

OPTIMASI KONSENTRASI LARUTAN STANDAR TMP (1,1,3,3-TETRAMETOKSI PROPANA) PADA PRAKTIKUM DAN PENELITIAN UJI KADAR MDA (MALONDIALDEHID) DI LABORATORIUM RISET FKIK UNIB

Optimization of the concentration of TMP (1,1,3,3-tetramethoxypropane) standard solution in practical work and MDA (malondialdehyde) content testing research at the FKIK UNIB Research Laboratory


Yulita Gumala Sari^{*1}, Putjha Melati¹, Oktoviani¹, dan Anggi Febrianti²

¹Universitas Bengkulu, Indonesia

²Universitas Andalas, Indonesia

*Email Co-Authors : yulitagumala@gmail.com

Info Artikel	
DOI : 10.33369/pelastek.v5i2.42940	
Kata Kunci: Optimasi, TMP, MDA, TBARS, Spektrofotometer	Abstrak Uji kadar MDA (Malondialdehid) merupakan salah satu mata acara praktikum dan penelitian yang sering dilakukan oleh mahasiswa FKIK UNIB dilaboratorium. Belum adanya penentuan/optimasi konsentrasi larutan standar TMP dalam pengujian kadar MDA selama ini, mengakibatkan waktu yang dibutuhkan dalam pengujian menjadi lebih lama dan data tidak valid. Tujuan penelitian Optimasi Konsentrasi Larutan Standar TMP (1,1,3,3-Tetrametoksipropana) pada Praktikum dan Penelitian Uji Kadar MDA (Malondialdehid) di Laboratorium Riset FKIK UNIB ini diantaranya menentukan konsentrasi larutan standar TMP yang optimal, sehingga diharapkan memperoleh data hasil pengujian yang valid. Metode optimasi konsentrasi TMP pada penelitian ini menggunakan metode uji kadar MDA dengan Tes <i>thiobarbituric acid-reactive substance</i> (TBARS), dengan prinsip dasar uji adalah reaksi spektrofotometrik sederhana, dimana satu molekul MDA didalam larutan standar TMP akan bereaksi dengan larutan TBA dan TCA sehingga terpecah menjadi 2 molekul 2-asam thiobarbiturat. Larutan Standar TMP dibuat sebanyak 7 konsentrasi dan masing-masing konsentrasi dioptimasi dengan menggunakan panjang gelombang maksimum di 532 nm. Konsentrasi optimum pada larutan standar mendapatkan nilai regresi (r) lebih dari 0,99 sesuai dengan persyaratan data linearitas.
Keywords: Optimization, TMP, MDA, TBARS, Spectrophotometer	Abstract The MDA (Malondialdehyde) level test is one of the practicum and research subjects that is often carried out by FKIK UNIB students in the laboratory. The absence of determination/optimization of the concentration of the TMP standard solution in testing MDA levels so far results in the time required for the test being longer and the data

	being invalid. The purpose of the research, Optimization of TMP (1,1,3,3-Tetramethoxypropane) Standard Solution Concentration in Practicum and Research of MDA (Malondialdehyde) Level Test in FKIK UNIB Research Laboratory, is to determine the optimal concentration of TMP standard solution, so that it is expected to obtain valid test result data. The TMP concentration optimization method in this study uses the MDA level test method with the thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) test, with the basic principle of the test being a simple spectrophotometric reaction, where one MDA molecule in the TMP standard solution will react with TBA and TCA solutions so that it is split into 2 molecules of 2-thiobarbituric acid. The TMP Standard Solution was made in as many as 7 concentrations, and each concentration was optimized using the maximum wavelength at 532 nm. The optimum concentration of the standard solution obtained a regression value (r) of more than 0.99, following the requirements of linearity data.
Riwayat Artikel: Diterima: 25 Juni 2025 Revisi: 28 Juni 2025 Diterima: 20 November 2025	Ini adalah artikel akses terbuka di bawah lisensi CC-BY-SA . 

PENDAHULUAN

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Bengkulu (FKIK UNIB) memiliki dua laboratorium utama yang mendukung kegiatan akademik, yaitu Laboratorium Biomedik untuk keperluan praktikum dan Laboratorium Riset yang digunakan dalam kegiatan penelitian. Meski memiliki fungsi yang berbeda, kedua laboratorium ini tetap berkolaborasi dalam berbagai kegiatan ilmiah, baik dalam bentuk praktikum maupun penelitian. Salah satu kegiatan yang rutin dilaksanakan adalah praktikum biokimia yang membahas analisis Peroksida Lipid dalam cairan biologis, yang lebih dikenal dengan pemeriksaan kadar Malondialdehid (MDA). Praktikum ini bertujuan untuk mengukur kadar MDA dalam plasma darah, sebagai salah satu indikator terjadinya stres oksidatif di dalam tubuh.

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu produk akhir dari proses peroksidasi lipid yang sering dijadikan indikator biologis terjadinya stres oksidatif dalam tubuh. Peningkatan kadar MDA umumnya dikaitkan dengan kerusakan sel akibat radikal bebas, sehingga pengukuran MDA menjadi penting dalam berbagai penelitian biomedis, terutama yang berkaitan dengan penyakit degeneratif, inflamasi, dan gangguan metabolik. Oleh karena itu, MDA kerap kali dijadikan *marker* yang tepat untuk menilai kecepatan (*rate*) proses peroksidasi lipid dan menggambarkan derajat stres oksidatif yang terjadi didalam tubuh manusia. MDA merupakan *biomarker* atau indikator biologis yang umum digunakan selama ini yang dinilai tepat dan akurat untuk menentukan stres oksidatif pada suatu klinis/penyakit (Zahara, 2017).

Salah satu metode yang sering diterapkan untuk mengukur kadar MDA adalah metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS), yang didasarkan pada prinsip spektrofotometri (König & Berg, 2002). Dalam pengujian MDA menggunakan spektrofotometri, diperlukan penggunaan larutan standar untuk membentuk kurva kalibrasi. Kurva ini memungkinkan perhitungan konsentrasi MDA dalam sampel melalui persamaan regresi linier. Oleh karena itu, penting untuk menghasilkan kurva standar yang memenuhi kriteria optimasi pengukuran, yakni dengan nilai koefisien regresi linier ($r \geq 0,99$).

Kurva standar diperoleh melalui pengukuran deret konsentrasi larutan standar, seperti larutan TMP (*1,1,3,3-Tetrametoksipropana*), yang diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum sekitar 532 nm. TMP berfungsi sebagai prekursor MDA karena ketidakstabilannya, yang menyebabkan senyawa ini terhidrolisis menjadi MDA dan alkohol dalam kondisi tertentu. Linearitas dalam metode analisis ini menggambarkan seberapa baik hubungan antara respons instrumen (y) dan konsentrasi (x), yang dinilai melalui koefisien korelasi (r) dalam analisis regresi linier persamaan $Y = a + bX$. Suatu metode dianggap memenuhi syarat linearitas jika memiliki koefisien korelasi (r) lebih besar dari 0,99 atau nilai koefisien variasi fungsi (V_{x0}) lebih kecil dari 5% (Indrayanto & Yuwono, 2003; Gandjar & Rohman, 2007).

Selama ini, pengujian kadar MDA dalam kegiatan praktikum dan penelitian di Laboratorium FKIK UNIB belum menggunakan larutan standar TMP sebagai referensi kuantifikasi. Sebagai alternatif, perhitungan konsentrasi MDA dilakukan dengan mengandalkan rumus nilai ekstingsi, yang berpotensi menghasilkan variasi dalam akurasi pengukuran. Ketidadaan proses optimasi terhadap konsentrasi larutan standar TMP menunjukkan adanya kebutuhan akan penelitian yang bertujuan untuk menetapkan konsentrasi standar yang ideal. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan prosedur uji MDA yang lebih valid dan terstandarisasi, serta menjadi acuan dalam pelaksanaan praktikum dan penelitian selanjutnya di Laboratorium Riset FKIK UNIB.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang berlangsung selama 6 bulan (Juni–November 2024) di Laboratorium Riset dan Biomedik, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Bengkulu. Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik, *refrigerator*, Spektrofotometer UV-Vis, sentrifus, tabung sentrifus, kuvet, *waterbath*, tabung reaksi, labu ukur 5 ml, labu ukur 10 ml, labu ukur 25 ml, labu ukur 50 ml, mikrotube, rak mikrotube, rak tabung reaksi, mikropipet 1- 5 μ L, mikropipet 10 μ L, mikropipet 200 μ L, mikropipet 1000 μ L, mikrotip, gelas kimia, termometer, pipet tetes, penjepit, kertas label, sudip, batang pengaduk, parafilm, dan aluminium foil. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya, TMP (*1,1,3,3 Tetrametoksipropana*), TBA (Asam Tiobarbiturik), TCA (Asam Trikolasetat), asam asetat, *aquabidest*, alkohol 70 %, batu es/ *ice pack*, dan tisu.

Pembuatan Larutan Stok dan Larutan Standar TMP

Larutan stok TMP dibuat dengan mengencerkan larutan induk TMP 6 M menjadi 10 ppm. Larutan stok diencerkan sebanyak 7 kali untuk mendapatkan variasi deret konsentrasi yang berbeda sebagai larutan standar yang akan dioptimasi konsentrasinya.

Optimasi Panjang Gelombang Maksimum TMP

Optimasi panjang gelombang akan dilakukan dengan cara melakukan scanning panjang gelombang terlebih dahulu pada Spektrofotometer UV Vis dengan kisaran panjang gelombang 400-600 nm. Larutan TMP (salah satu konsentrasi dari larutan standar) diberi larutan TCA 10% dan TBA 0,67% disentrifus, kemudian di-*scanning* pada rentang panjang gelombang 400-600 nm. Prinsip kerja dari pengukuran MDA adalah reaksi satu molekul MDA dengan dua molekul asam tiobarbiturat (TBA) membentuk warna merah muda yang pada umumnya diukur pada spektrofotometer panjang gelombang 532 nm. Toleransi panjang gelombang yang diperbolehkan untuk jangkauan 400 nm hingga 600 nm yaitu lebih kurang 3 nm. (DepKes RI, 1995).

Optimasi Konsentrasi Larutan Standar TMP dengan Metode TBARS

Optimasi konsentrasi larutan standar TMP dilakukan dengan cara larutan standar yang sudah dibuat masing-masing diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan langkah kerja pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Cara Kerja Uji Kadar MDA (Jusman, 2000)

BAHAN	UJI	BLANKO
Larutan TMP (5 konsentrasi)	0,25 mL	
Akuades		0,25 mL
Larutan TCA 10% (suhu dingin)	0,50 mL	0,50 mL
	Larutan dihomogenkan, disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 5 menit, dan diambil supernatannya.	
Larutan TBA 0,67%	0,75 mL	0,75 mL
	Larutan dihomogenkan kemudian dimasukkan ke penangas mendidih (100 °C) selama 10 menit, dinginkan, dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum diperoleh.	

Langkah pada tabel diatas dilakukan untuk masing-masing konsentrasi larutan standar TMP, sehingga akan diperoleh nilai absorban pengukuran. Konsentrasi optimum dipilih jika nilai absorban berada pada rentang 0,2 – 0,8 (Afifah, 2018). Nilai absorban yang diperoleh kemudian dihitung kurva standarnya untuk dilihat nilai linearitasnya. Masing-masing konsentrasi larutan standar dan hasil pengukuran absorbansinya diplot sebagai kurva standar.

Dilakukan perhitungan menggunakan persamaan regresi $y = a + bx$, dengan koefisien korelasi (r) untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi larutan standar. Persyaratan data linieritas untuk validasi metode bisa diterima jika memenuhi nilai koefisien korelasi (r) lebih besar dari 0,99 atau memiliki nilai koefisien variasi fungsi (V_{xo}) yang lebih kecil dari 5% (Indrayanto dan Yuwono, 2003). Jika didapatkan nilai r mendekati 0,99 maka deret konsentrasi larutan standar yang diperoleh sudah dioptimasi dan bisa digunakan sebagai acuan uji MDA menggunakan larutan standar TMP.

HASIL PENELITIAN

Larutan Stok dan Larutan Standar TMP

Larutan induk TMP dibuat dengan 2 tahapan, yaitu dengan membuat larutan induk TMP dengan konsentrasi 100 ppm, kemudian diencerkan lagi dengan menggunakan Aquabides menjadi larutan induk dengan konsentrasi 10 ppm. Larutan induk TMP dengan konsentrasi 10 ppm ini diencerkan lagi hingga dapat digunakan untuk membuat deret konsentrasi larutan standar TMP sebanyak 7 (tujuh) deret konsentrasi dalam pengujian. Masing-masing konsentrasi larutan standar dibuat sebanyak 5 ml. Larutan TMP yang digunakan berwarna bening.

Panjang Gelombang Maksimum TMP

Panjang gelombang maksimum diperoleh dengan mengukur panjang gelombang salah satu konsentrasi larutan deret TMP, pada rentang panjang gelombang 500-600 nm dengan menggunakan Spektrofotometer UV Vis. Pada pengujian kali ini larutan TMP yang digunakan untuk panjang gelombang maksimum yaitu menggunakan larutan deret TMP dengan konsentrasi

0,001 ppm. Panjang gelombang yang didapatkan adalah di 532 nm sesuai dengan literatur (Jusman, 2000). Untuk pengujian selanjutnya maka digunakan panjang gelombang 532 nm.

Optimasi Larutan Standar TMP

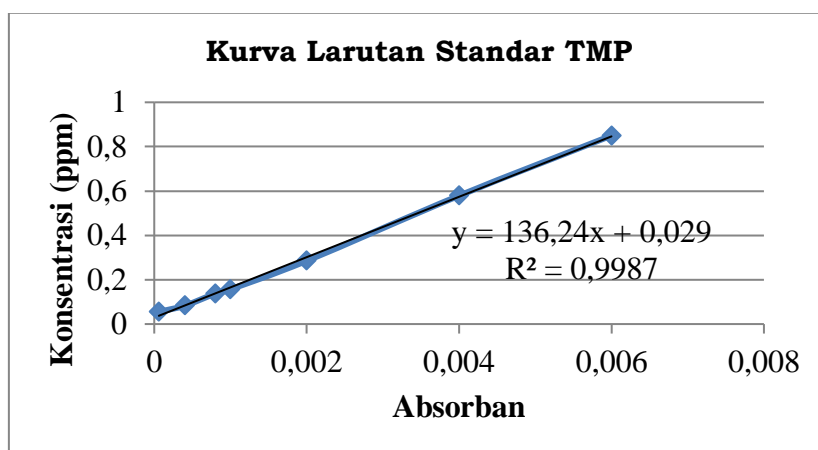
Optimasi 7 (tujuh) deret konsentrasi larutan TMP diukur dengan menggunakan Spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang 532 nm sesuai dengan panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Metode yang digunakan pada pengujian ini yaitu metode TBARS. Masing-masing konsentrasi larutan standar diambil sebanyak 0,25 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu dimasukkan larutan TCA dingin 10% kedalam masing-masing konsentrasi sebanyak 0,50 ml, dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah itu, larutan diberikan larutan TBA 0,67% sebanyak 0,75 ml kemudian dipanaskan di waterbath selama 10 menit dengan suhu 100° C. Setelah dipanaskan, larutan yang awalnya berwarna bening berubah warna menjadi merah muda. Menurut Jusman (2000), larutan (setelah protein diendapkan dengan memberikan TCA sebelumnya), akan bereaksi dengan asam tiobarbiturat dan menghasilkan kromofor berwarna merah muda yang dibaca dengan panjang gelombang 532 nm. Setelah larutan didinginkan, dilanjutkan dengan pengukuran menggunakan Spektrofotometer UV Vis dan dicatat nilai absorbansi yang didapatkan.

Hasil pengukuran pada 7 variasi konsentrasi larutan standar TMP dengan metode TBARS pada panjang gelombang 532 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada **Tabel.2**

Tabel 2. Hasil Pengukuran Absorban Larutan Standar TMP

Konsentrasi (ppm)	Absorban
0,00006	0,055
0,0004	0,083
0,0008	0,137
0,001	0,157
0,002	0,285
0,004	0,579
0,006	0,850

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi yang ada pada tabel didapatkan kurva standar, sehingga dapat diketahui nilai regresinya. Dapat dilihat pada **Gambar 1** dibawah ini, kurva standar dan nilai regresinya.



Gambar 1. Kurva Standar Larutan Standar TMP

Kurva standar pada Gambar 2, diperoleh nilai regresi sebesar 0,9987. Nilai ini diartikan bahwa hasil pengukuran dapat diterima. Dari hasil nilai regresi yang diperoleh pada pengujian ini, sesuai dan memenuhi persyaratan data linieritas. Data linearitas untuk validasi metode bisa diterima jika memenuhi nilai koefisien korelasi (r) lebih besar dari 0,99 (Indrayanto dan Yuwono,2003).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa metode optimasi larutan TMP dalam penentuan kadar MDA dilakukan menggunakan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS) dengan bantuan instrumen Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm. Optimasi tersebut menghasilkan tujuh deret konsentrasi larutan TMP yang digunakan untuk membentuk kurva standar. Kurva standar yang diperoleh memenuhi kriteria linearitas pengukuran, ditunjukkan dengan nilai koefisien regresi linier (r) yang lebih besar dari 0,99. Hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan layak untuk diterapkan dalam penentuan kadar MDA secara spektrofotometrik di lingkungan laboratorium riset dan pendidikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Bengkulu yang telah memfasilitasi penulis selama melakukan penelitian ini dan kepada tim peneliti yang telah bekerja sama dalam penelitian ini hingga akhir.

REFERENSI

- Afifah, M. (2018). Pengembangan dan Validasi Metode Uji Aktivitas Antihiperlipidemia Secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember
- Andiriyani, M.M. (2014). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan Pasca Paparan Asap Rokok. Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjung Pura, Pontianak.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). Farmakope Indonesia. Edisi keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gandjar, I. G., dan A. Rohman. (2007). Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Indrayanto, G., dan M. Yuwono. (2003). Validation of TLC Analyses in Encyclopedia of Chromatography. Surabaya: Airlangga University Indonesia.
- Jusman S.W.A., et al. (2000). Biokimia: Eksperimen Laboratorium. Widya Medika: Jakarta.
- Konig, D., dan Berg, A. (2002). Exercise and Oxidative Stress: is there a need for additional antioxidant. *Osterreichisches J Fur Sportmedizin*, 3:6-15
- Zahara, N.I. (2017). Pengaruh Pemberian Ekstrak Semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap kadar Malondialdehid Hepar pada Tikus Wistar Jantan dengan Diet Tinggi Lemak. Skripsi. Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.