,5°.

Dalam keadaan ini didapatkan kesetimbangan dimana 36 persen glukosa berada dalam bentuk  $\alpha$  - D Glucopyranose dan 64 persen berada dalam bentuk  $\beta$  - D Glucopyranose dan bentuk D - Glucose aldehyde adalah sangat sedikit. (28).





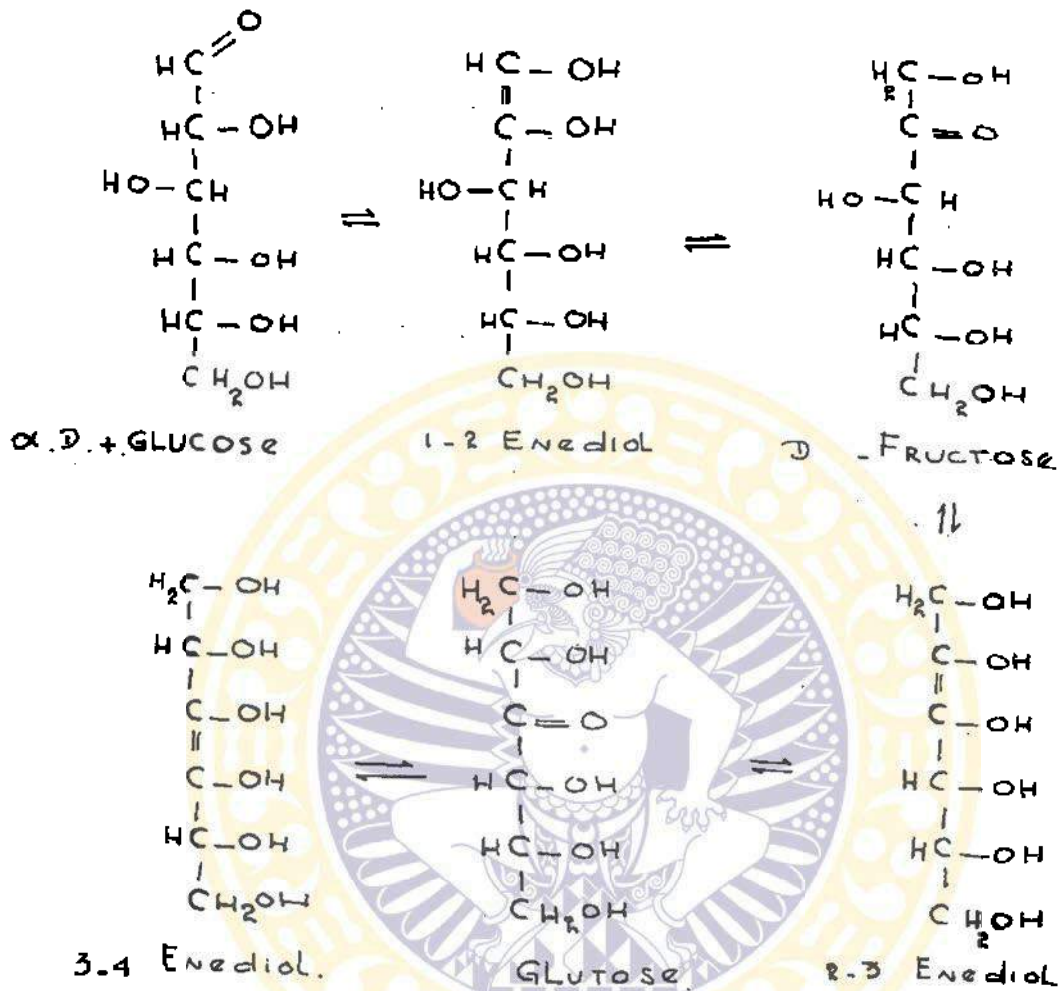
Larutan Glukosa dalam air setelah mencapai kesetimbangan antara bentuk  $\alpha$  - D Glucopyranose dan  $\beta$  - D Glucopyranose terhadap bentuk senyawa D - Glucose.



Larutan glukosa dalam air bersifat sebagai asam lemah, sehingga dengan kebasaan yang tinggi akan membentuk garam enediolnya. Apabila larutan glukosa dalam suasana basa 0,05 N akan membentuk "1 - 2 enediol form" dan akhirnya terbentuk garam enediolnya.

Tetapi pada larutan glukosa dengan kebasaan 0,5 N akan didapatkan bentuk campuran dari :

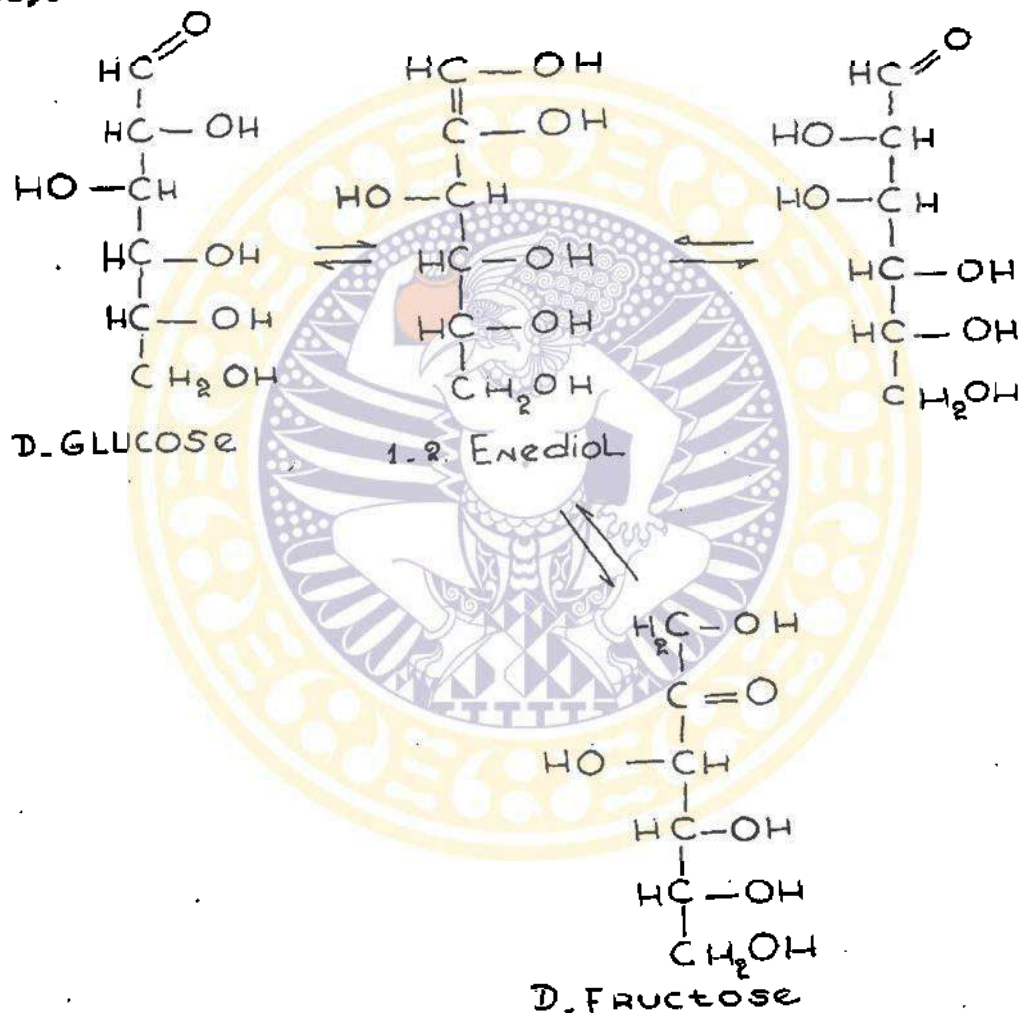
- a. 1 - 2 enediol
- b. 2 - 3 enediol
- c. 3 - 4 enediol



Larutan Glukose dalam 0,5 N alkali, membentuk campuran dari :

- 1 - 2 enediol,
- 2 - 3 enediol dan
- 3 - 4 enediol.

Selain glukosa juga fruktosa dan mannosa membentuk 1 - 2 enediol dalam alkali encer tersebut. Dan adanya bentuk enediol inilah yang re-aktif sebagai "reducing agent", dengan demikian untuk mengoksidasi larutan glukosa dalam air diperlukan suasana yang alkali encer. (28).



D - Mannosa, D - Glukosa dan D - Fruktosa, dalam suasana alkali 0,05N ketiganya membentuk 1 - 2 enediol.



### 3.3. Oksidasi Glukosa oleh larutan kupri yang alkalis.

Karbohidrat yang mempunyai gugus gula yang bebas dalam suasana alkali akan membentuk anediol yang sangat reaktif dan mudah dioksidasi.

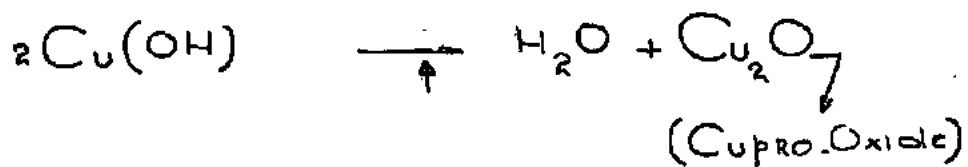
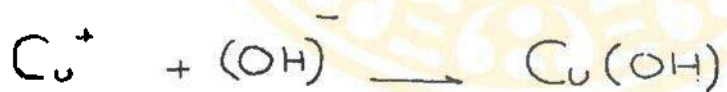
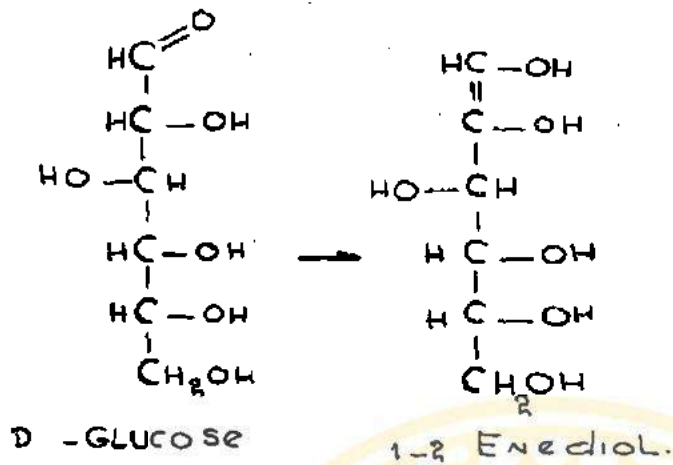
Sebagai oksidator dipakai disini larutan kupri yang alkalis dimana mengandung kalium - Natrium tartarat (Rochelle Salt) untuk mencegah terjadinya pengendapan dari kupri hidroksida atau kupri karbonat, sehingga bentuk kompleks dari ion kupri tidak mudah berdisosiasi. Situasi alkalis disini dipakai larutan natrium hidroksida (26,28).

Prinsip penentuan kadar glukosa dalam darah oleh Senogy Nelson adalah sebagai berikut :

Struktur molekul dari pada glukosa yang mengandung gugusan aldehyde adalah bersifat sebagai "reducing agent"

Glukose mereduksi larutan kupri yang alkalis dalam suasana panas, dan kupris yang telah tereduksi bereaksi dengan arseno selybdate dan akan menghasilkan suatu kompleks yang berwarna biru. (11)

Reaksi yang terjadi pada oksidasi larutan glukosa oleh larutan kupri yang alkalis dan dalam suasana panas adalah sebagai berikut :



Berdasarkan atas reaksi diatas maka adanya kupro oxide yang terbentuk yang memberikan endapan berwarna kuning sampai merah adalah menunjukkan adanya suatu "reducing agent" dan yang dimaksud disini adalah glukosa.

Untuk selanjutnya jumlah kupro oxide yang telah terbentuk ini setelah didinginkan dari pemanasan kemudian direaksikan dengan reagensis arseno - molybdate dan disial akan terbentuklah kompleks yang berwarna biru ( 11 ).

#### 4. KREATININ.

##### 4.1. Kreatinin pada penderita uremi.

Pada penderita uremi baik yang mengalami kegagalan ginjal yang sudah dek ataupun yang sudah sembuh mempunyai kadar kreatinin lebih tinggi dibandingkan terhadap orang normal. ( 11, 26 )

Dan ternyata pula bahwa kreatinin pada penderita uremi tidak saja tergantung dari diet protein tetapi juga ditentukan oleh adanya pemecahan jaringan. ( 24 ).

Tetapi ada pula para sarjana yang berpendapat bahwa diet dengan rendah protein akan membantu menurunkan pemecahan protein endogen.



Dengan cara dialisa dan diet rendah protein dapatlah menurunkan kadar kreatinin ( 12, 15 ).

#### 4.2. Kreatinin menurut reaksi jaffe.

Menurut jaffe maka kreatinin dalam serum yang telah bebas dari protein bereaksi dengan pikrat-basa menjadi warna merah kuning.

Terbentuknya warna merah kuning karena adanya tautomeri dari kreatinin pikrat. ( 8, 11 )



## BAB II

### CARA KERJA

#### 1. Penentuan kadar glukosa dalam darah menurut semi mikro dari Somogyi - Nelson. (11)

##### 1.1. Prinsip.

1.1.1. Glukosa bersifat sebagai "reducing agent" karena dalam struktur molekulnya terdapat gugus aldehid glukosa ini mereduksi larutan kupri dalam suasana (alkalis) panas.

Kemudian kupri yang telah direduksi ini dengan arseno - molibdat membentuk kompleks yang berwarna biru.

##### 1.2. Bahan :

1.2.1. Glukosa yang diberikan secara "oral" untuk pemeriksaan "Oral glucose tolerance test"

1.2.2. Sebagai sampel darah diambil darah dari vena penderita uremi dan juga darah vena dari orang normal yang telah memenuhi syarat.

1.2.3. Larutan standar glukosa 100 mg % dalam asam benzoat 0,2 %, dan ambil 10 ml encerkan sampai 100 ml sehingga konsentrasinya = 0,1 mg/ml.

### 1.3. Reagensia :

1.3.1. Larutan barium hidroksida 0,3 N dibuat dengan cara melarutkan 45 gram  $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$  dalam air suling 1 liter.

1.3.2. Larutan seng sulfat 5 %. dibuat dengan cara melarutkan  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  50 gram dalam air suling 1 liter.

### 1.3.3. "Cepper Reagent"

- a. Larutkan 28 gram disodium pospat dan 40 gram kalium natrium tartrat dalam 700 ml air suling.
- b. tambahkan 100 ml 1 N natrium hidroksida dan kocoklah sampai larut sempurna.
- c. tambahkan dengan hati-hati dan dengan pengadukan yang tetap 80 ml dari larutan kupri sulfat 10 %.
- d. setelah rata tambahkan natrium sulfat anhidrus sebanyak 180 gram dan kocok serta campurlah sampai rata dan larut.
- e. kemudian encerkan dengan air suling sampai garis batas 1 liter, kocok sampai rata.
- f. diinkan selama 48 jam dan saringlah



bilamana diperlukan.

#### 1.3.4. Arseno molibdat.

- a. tambahkan 50 gram ammonium molibdat ke dalam 900 ml air suling dan kocoklah sampai larut.
- b. tambahkan dengan hati-hati 42 ml asam sulfat pekat dengan pengadukan yang tetap.
- c. kemudian ditambahkan 6 gram dinatrium arsenat yang mengandung tujuh air kristal, yang dilarutkan dalam 50 ml air suling dan aduklah atau kocoklah sampai larut.
- d. kemudian pindahkan dalam botol bertutup berwarna coklat dan diinkubasi dalam inkubator pada  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 - 48 jam.

#### 1.6. Alat-alat.

- alat-alat gelas
- alat pemanas
- inkubator dengan termometer
- alat pemusing
- alat kolorimeter dari Kletti Sumneron.



## **1.5. Pelaksanaan.**

### **1.5.1. Pengambilan sampel.**

\* Sebagai sampel dalam penelitian ini diambil penderita uremi yang berumur antara 11 - 72 tahun, sejak September 1976 sampai dengan Maret 1977 dan memenuhi syarat-syarat sebagai berikut :

- a. - mempunyai kadar kreatinin dalam serum lebih besar dari 2 mg %.
- b. - dapat menerima pemberian glukosa secara "per oral".
- c. - tidak menderita penyakit lain yang menyebabkan gangguan metabolisme karbohidrat termasuk gangguan toleransi glukosa, seperti diabetes mellitus, hipertiroid, penyakit hati.
- d. - dirawat dalam R.S. Dr. Soetomo.

\* Untuk orang normal sebagai kontrol maka diambil :

- a. - mempunyai kadar kreatinin tidak lebih dari batas harga normal.
- b. - dapat menerima pemberian glukosa secara "per oral".
- c. - tidak mempunyai penyakit lain yang menyebabkan gangguan terhadap metabolisme karbohidrat.

Pada penderita uremi dan orang normal yang akan melakukan "glukose tolerance test" maka pada mereka diharuskan berpuasa selama minimum 8 jam dan maksimum 16 - jam sebelum saat pemeriksaan.

Semua kita ambil darah vena, sebagian untuk pemeriksaan kreatinin dalam botol lain tanpa diberi anti - koagulasi dan sebagian untuk pemeriksaan glukosa saat puasa dengan memakai anti koagulan natrium florida.

Kemudian setelah pengambilan sampel saat puasa, maka kita berikan glukosa secara "per-oral" dengan takaran:

- a. berat badan yang kurang atau sama dengan 50 kg kita berikan bebab glukosa sebanyak 50 gram.
- b. untuk yang mempunyai berat badan lebih dari 50 kg kita berikan bebab glukosa sebanyak 75 gram.

Setelah selesai pemberian glukose per-oral maka 1 jam, 2 jam dan 3 jam kemudian, kita ambil darahnya dari vena untuk pemeriksaan glukosa masing-masing dengan antikoagulasi natrium florida.

#### 1.5.2. Pengerjaan sampel.

- a. Dipipet 0,1 ml darah, dimasukkan dalam tabung reaksi 8 ml yang telah diisi dengan air suling 1,5 ml dan kocok sampai rata.



- b. Tambahkan 0,2 ml barium hidroksida 0,3 N.
- c. Tambahkan larutan seng sulfat 5 % 0,2 ml, kocok sampai rata.
- d. Setelah 5 - 5 menit dipusingkan dalam alat penusing selama 5 - 10 menit.
- e. Filtrat diambil 1 ml dimasukkan dalam tabung yang mempunyai batas volume 25 ml.
- f. Kemudian kedalam tabung ini ditambahkan 2 ml "copper reagent" dan kocok sampai rata.
- g. Sebagai blanko diambil hanya larutan 2 ml "copper reagent" dalam tabung 25 ml.
- h. Untuk standard diambil 0,1 mg/ml sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan air suling 1 ml dikocok rata, diambil 1 ml masukkan dalam tabung folin WU 25 ml, dan tambahkan "copper reagent" 2 ml.
- i. Semua blanko, standar dan sampel yang akan kita tentukan itu kita masak bersama-sama dalam air mendidih selama 10 - 15 menit.

- j. Setelah waktu memasak cukup, maka kita angkat dan kita dinginkan dengan bantuan air dingin.
- k. Kemudian setelah dingin kita tambahkan reagen arseno molibdat 2 ml dan dikocok sampai rata.
- l. Setelah itu kita tambahkan air suling sampai mencapai volume batas 25 ml, kocok sampai rata.
- m. Diamkan beberapa lama supaya warnanya stabil dan bacalah dalam kuvet dari alat Klett Summerson dengan menggunakan filter hijau.

#### 1.5.5. Perhitungan :

$$\frac{OD_U}{OD_S} \times \text{mg standar} \times 1000 = \text{mg \% glukosa.}$$

$OD_S$  = pembacaan dari larutan standar

$OD_U$  = pembacaan dari larutan yang ditentukan.

## 2. Penentuan kadar kreatinin dalam serum. (10)

### 2.1. Prinsip menurut cara penentuan kreatinin oleh:

Folin-Wu (modifikasi) :

Kreatinin dalam serum yang telah dibebaskan dari protein, maka dengan reagensia

pikrat basa akan membentuk warna merah kuning. Pembentukan warna ini disebabkan karena da adanya tautomeri dari kreatinin pikrat menurut reaksi oleh Jaffe.

## 2.2. Bahan :

2.2.1. Serum penderita uremi yang diambil saat puasa bersama-sama dengan penentuan kadar gula puasa.

## 2.3. Reagensia :

2.3.1. Natrium Wolframat 10% dibuat dengan melarutkan 100 gram natrium wolframat dalam 1 liter air suling.

2.3.2. Asam sulfat 1/12 N.

Dibuat dengan cara menambahkan 1,15 ml asam sulfat pekat kedalam 500 ml air suling.

2.3.3. Asam pikrat 1 %.

Dibuat dengan melarutkan 12 gram asam pikret dalam 1 liter air suling.

2.3.4. Natrium hidroksida 10 %.

Dibuat dengan melarutkan 100 gram natrium hidroksida 100 gram dalam 1 liter air suling.



**2.3.5. Asam klorida 0,1 normal.**

Dibuat dengan cara mengencerkan 16 ml asam klorida pekat kedalam 2 liter air suling.

**2.3.6. Larutan pikrat basa.**

Dibuat dengan cara mencampurkan larutan asam pikrat diatas sebanyak 5 bagian volume ditambah dengan 1 bagian volume natrium hidroksida 10 %.

**2.3.7. a. Sebagai larutan standar dipakai kreatinin dalam asam klorida 0,1 N.**

Pembuatan dari 50 (mg) kreatinin dalam 0,1N. HCl sampai larut dalam labu ukur 50 ml, dan setelah larut ditambahkan HCl 0,1N sampai pada volume batas 50 ml.

Sebelum ini ditambahkan beberapa tetes toluen sebagai pengawet.

**b. Sebagai standar kerja diambil dari larutan standar kreatinin diatas (1 mg/ml) sebanyak 3 ml dalam labu ukur 500 ml tambahkan 5 ml HCl 0,1N, kocok rata kemudian encerkan sampai pada volume batas dengan aquadestilata, kocok sampai homogen.**

larutan ini kita ambil sebagai larutan standar kerja dengan konsentrasi 3 mg dalam 500 ml atau 6 mg/liter atau 0,006 mg/ml.

#### **2.4. Pelaksanaan :**

##### **2.4.1. Pengambilan sampel.**

Sampel yang telah memenuhi persyaratan seperti pada penentuan kadar gula dalam darah diatas. Disini sebagai sampel kita ambil serum dari darah penderita uremi untuk pengumpulan data-datanya dan juga serum dari darah orang normal sebagai kontrol. Untuk penentuan kreatinin diambil sekali saja yaitu kita pilih saat sebelum dilakukannya pemberian glukosa secara "per-oral".

##### **2.4.2. Pengerjean sampel.**

- a. Asam sulfat 16 ml ditambh 2 ml serum, kemudian dikocok sampai homogen dan diinkan selama 10 menit (dalam orienmeyer).
- b. Kemudian tambahkan 2 ml dari 10% natrium wolframat dan kocoklah hingga rata serta diinkan 10 menit.

- c. Kemudian disaring.
- d. Diambil filtratnya sebanyak 5 ml.
- e. Untuk blanko diambil 5 ml air suling.
- f. Untuk standar diambil larutan kreatinin yang mempunyai kadar 0,03 mg/5 ml atau 0,006 mg/ml.
- g. Dalam waktu yang bersamaan dari ad, d, e dan f diatas kita tambahkan 2,5 ml larutan pikrat alkalis kemudian dikocok rata, diamkan selama 20 menit, kemudian dibaca dalam kolorimeter dari Klett Summerson dengan memakai filter hijau.

#### 2.4.3. Perhitungan :

$$\frac{OD_U}{OD_S} \times 6 = \text{mg \% kreatinin.}$$

$OD_U$  = pembacaan untuk larutan yang ditentukan.

$OD_S$  = pembacaan untuk larutan standar.