

**PENUNTUN PRAKTIKUM
BIOKIMIA**



Nama Mahasiswa :
NIM :
Semester/Kelas :
Dosen :

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS BINAWAN
JAKARTA 2021**

VISI DAN MISI
PROGRAM STUDI S1 FARMASI
UNIVERSITAS BINAWAN

Visi

“Menjadi Prodi Farmasi Unggulan di Indonesia pada tahun 2025 dengan meluluskan tenaga teknis kefarmasian yang berakar dan dapat bersaing secara nasional maupun global”

Misi

1. Menyelenggarakan pendidikan kefarmasian yang berfokus kepada obat bahan alam, klinis komunitas dan pharmapreneur sesuai dengan perkembangan IPTEK agar dapat bersaing secara nasional dan global.
2. Mengembangkan penelitian kefarmasian khususnya dalam bidang obat bahan alam, klinis komunitas dan pharmapreneur.
3. Melakukan pengabdian masyarakat melalui pendekatan farmasi yang berorientasi pada obat bahan alam, klinis komunitas, dan pharmapreneur.
4. Melaksanakan perintisan dan pengembangan jejaring (*net working*) kemitraan di bidang kefarmasian pada tingkat nasional dan internasional.
5. Menghasilkan lulusan yang bertaqwa dan berbudi pekerti luhur serta terampil dalam dunia kefarmasian.

LEMBAR PENGESAHAN

Penuntun Praktikum Biokimia
Program Studi S1 Farmasi

Oleh:

Kartika Rahma S.Si., M.Si.
Sadwika Najmi Kautsari M.Si
(Dosen Pengampu Praktikum)

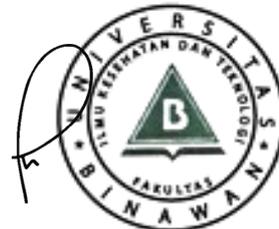
Jakarta, September 2021

Menyetujui,



apt. Ernie Halimatushadyah, M.Farm
(Ka. Prodi Farmasi)

Mengetahui,



Mia Srimati S.Gz., M.Gz
(Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Teknologi)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas rahmat dan petunjuknya sehingga penulis buku Penuntun Praktikum Biokimia dapat diselesaikan. Buku penuntun ini disusun dengan maksud memberi petunjuk dan membantu para mahasiswa dalam pelaksanaan kegiatan praktikum biokimia, di Program Studi Farmasi, Universitas Binawan.

Materi praktikum biokimia yang disajikan merupakan aplikasi teori-teori dengan berupa praktek, dimaksudkan untuk mengimbangi kemampuan mahasiswa dalam menghadapi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi. Agar terjadi proses perkuliahan yang mengarah pada peningkatan skill mahasiswa dalam menghadapi tantangan, baik dari kegiatan praktikum maupun saat penelitian. Praktikum bioimia merupakan mata kuliah dasar namun prakteknya dapat diaplikasikan di berbagai bidang ilmu kesehatan.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang terdapat dalam buku ini. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan dan semoga buku ini bermanfaat bagi semua pihak.

Jakarta, September 2021

Penulis

DAFTAR ISI

VISI DAN MISI PROGRAM STUDI FARMASI.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	iv
TATA TERTIB PRAKTIKUM BIOKIMIA	1
FORMAT LAPORAN PRAKTIKUM	2
PRAKTIKUM I	4
PRAKTIKUM II	7
PRAKTIKUM III	12
PRAKTIKUM IV	14
PRAKTIKUM V	20
PRAKTIKUM VI	24
PRAKTIKUM VII	28
PRAKTIKUM VIII	30
PRAKTIKUM IX	32
PRAKTIKUM X	34
DAFTAR PUSTAKA	37

TATA TERTIB PRAKTIKUM BIOKIMIA

1. Setiap praktikan harus hadir pada setiap materi praktikum, bagi praktikan yang berhalangan karena sakit harap menghubungi dosen pengampu praktikum disertai dengan surat keterangan dari dokter.
2. Praktikan harus menyiapkan :
 - a. Rencana Kerja Praktikum (dalam penuntun praktikum)
 - b. Bagian Bab 1 Pendahuluan, Bab 2 Metode, dan Daftar Pustaka dari Laporan Praktikum mengenai materi praktikum yang akan dilaksanakan, sebagai tiket masuk praktikum sesuai jadwal praktikum.
 - c. Bagi praktikan yg tidak menyiapkan tiket masuk, tidak diperkenankan masuk.
3. Praktikan hadir tepat pada waktunya, keterlambatan lebih dari 15 menit tidak dibenarkan mengikuti praktikum.
4. Sebelum memasuki ruangan praktikum setiap praktikan harus sudah memakai jas praktikum.
5. Praktikan harus menyediakan beberapa peralatan sendiri seperti lap, label kertas, tissue, gunting, dsb.
6. Praktikan bertanggung jawab terhadap alat-alat gelas yang telah disediakan di meja praktikum, baik dari segi ketersediaan (tidak hilang, pecah, atau rusak), kebersihan, maupun kebenarannya (tidak tertukar).
7. Setiap kehilangan atau kerusakan harus dilaporkan kepada petugas laboratorium dan ini menjadi tanggung jawab praktikan yang bersangkutan.
8. Praktikan wajib menjaga ketertiban laboratorium selama praktikum berlangsung antara lain:
 - a. menjaga kebersihan
 - b. tidak dibenarkan berbicara sesama praktikan dan meminjam alat-alat tanpa seijin dosen/laboran.
 - c. tidak dibenarkan meninggalkan praktikum sebelum praktikum selesai.

Lab. Biokimia

FORMAT LAPORAN PRAKTIKUM

a. Format umum

- Ditulis dengan tulisan tangan menggunakan tinta hitam/ biru.
- Ditulis pada kertas folio bergaris.
- Hasil pengamatan saat praktikum ditulis pada Bab Hasil, lalu ditempel sebagai lampiran.

b. Cover Laporan

LAPORAN PRAKTIKUM BIOKIMIA	Hari, Tanggal :
	Waktu :-..... WIB



U N I V E R S I T A S
BINAWAN

JUDUL PRAKTIKUM

Kelompok/ Kelas ...

Nama Anda **NIM Anda**

Dosen Pengampu :

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS IIMU KESEHATAN DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS BINAWAN
JAKARTA
2021

c. Format isi laporan

Format isi laporan adalah sebagai berikut :

I. PENDAHULUAN (maksimal 1 halaman)

a. Dasar teori

(Pada bagian ini, praktikan akan menuliskan beberapa bahan teori yg menjadikan dasar dari praktikum tsb. Topik bahan teori akan di informasikan 1 minggu sebelum praktikum. Dasar teori yang dituliskan harus bersumber dari sumber baku seperti buku/ jurnal. Sumber referensi kemudian di tulis pada bagian Daftar Pustaka)

b. Tujuan Praktikum

II. METODE PRAKTIKUM

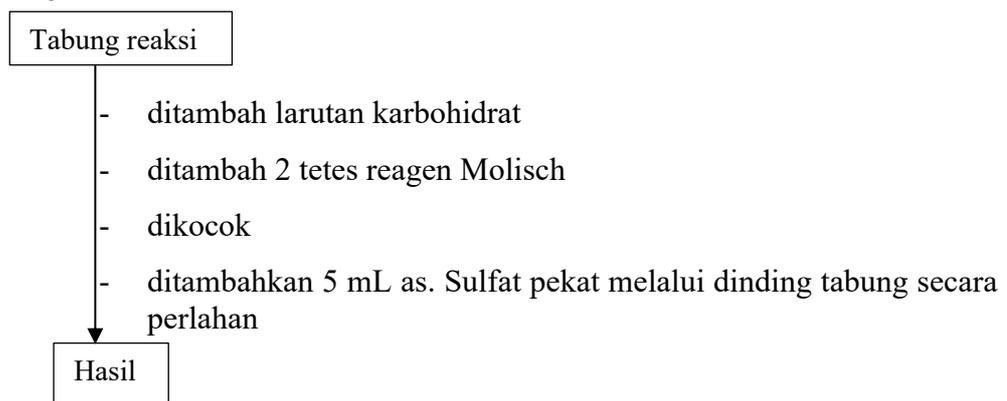
a. Alat

b. Bahan

c. Prosedur Percobaan (dibuat dalam skema kerja)

Contoh :

1.1 Uji Molisch:



1.2 Uji Barfoed ...dsb

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bagian ini dituntut kemampuan analisis mahasiswa dalam membandingkan hasil praktikum dengan jurnal atau referensi terkait. Hasil percobaan dituliskan dengan sejujurnya dalam bentuk tabel, gambar / foto, ataupun grafik. Hasil tersebut kemudian dinarasikan dengan kalimat baku yang disertai dengan argumen dan analisis anda mengenai perbandingannya dengan referensi terkait.

IV. KESIMPULAN

V. DAFTAR PUSTAKA

(penulisan daftar pustaka / referensi menggunakan cara penulisan Harvard)

PRAKTIKUM I

KALIBRASI PIPET MIKRO

Tujuan

Menentukan ketepatan dan ketelitian pipet mikro

Pendahuluan :

Keberhasilan bekerja di laboratorium biokimia bergantung kepada kemampuan untuk memilih dan menggunakan alat ukur yang tepat. Ketepatan dan ketelitian merupakan dasar dari bidang biokimia, karena harus ada keberulangan dalam pengukuran volume dalam jumlah kecil. Anda sudah mengenal bagaimana membaca ketepatan alat gelas yang sederhana (gelas ukur) dan buret yang lebih rumit. Anda akan mulai menggunakan alat ukur baru yang disebut Pipet yang bisa disesuaikan (*Adjustable pipette*)

Ketepatan berhubungan antara volume yang dikeluarkan dan volume yang ingin dikeluarkan. Ketelitian berhubungan dengan keberulangan dari setiap pengukuran. Bila anda diminta untuk mengisi volume 100 μ L ke dalam 5 buah tabung dan anda lakukan mengisi 89,9 μ L, 89,9 μ L, 90,0 μ L, 89,9 μ L dan 89,8 μ L. Volume hasil pengukuran menunjukkan tidak tepat tetapi teliti.

Prosedur :

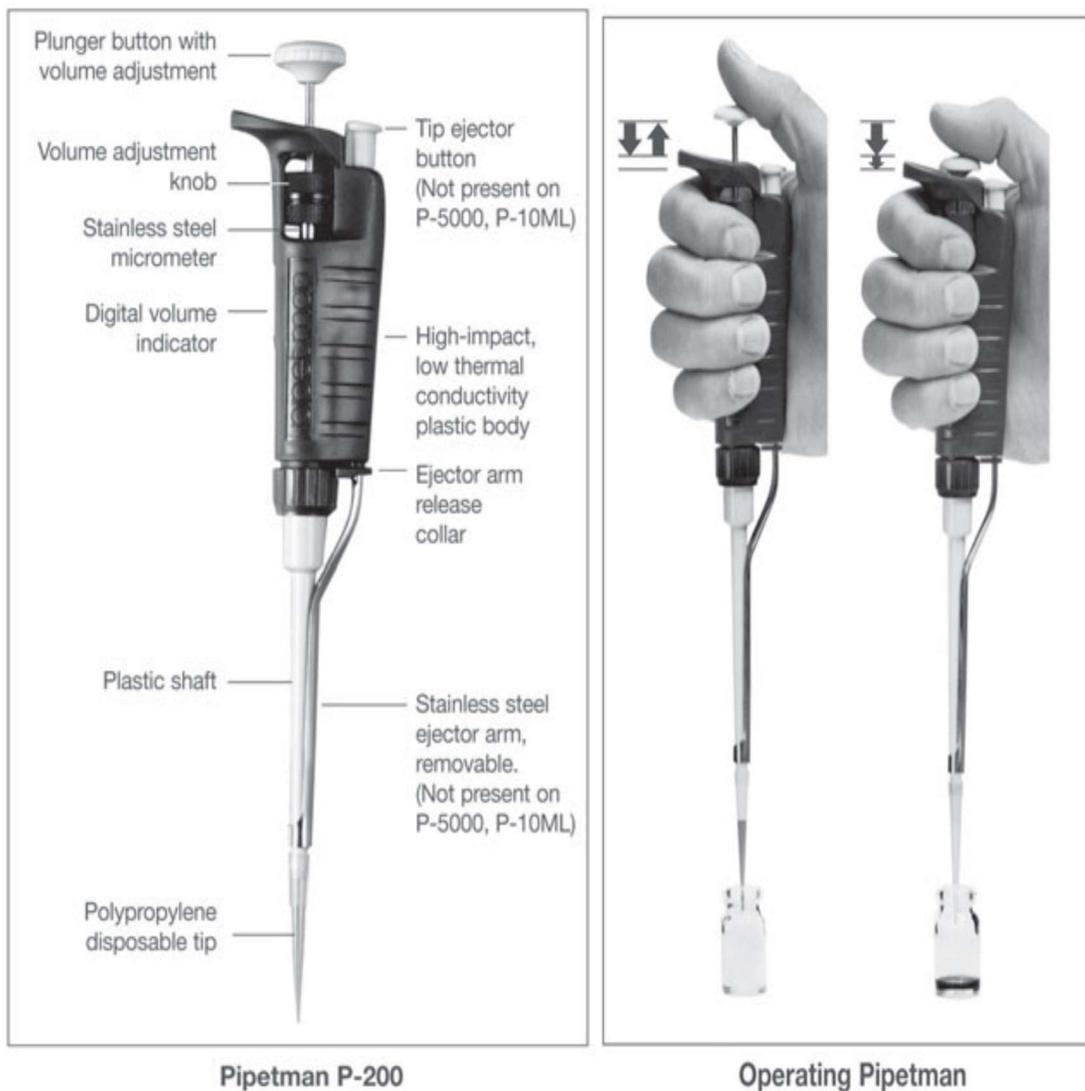
1. Siapkan pipet mikro dan tip yang sesuai untuk pengukuran volume 150 μ L
2. Pipet mikro di set 150 μ L
3. Tempatkan gelas arloji atau boto; timbang diatas piring neraca dan berat di set 0
4. pipet air dan keluarkan air dari pipet ke gelas arloji, catat beratnya
5. ulangi pekerjaan nomor 3 dan 4 sebanyak lebih dari 3 kali.
6. Hitung persen kesalahan dari rata pengukuran dan nilai sebenarnya

$$\% \text{ kesalahan} = \frac{(\text{berat rata rata} - 0,150)}{(0,150\text{g})} \times 100\%$$

Spesifikasi pabrik <1%

7. Hitung standard deviasi dari 4 pengukuran
8. Ulangi prosedur 1-7 untuk 45 μ L dan 645 μ L

9. Ulangi prosedur 1-7 untuk pipet ukur 1mL , timbang berat dari volume 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5mL.
10. Identifikasi alat mana yang mempunyai ketelitian dan ketepatan yang tinggi



Gambar 1.1. Pipet Mikro

Cara Penggunaan pipet mikro

1. Set banyaknya volume yang akan diukur
2. Tempelkan tip pada ujung pipet, dengan cara menekan tip dengan kuat dan sedikit diputar
3. Tekan plunger pada posisi stop yang pertama

4. Celupkan tip pada larutan sampel dengan kedalaman 2-4mm dan biarkan tombol penekan kembali ke posisi atas secara perlahan , tunggu 1-2 detik
5. Keluarkan cairan dari pipet dengan menempatkan ujung tip pada dinding wadah sampel dan tekan plunger secara perlahan sampai stop yang pertama, tunggu 2-3 detik
6. tekan plunger sampai posisi stop yang kedua untuk meniup cairan terakhir keluar
7. Angkat pipet dari wadah sampel, dan biarkan plunger ke posisi atas.
8. Buang tip dengan cara menekan tombol ejector

PRAKTIKUM II KARBOHIDRAT 1

Tujuan

- Melakukan identifikasi senyawa-senyawa karbohidrat
- Mengetahui reaksi-reaksi yang terjadi
- Menentukan senyawa-senyawa karbohidrat secara kualitatif dan kuantitatif

Pendahuluan :

Karbohidrat diidentifikasi sebagai senyawa yang unsur-unsurnya terdiri dari karbon (C), hidrogen (H) dan oksigen (O), dengan perbandingan empiris unsur-unsurnya $(CH_2O)_n$. Senyawa karbohidrat dibagi dalam tiga golongan utama yang terdiri dari monosakarida, oligosakarida dan polisakarida.

Monosakarida merupakan suatu senyawa polihidroksi aldehid (aldosa) atau polihidroksil keton. Pada umumnya monosakarida bersifat optis aktif, mudah larut dalam air, berupa zat padat putih, bila dipanaskan akan berbau karamel dan mempunyai sifat mereduksi. Contoh dari senyawa monosakarida yaitu glukosa, galaktosa, fruktosa dan sebagainya.

Oligosakarida terdiri dari dua atau lebih monosakarida yang dihubungkan dengan ikatan glikosida. Senyawa tersebut dapat dihidrolisa dalam suasana asam menghasilkan monosakarida. Contoh dari senyawa ini antara lain sukrosa, laktosa dan maltosa.

Polisakarida merupakan polimer dari monosakarida. Contoh dari polisakarida ini antara lain amilum, selulosa dan glikogen. Amilum merupakan zat tepung dalam tumbuhan yang dapat dijumpai pada beras, gandum maupun umbi-umbian. Amilum terdiri dari amilosa dan amilopektin. Amilosa mengandung 300 unit glukosa dengan ikatan α -1,4 glukosidik, sedangkan amilopektin terdiri dari 1000 unit glukosa yang bergabung membentuk rantai lurus dengan ikatan α -1,4 glukosidik dan pada setiap 25 atau 30 unit glukosa terdapat rantai cabang dengan ikatan α -1,6 glukosidik. Selulosa terdiri dari \pm 6000 unit glukosa yang dihubungkan dengan ikatan β -1,4 glikosidik membentuk rantai linier. Glikogen merupakan karbohidrat cadangan yang hanya terdapat pada hewan dan manusia, dan mempunyai struktur seperti amilopektin dalam hal unit yang mendirikan molekul adalah glukosa, jenis ikatan pada rantai dan ikatan pada cabang. Glikogen mempunyai massa molekul relative 30.000 dan pada tiap 10 unit glukosa dalam rantai lurus terdapat rantai cabang. Contoh lain dari polisakarida adalah chitin, hemiselulosa dan pektin.

ANALISA KUALITATIF KARBOHIDRAT

2.1 UJI MOLISCH

Hidrolisa ikatan glikosidik pada karbohidrat oleh asam sulfat pekat akan menghasilkan monosakarida, yang terhidratasi menjadi furfural dan derivatnya. Senyawa tersebut kemudian berkondensasi dengan α -naftol membentuk senyawa berwarna.

Pereaksi dan bahan :

- Reagen Molisch : larutkan 10 g α -naftol di dalam 100 mL 95% etil alkohol. Asam sulfat pekat.
- Larutan karbohidrat 1%: glukosa; fruktosa; galaktosa; maltosa; laktosa; sukrosa; dan amilum.

Prosedur :

Tambahkan 2 tetes reagen Molisch ke dalam tabung- tabung reaksi yang telah berisi larutan karbohidrat, kemudian kocok. 5 mL asam sulfat pekat ditambahkan melalui dinding tabung reaksi secara perlahan-lahan.

Pertanyaan :

1. Apa warna cincin yang terbentuk ?
2. Gugus apa dari karbohidrat yang memberikan uji Molisch yang positif ?
3. Mengapa banyak protein juga memberikan uji Molisch yang positif ?

2.2 UJI BENEDICT

Uji Benedict ditujukan untuk identifikasi gula- gula pereduksi. Pada proses reduksi ion kupri dalam suasana basa perlu ditambahkan zat pengompleks seperti sitrat, yang berfungsi untuk mencegah pengendapan CuCO_3 dalam larutan natrium karbonat. Hasil dari oksidasi karbohidrat dalam larutan basa sangat kompleks dan banyak jumlahnya, dan juga belum semuanya dapat diidentifikasi. Maltosa dan laktosa

memberikan uji positif dengan reagen Benedict, sedangkan larutan sukrosa tidak bereaksi karena tidak memiliki gugus aldehid atau gugus keto bebas.

Pereaksi dan bahan :

- Reagen Benedict : larutkan 173 g kristal natrium sitrat dan 100 g natrium karbonat anhidrat di dalam 800 mL air hangat, kemudian saring. Tambahkan kupri sulfat yang telah dilarutkan dalam 100 mL air. Buat larutan menjadi 1 L dengan penambahan air.
- Larutan karbohidrat 1%: glukosa; fruktosa; galaktosa; maltosa; laktosa; sukrosa; dan amilum.

Prosedur :

- Tambahkan 5 tetes larutan karbohidrat ke dalam masing – masing tabung yang telah berisi reagen Benedict, kemudian kocok.
- Masukkan semua tabung reaksi ke dalam penangas air mendidih selama 3 menit, biarkan mendingin dan bandingkan.
- Amati sensitivitas dari reagen Benedict dengan mereaksikannya dengan larutan glukosa encer.

Pertanyaan :

1. Apa warna endapan yang terjadi ?
2. Apa fungsi natrium sulfat ?
3. Apa perbedaan antara reagen Benedict dan Fehling?
4. Senyawa apa di dalam urine yang mengganggu uji Fehling?

2.3 UJI BARFOED

Reagen Barfoed merupakan asam lemah dan hanya dapat mereduksi monosakarida. Pendidihan yang terlalu lama mungkin akan menghidrolisa disakarida sehingga memberikan hasil reaksi positif yang salah. Endapan kupro oksida akan mudah diamati apabila endapan yang berada di dalam tabung reaksi dibiarkan mengendap. Warna Kupro oksida akan berbeda bila dibandingkan dengan reaksi Benedict atau Fehling. Reaksi karbohidrat dengan reagen Barfoed akan menghasilkan Kupro oksida yang berwarna merah bata, sedangkan dengan reagen Benedict akan menghasilkan warna jingga kecoklatan.

Pereaksi dan bahan :

- Reagen Barfoed: Larutkan 13,3g kupri asetat dalam 200 mL air dan 1,8 mL asam asetat glasial. Reagen ini harus selalu dalam keadaan segar.
- Larutan karbohidrat 1%: Glukosa; Fruktosa; Galaktosa; Maltosa; Laktosa; Sukrosa; dan Amilum.

Prosedur :

- Tambahkan 1 mL larutan karbohidrat ke dalam masing – masing tabung yang telah berisi 2 mL reagen Barfoed.
- Masukkan dalam penangas air mendidih selama 1 menit, kemudian angkat dan biarkan mendingin.

Pertanyaan :

1. Apa perbedaan antara reagen Barfoed dan Benedict?
2. Larutan gula mana yang teroksidasi?
3. Apa pengaruhnya bila larutan – larutan tersebut dipanaskan terlalu lama?
4. Dapatkah uji Barfoed dipakai untuk menentukan gula dalam urine?

2.4 UJI IODINE

Iodine bila diadsorpsi oleh larutan polisakarida akan memberikan warna. Warna yang dihasilkan akan bergantung pada jenis polisakarida pengadsorpsi. Larutan Amilum dengan Iodine akan memberikan warna biru, sedangkan larutan Glikogen atau larutan Amilum yang terhidrolisa secara parsial akan menghasilkan warna coklat kemerahan.

Pereaksi dan bahan :

- Larutan Iodine : Larutkan 0,127 g I₂ dalam 100 mL air yang mengandung 3 g KI.
- Larutan karbohidrat 1%: Selulosa; Glikogen; Amilum; dan Inulin.
- Larutan HCl 2N

Prosedur :

- 2.4.1.1 Asamkan 1 mL larutan-larutan selulosa; glikogen; amilum dan inulin dengan larutan HCl encer . Kemudian pada semua tabung ditambahkan 2 tetes larutan Iodine. Amati warna yang terjadi.

2.5 UJI SALIWANOFF

Ketosa akan lebih mudah terdehidrasi membentuk derivat furfural daripada aldosa. Fruktosa oleh asam hidroklorida panas akan diubah menjadi asam levulinat dan hidroksi-metil furfural, kemudian kondensasi antara hidroksi- metil furfural dengan resorcinol menghasilkan senyawa-senyawa berikut : Sukrosa yang mudah terhidrolisa menjadi fruktosa dan glukosa akan memberi reaksi positif dengan reagen salivanoff. Pendidihan lebih lama harus dihindarkan karena aldosa- aldosa akan diubah oleh HCl menjadi ketosa, dengan reagen salivanof akan memberikan warna merah.

Pereaksi dan bahan :

- Reagen salivanoff: larutkan 0,05 g resorcinol dalam 100 mL asam klorida (1:3)
- Larutan karbohidrat 1%: glukosa; fruktosa; galaktosa; maltosa; laktosa; sukrosa; dan amilum.

Prosedur :

- Tambahkan dua tetes larutan karbohidrat ke dalam tabung-tabung yang telah berisi 2 mL reagen salivanoff.
- Selanjutnya masukkan semua tabung reaksi selama satu menit ke dalam penangas air mendidih atau sampai terbentuk warna merah tua dibeberapa tabung reaksi.

Pertanyaan :

1. Larutan apa yang memberikan uji positif tercepat ?
2. Dapatkah uji ini dipakai untuk membedakan sukrosa dari fruktosa

PRAKTIKUM III KARBOHIDRAT 2

ANALISA KUANTITATIF KARBOHIDRAT

Tujuan:

- Menganalisa gula total
- Mengisolasi senyawa karbohidrat

3.1 ANALISA GULA TOTAL DALAM SARI BUAH SECARA SPEKTROFOTOMETRI

Senyawa karbohidrat apabila direaksikan dengan fenol dan asam sulfat pekat akan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna jingga. Serapan warna tersebut mempunyai λ maksimum 490 m μ .

Pereaksi dan bahan :

- Larutan fenol 5%, Asam sulfat pekat, Larutan standar glukosa 500 ppm

Prosedur :

- Timbang 1 g sari buah, kemudian larutkan dalam labu ukur 100 mL.
- Pipet larutan sari buah tersebut diatas sebanyak 5 mL dan diencerkan dengan air hingga 100 mL.
- Apabila larutan sari buah pada pengenceran 1 masih berwarna, maka perlu dilakukan pengerjaan sebagai berikut: 5 mL larutan sari buah sebelum diencerkan harus ditambah 2 g arang aktif, kemudian saring, kertas saring dicuci dengan air, filtrat dan air pencuci disatukan dan diencerkan dengan air sampai volumenya 100 mL .
- Pipet 1,0 mL larutan sari buah 2, masukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi 1,0 mL larutan fenol 5%, aduk, selanjutnya ditambahkan 5 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung dan diaduk kembali.
- Setelah didinginkan selama 30 menit, ukur serapannya pada panjang gelombang 490 m μ .
- Buat larutan standar dari 0; 10; 20; 30; 50; 70 ppm.

3.2 ISOLASI KARBOHIDRAT

Pereaksi dan bahan :

- Etanol 95%, Kentang, Blender, Kain penyaring, Labu dan penyaring buchner

Prosedur :

- Kentang dikupas, dicuci dan dipotong-potong, kemudian ditimbang sebanyak 300g. Masukkan ke dalam blender dan tambahkan 200 mL air, dihomogenkan selama 30 detik. Campuran disaring melalui secarik kain dan filtrat ditampung dalam gelas kimia 600 mL. Tambahkan 100 mL air, kocok, campuran dibiarkan mengendap, kemudian didekantasi. Akhirnya pati disuspensikan dengan 100 mL etanol 95%, saring melalui corong buchner. Pati dikeringkan pada suhu kamar dan ditimbang.

Tugas :

Hitung rendemen pati dalam kentang

PRAKTIKUM IV

ENZIM 1

Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim : Pengaruh Suhu Dan Ph Terhadap Aktivitas Katalase Secara Kualitatif

Tujuan:

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Memahami pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim katalase secara kualitatif
- b. Menganalisis aktivitas enzim katalase dari berbagai macam sumber enzim dalam menghidrolisis H_2O_2 .

Dasar Teori

Enzim atau fermentasi adalah suatu protein yang berfungsi sebagai biokatalisator reaksi-reaksi biokimia pada makhluk biologi. zat-zat yang diuraikan oleh reaksi disebut substrat, dan yang baru terbentuk dari reaksi disebut produk. Spesifisitas enzim sangat tinggi terhadap substratnya, dan enzim mempercepat reaksi kimia spesifik tanpa pembentukan produk samping. Enzim ini bekerja dalam cairan larutan encer, suhu, dan pH yang sesuai dengan kondisi fisiologis biologis (Poedjadi A., & Supriyani, 2006). Melalui aktivitasnya, sistem enzim terkoordinasi dengan baik sehingga menghasilkan hubungan yang harmonis diantara sejumlah aktivitas metabolik yang berbeda, semuanya mengacu atau menunjang kehidupan. Enzim merupakan suatu protein, maka sintesisnya dalam tubuh diatur dan dikendalikan oleh sistem genetika, seperti halnya dengan sintesis protein pada umumnya (Wirahadikusumah, M. 2008).

Aktivitas enzim disebut juga sebagai kinetik enzim. Kinetik enzim adalah kemampuan enzim dalam membantu reaksi kimia. Kemampuan enzim ini dapat dihitung dengan mengukur jumlah produk yang terbentuk, atau dengan menghitung kurangnya substrat dalam satuan waktu tertentu. Selain itu, dapat juga dihitung kurangnya substrat dalam satuan waktu tertentu. Selain itu dapat juga dihitung dengan peningkatan atau penurunan koenzim. Menghitung jumlah substrat, produk, atau koenzim di laboratorium tidak mudah karena jumlahnya yang sangat sedikit. Oleh karena itu, praktek menghitung aktivitas enzim adalah dengan mengukur perubahan absorbansi dalam satuan waktu, pH,

dan suhu tertentu sewaktu reaksi berjalan. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu : suhu, pH, kadar substrat, kadar enzim, inhibitor, dan toksik enzim (Salwanee S, *et al.*, 2013).

Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim

Sebagian besar enzim memiliki suhu optimum yang sama dengan suhu normal sel organisme tersebut. Tiap enzim memerlukan suhu optimum yang berbeda-beda karena enzim adalah protein, yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu berubah. Enzim adalah protein, yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu berubah. Kenaikan suhu di atas suhu optimum dapat mengakibatkan peningkatan atau penurunan aktivitas enzim. Secara umum, tiap kenaikan suhu 10° C, kecepatan reaksi menjadi 2 kali lipat dalam batas suhu yang wajar. Hal tersebut juga berlaku pada enzim. Panas yang ditimbulkan akibat kenaikan suhu dapat mempercepat reaksi sehingga kecepatan molekuler meningkat. Hasilnya adalah frekuensi dan daya tumbukan molekuler juga meningkat (Soewoto H, dkk., 2001).

Akibat kenaikan suhu dalam batas wajar, terjadi perubahan struktur enzim (denaturasi). Enzim yang terdenaturasi akan kehilangan kemampuan katalisnya. Sebagian besar enzim mengalami denaturasi yang tidak dapat balik pada suhu 55- 65°C . pada suhu kurang dari suhu optimum, aktivitas enzim mengalami penurunan. Enzim masih beraktivitas pada suhu kurang dari 0°C dan aktivitasnya hampir terhenti pada suhu 196°C.

Pengaruh pH (keasaman) terhadap aktivitas enzim

Seluruh enzim peka terhadap perubahan pH. Enzim menjadi nonaktif jika diperlukan pada asam basa yang sanfat kuat. Sebagaian besar enzim dapat bekerja paling efektif pada kisaran pH lingkungan yang agak sempit. Di luar pH optimum tersebut, kenaikan atau penurunan pH menyebabkan penurunan aktivitas enzim dengan cepat. Pengaruh pH terhadap kerja enzim dapat terdeteksi karen enzim terdiri atas protein. Jumlah muatan positif dan negatif yang terkandung di dalam molekulprotein serta bentuk permukaan protein sebagian ditentukan oleh pH (Soewoto H, dkk., 2001).

Pengaruh konstentrasi enzim, substrat dan kofaktor terhadap aktivitas enzim

Jika pH dan suhu suatu sistem enzim dalam keadaan konstan serta jumlah substrat berlebihan, laju rekasi adalah sebanding dengan enzim yang ada. Jika pH, Suhu dan konsentrasi enzim dalam keadaan konstan, reaksi awal hingga batas tertentu sebanding

dengan substrat yang ada. Jika sistem enzim memerlukan suatu koenzim atau ion kofaktor, konsentrasi substrat dapat menentukan laju keseluruhan sistem enzim (Bettelheim FA, *et al.* 2010).

Pengaruh inhibitor terhadap aktivitas enzim

Kerja enzim juga dipengaruhi oleh molekul lain. Inhibitor adalah molekul yang menurunkan aktivitas enzim, sedangkan aktivator adalah yang meningkatkan aktivitas enzim. Banyak obat dan racun adalah inhibitor enzim. Zat kimia tersebut merupakan senyawa selain substrat yang biasa terikat pada sisi aktif enzim (substrat normal) sehingga antara substrat dan inhibitor terjadipersaingan untuk mendapatkan sisi aktif. Persaingan tersebut terjadi karena inhibitor mempunyai kemiripan kimiawi dengan substrat normal. Pada konsentrasi substrat yang rendah akan terlihat dampak inhibitor terhadap laju reaksi, kondisi tersebut berbalik bila konsentrasi substrat naik (Pereira JC, *et al.*, 2017).

Pelaksanaan Praktikum

1) Pengaruh suhu pada aktivitas enzim katalase dengan H_2O_2

a. Alat dan Bahan

Alat : Tabung reaksi, beaker glass, gelas ukur, pisau, penggaris, termometer, kompor listrik.

Bahan : Kentang, H_2O_2 , air panas, air dingin/es.

b. Prosedur Kerja

Prosedur 1

1. Kupas kentang dan potong dadu ukuran 5mm.
2. Ambil tabung reaksi, berilah tanda garis dari dasar tabung 5 cm. Kemudian masukan potongan kentang dibawah garis.
3. Tambahkan H_2O_2 hingga tanda garis
4. Setelah satu menit, ukur ketinggian busa/gelembung gas.

Prosedur 2

1. Isi beaker glass dengan air panas 40-45 ° C. Masukan 5 ml H_2O_2 ke tabung reaksi. masukan tabung reaksi tersebut kedalam air panas selama 3 menit.
2. Siapkan tabung reaksi berisi kentang seperti prosedur 1. Tambahkan H_2O_2 ke tabung yang berisi kentang, ukur ketinggian busa/gelembung gas

Prosedur 3

Lakukan hal seperti prosedur 2, namun H_2O_2 direndam dalam air dingin dan masukkan pada potongan kentang. Amati ketinggian gelembung yang terbentuk.

2) Pengaruh pH pada reaksi enzim katalase dengan H_2O_2

a. Alat dan Bahan

Alat : Tabung reaksi, beaker glass, gelas ukur, pisau, penggaris, termometer,

Bahan : H_2O_2 , HCl 1M, NaOH 1 M, hati sapi/ayam

b. Prosedur :

Prosedur 1

1. Gerus hati sapi/ayam dan tempatkan dalam tabung reaksi.
2. Ambil tabung reaksi, berilah tanda garis dari dasar tabung 1 cm. Kemudian masukan gerusan hati dibawah garis.
3. Tambahkan H_2O_2 , hingga tandagaris.
4. Ukur ketinggian busa/gelembung gas.

Prosedur 2

1. Masukkan 1ml H_2O_2 ke tabung rekasi.
2. Siapkan tabung reaksi berisi hati seperti prosedur 1. Tetesi dengan beberapa tetes HCl 1M.
3. Tambahkan H_2O_2 , ke tabung yang berisi gerusan hati dan HCl, ukur ketinggian busa/gelembung

Prosedur 3

Lakukan hal seperti prosedur 2, namun masukkan pada NaOH pada gerusan hati. Tambahkan H_2O_2 , amati ketinggian gelembung yang terbentuk.

3) Pengaruh berbagai macam substrat pada reaksi enzim katalase dengan H_2O_2

a. Alat dan Bahan

Alat : Tabung reaksi, beaker glass, gelas ukur, pisau, penggaris, termometer.

Bahan : Hati, jantung, pepaya, pasir, H_2O_2 , air panas, air dingin/es

b. Prosedur

1. Ambil beberapa tabung reaksi. Berilah tanda garis dari dasartabung 1 cm.
2. Siapkan gerusan hati, jantung, pepaya, dan pasir dan tempatkan dalam

tabung reaksi hingga ketinggian dibawah 1 cm.

3. Tambahkan H₂O₂ hingga tanda garis.
4. Ukur ketinggian busa/gelembung gas pada masing-masing tabung reaksi yang berisi substrat.

Evaluasi

A. Hasil Percobaan

- Pengaruh suhu pada aktivitas enzim katalase dengan H₂O₂

Prosedur	Tinggi busa/gelembung gas
Prosedur 1	
Prosedur 2	
Prosedur 3	

- Pengaruh pH pada reaksi enzim dengan H₂O₂

Prosedur	Tinggi busa/gelembung gas
Prosedur 1	
Prosedur 2	
Prosedur 3	

- Pengaruh berbagai macam sampel pada reaksi enzim katalase dengan H₂O₂

Sampel	Tinggi busa/gelembung gas
Hati	
Jantung	
Pepaya	
Pasir	
Kentang	

B. Pembahasan

Dari hasil percobaan dan pengukuran tinggi busa yang didapatkan, lakukan analisa dan pembahasan tentang hasil dari aktivitas enzim katalase terhadap ke tiga parameter yang digunakan.

C. Laporan (lihat Foramt Laporan Praktikum)

Soal Latihan

1. Pada praktikum kali ini dilakukan pengukuran tinggi busa yang dihasilkan dari aktivitas enzim katalase. Jelaskan apa yang menyebabkan terbentuknya gelembung busa pada praktikum ini?
2. Pada praktikum ini dilakukan penambahan H_2O_2 sebagai substratnya. Jelaskan tujuan penambahan H_2O_2 tersebut?

PRAKTIKUM V

ENZIM 2

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim : Pengaruh Konsentrasi Substrat, Penetapan Km dan Vmax Enzim Amilase

Tujuan

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- Memahami pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim amilase dalam menghidrolisis pati.
- Memahami tetapan Km dan Lineweaver-Burk serta kaitannya dengan aktivitas enzim amilase.

Dasar Teori

Penyelidikan tentang mekanisme kerja enzim dapat didekati dari beberapa arah, antara lain dari struktur tiga dimensi ataupun dari kecepatan reaksi enzim. Suatu penyelidikan tentang kecepatan reaksi yang terjadi karena perubahan parameter secara eksperimental disebut penyelidikan kinetik enzim.

Telah diketahui, bahwa konsentrasi substrat mempengaruhi kecepatan reaksi enzimatik (katalitik). Hubungan antara konsentrasi substrat dengan kecepatan reaksi enzimatik dapat dinyatakan secara kuantitatif. Kurva yang menggambarkan hubungan ini mempunyai bentuk umum hiperbolik. Bentuk kurva hiperbolik itu dapat diekspresikan secara aljabar dan disebut sebagai persamaan Michaelis- Menten, dengan $[S]$ = konsentrasi substrat, V_0 = kecepatan reaksi enzimatik pada $t = 0$, V_{max} = kecepatan reaksi enzimatik maksimum dan K_m = tetapan Michaelis- Menten. Persamaan Michaelis-Menten tersebut adalah sebagai berikut :

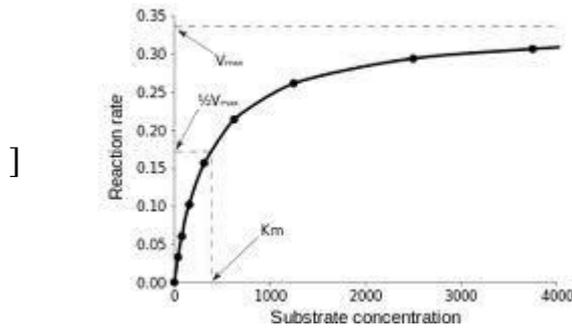
$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

Persamaan ini dapat pula diubah secara aljabar ke dalam bentuk yang lebih operasional untuk menghubungkan data yang diperoleh pada percobaan, yaitu dengan dibalik sehingga diperoleh persamaan

$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Persamaan ini disebut persamaan Lineaweaver-Burk. Persamaan ini berbentuk garis lurus dengan slope (kemiringan garis) = $a = 1/V_{max}$ dan intercept (titik potong) pada absis = $-1/K_m$, titik potong pada sumbu tegak (ordinat) = b , adalah K_m/V_{max} dan garis yang

diperoleh disebut lineaweaver-burk Plot.



Gambar 5.1. Kurva Michaelis-Menten.

Gambar diatas menunjukkan grafik dari kedua persamaan tersebut, secara aljabar, hanya diperlukan 3 titik untuk membuat garis lurus, sedangkan untuk membuat garis lengkung seperti hiperbola diperlukan lebih banyak titik. Secara operasional, hal ini akan sangat mempermudah penentuan kedua nilai bilangan tetap tersebut, karena dengan menggunakan persamaan Lineaweaver-Burk pengukuran kecepatan reaksi cukup dilakukan dalam 3 atau 4 konsentrasi substrat saja. Selain itu, dengan menggunakan persamaan tersebut nilai K_m dan V_{max} dapat langsung dilihat atau dihitung. Sebaliknya, untuk membuat hiperbola yang tepat, sesuai dengan persamaan, diperlukan jumlah titik yang lebih banyak. Nilai maksimum (V_{max}) sukar ditetapkan, sedangkan nilai K_m harus dihitung secara grafis dari kurva.

Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Alat : Tabung reaksi, rak tabung, beaker gelas, Erlenmeyer, gelas ukur, pipet tetes, labu semprot, water bath, spektro Uv-Vis

Bahan : Liur sebagai sumber amilase. Tampunglah 2 mL dalam gelas kimia atau tabung reaksi yang bersih dan kering, larutan pati dalam berbagai konsentrasi, larutan iodium.

b. Prosedur Kerja

1. Encerkan liur 100X dengan air suling.
2. Siapkan larutan pati dengan berbagai konsentrasi (0, 0.2, 0.4, 2, 4, 8, 10 mg/dL)
3. Siapkan 7 pasang tabung reaksi yang bersih dan kering. Tiap pasangan tabung diberi tanda B untuk blanko dan U untuk uji.
4. Pipetkan ke dalam tiap-tiap tabung (lihat tabel)

2. Tuliskan hasil pengukuran densitas optik, kecepatan reaksi, kebalikan konsentrasi substrat ($1/S$) dan kebalikan kecepatan reaksi ($1/v$).

Tabung	Konsentrasi Pati [1/S]	Kecepatan reaksi [1/V]

3. Gambarlah kurva Michaelis Menten yang menyatakan hubungan antara perubahan konsentrasi S dengan kecepatan reaksi v, dengan menggunakan S sebagai sumbu x dan v sebagai y.
4. Gambarlah kurva Lineweaver-Burk, berdasar data diatas dengan membuat persamaan garis regresi liniernya.

B. Laporan (lihat Format Laporan Praktikum)

Soal Latihan

1. Apakah perbedaan dari tetapan Michaelis-Menten dan Lineweaver-Burk pada praktikum ini ?
2. Persamaan Michaelis-Menten merupakan persamaan kecepatan reaksi enzimatik substrat tunggal yang menyatakan hubungan kuantitatif antara kecepatan reaksi awal (V_0) dengan

PRAKTIKUM VI

LIPIDA (1)

Tujuan Praktikum :

- Mempelajari sifat-sifat lipid.
- Mengerti reaksi-reaksi yang terjadi pada lipid.
- Melakukan analisa lipid secara kualitatif dan kuantitatif.

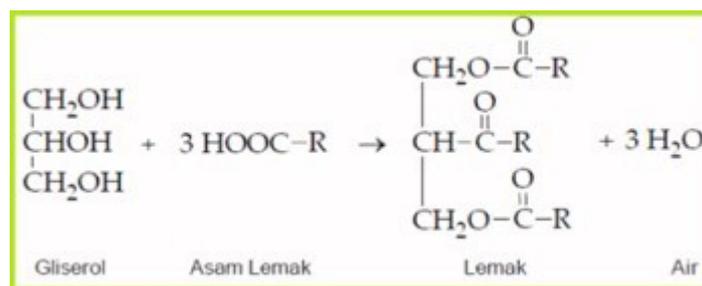
Dasar Teori:

Lipida adalah golongan senyawa organik yang terdapat di alam, merupakan suatu komponen makanan untuk makhluk hidup. Lipida penting bagi manusia, sehubungan dengan beberapa vitamin yang larut dalam lipid (A; D; E; dan K), maka lipid dapat digunakan oleh tubuh di samping untuk memenuhi kebutuhan lemak essensial, juga merupakan sumber energi yang lebih efektif dibanding karbohidrat dan protein.

Lipida merupakan senyawa ester dari asam lemak rantai panjang, sehingga lipid bersifat tidak larut dalam air, tetapi larut didalam pelarut organik, seperti aseton, alkohol, kloroform atau benzen. Lipida yang terdapat pada jaringan hewan dan tumbuhan dapat diekstraksi dengan pelarut organik.

Lipid dapat dikelompokkan dalam dua golongan utama, yaitu lipida sederhana dan senyawa lipid kompleks. Steroid dan vitamin yang larut dalam lipid juga digolongkan dalam turunan lipid. Lemak dan minyak merupakan lipida sederhana. Lemak pada suhu kamar berbentuk padat, sedangkan minyak pada suhu kamar berbentuk cair. Lemak dan minyak merupakan bagian terbesar dan terpenting dari bahan makanan. Lipida terdapat pada hampir semua bahan makanan dengan kandungan yang berbeda- beda.

Lemak adalah ester yang terbentuk oleh kondensasi dari tiga molekul asam lemak dengan satu molekul trihidroksi alkohol, gliserol. Apabila asam lemak ditulis dengan rumus RCOOH, pembentukan lemak adalah sebagai berikut :



Gambar 6.1 Reaksi pembentukan lemak

Tiga asam lemak penyusunnya dalam hal ini tidak harus semuanya sama, tiga asam lemak yang berbeda satu sama lain dapat berkondensasi dengan satu molekul gliserol. Asam lemak yang terpenting yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan adalah asam butirat; asam kaproat; asam palmitat; asam stearat; dan asam oleat.

ANALISIS KUALITATIF LIPIDA

1. KELARUTAN LIPID

Salah satu karakteristik lipid adalah mempunyai kelarutan yang berbeda, dari sifat ini dapat dijadikan dasar untuk mengekstraksi lipida dari bahan hidup. Pada umumnya lipid larut dalam etanol 95% (v/v), tetapi dengan penambahan air dapat membentuk emulsi.

Reagen dan bahan :

Asam lemak (asam butirat, asam stearat, dan asam oleat).

Lemak dan minyak: lard, mentega, margarin, minyak olive, dan minyak ikan, Fosfolipid (Lecitin telur), Kolesterol.

Pelarut : Aseton, etanol, kloroform, dan eter.

Prosedur :

- Periksa kelarutan asam lemak dan lipida dalam air dan pelarut organik.
Bandingkan kelarutan dari berbagai macam lipid.
- Tempatkan 1 tetes larutan lipid diatas kertas saring dan biarkan kering. Amati pembentukan noda minyak. Tambahkan 1 mL air ke dalam tabung yang berisi larutan lipid etanolat, catat apa yang terjadi.
- Tambahkan 3 mL air dalam 2 tabung reaksi, yang telah berisi dua tetes minyak olive dan tabung lainnya yang telah berisi 2 tetes campuran lesitin dan minyak olive. Campuran dikocok dan bandingkan kestabilan emulsi.

2. UJI ASAM LEMAK

Penyabunan : Lemak dan minyak apabila dipanaskan dalam suasana alkali, akan membebaskan asam lemak bebas dan gliserol. Adanya kelebihan basa akan bereaksi dengan asam lemak bebas membentuk garam natrium atau garam kalium yang biasa disebut sabun. Sabun larut dalam air dan mengendap dalam larutan NaCl jenuh.

Reagen dan bahan :

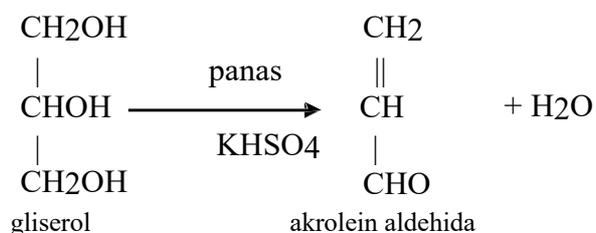
Lemak hewan (mentega), lemak tumbuhan (minyak olive), asam lemak (asam stearat), larutan KOH dalam alkohol (100 g/L), asam klorida pekat, larutan fenolftalein 1%, larutan NaOH 0,1 N, kalsium klorida (50 g/L), magnesium klorida (50 g/L), timbal asetat (50 g/L).

Prosedur :

- 10 g lemak ditaruh di labu didih, tambahkan KOH etanolat secukupnya dan didihkan selama 1 menit.
- Tambahkan 10 mL air, kemudian panaskan lagi dan dinginkan.
- Tambahkan HCl pekat dengan hati-hati sampai larutan bersifat asam, pisahkan lapisan asam lemaknya.
- Panaskan asam lemak dengan air secara perlahan-lahan, tambahkan larutan basa sampai larutan jernih. Gunakan larutan ini untuk saponifikasi.
- Pembentukan sabun: panaskan sedikit asam stearat dan larutan alkali encer. Amati pembentukan larutan sabun.
- Gunakan larutan ini untuk uji sebagai berikut :
 - Apa yang terjadi bila ditambahkan HCl pekat
 - Apa yang terjadi bila larutan dijenuhkan NaCl
 - Siapkan 3 tabung reaksi yang diisi larutan sabun, kemudian masukkan 3 tetes larutan CaCl₂ ke tabung 1; larutan MgCl₂ ke tabung 2; dan larutan Pb(CH₃COO)₂ ke tabung 3.
 - Amati apa yang terjadi!!

3. UJI GLISEROL

Bila gliserol dan kalium bisulfat dipanaskan, akan terjadi dehidratasi dan terbentuk akrolein aldehida yang mempunyai bau khas. Uji ini dapat dilakukan untuk gliserol bebas dan gliserol yang terikat dalam ester.



Gambar 6.2 Reaksi dehidratasi gliserol

Reagen dan bahan :

- Mentega, minyak olive, asam starat dan gliserol.
- KHSO₄

Prosedur :

Tempatkan sedikit KHSO₄ dalam cawan, campur dengan beberapa tetes larutan cuplikan (lipida) dan panaskan perlahan-lahan.

Catat bau apa yang terjadi.

PRAKTIKUM VII LIPIDA (2)

ANALISIS KUANTITATIF LIPIDA

Tujuan

- Menentukan angka peroksida
- Menentukan asam lemak bebas

1. Penentuan Angka Peroksida:

Bahan :

Minyak lemak / lemak, larutan asam asetat- kloroform (3:2), larutan KI jenuh, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N dan larutan pati 1%.

Prosedur :

- Timbang ($5,00 \pm 0,05$) gram sampel (minyak / lemak) dalam erlenmeyer, dan tambahkan 30 mL larutan asam asetat – kloroform.
- Goyangkan sampai bahan terlarut sempurna dan tambahkan 0,5 mL larutan KI jenuh.
- Diamkan selama 20 menit dengan sesekali digoyang, kemudian tambahkan 30 mL akuades.
- Titrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sampai warna kuning hampir hilang (kuning muda).
- Tambahkan 0,5 mL larutan pati 1%. Titrasi kembali dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1N sampai jernih.
- *Catat volume yang dipakai*

Angka peroksida dinyatakan dalam *miliekivalen peroksida dalam 1000 gram sampel*

$$\text{Angka Peroksida} = \frac{\text{mL Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times \text{N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{Berat sampel (gram)}}$$

2. Penentuan Asam lemak bebas

Bahan :

NaOH 0,1 N, Larutan baku oksalat 0,1 N, Indikator pp 1%, etanol 96%

Prosedur :

- Timbang 10 mL minyak kelapa dan masukkan 10 mL etanol 96%, kemudian tambahkan 5 tetes pp 1%.
- Titrasi dengan NaOH 0,1 N

$$\text{Kadar FFA} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{BM Asam lemak}}{\text{Berat sampel (gram)} \times 1000} \times 100\%$$

PRAKTIKUM VIII

VITAMIN

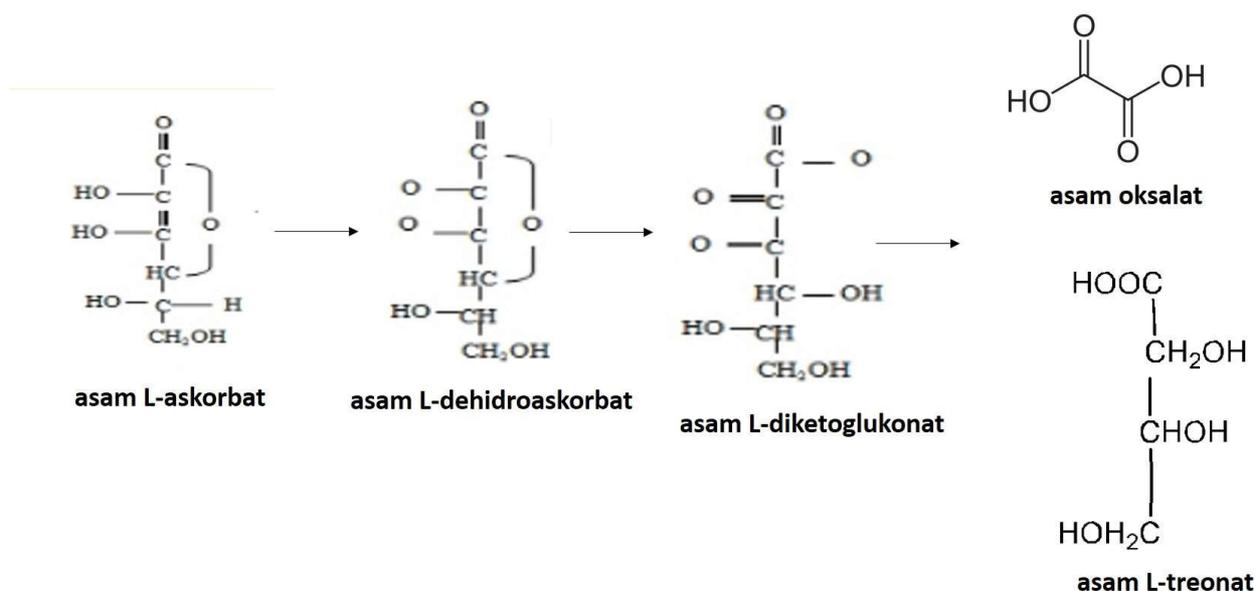
Tujuan Praktikum :

- Mempelajari reaksi metabolisme vitamin C
- Menentukan kadar vitamin C

Dasar Teori :

Vitamin merupakan suatu molekul organik yang dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah kecil, berfungsi sebagai koenzim pada reaksi metabolisme. Vitamin umumnya tidak dapat dibuat oleh tubuh manusia, karena itu vitamin harus diperoleh dari bahan pangan yang dikonsumsi. Khusus untuk vitamin D dapat dibuat di dalam kulit, asalkan kulit mendapat kesempatan yang cukup untuk terkena sinar matahari.

Vitamin C salah satu vitamin yang tergolong larut dalam air dapat berbentuk L- asam askorbat dan asam dehidroaskorbat, yang keduanya mempunyai keaktifan vitamin C.



Gambar 8.1 Reaksi metabolisme vitamin C

Vitamin C disintesis secara alami baik dalam tanaman ataupun hewan. Vitamin C mudah teroksidasi, yang dapat dipercepat dengan adanya panas, sinar, alkali, enzim, oksidator serta katalis tembaga dan besi. Vitamin C dapat terserap sangat cepat dari alat pencernaan, masuk ke dalam saluran darah dan dibagikan ke seluruh jaringan tubuh. Kelebihan vitamin C dibuang melalui air kemih. Jeruk sebagai salah satu sumber vitamin C, dengan kandungan yang berbeda pada buah yang mentah dan buah yang sudah tua. Semakin tua buah semakin berkurang kandungan vitamin C nya.

7.1 PENENTUAN KADAR VITAMIN C

Kadar vitamin C ditentukan dengan cara iodometri, dimana vitamin C mereduksi I₂ menjadi I⁻. Titik akhir ditentukan dari warna biru amilum.

Bahan :

Jeruk nipis, tomat, larutan amilum, larutan I₂ dan akuades

Prosedur:

- Peras jeruk nipis, timbang sekitar 10 sampai 30 gram dan masukkan dalam labu takar 100 mL, tambahkan akuades sampai tanda batas.
- Kocok dan saring, kemudian ambil 5 – 25 ml filtrat dengan pipet ukur, masukkan dalam erlenmeyer, ditambahkan 2 ml larutan amilum 1% dan 20 ml akuades.
- Titrasi dengan larutan iodium 0,01 N.
- Perhitungan :

1ml larutan iodin 0,01N = 0,88 mg asam askorbat

$$\begin{aligned} \text{Kadar vit. C} &= \frac{V(I_2) \times N(I_2)}{0,01} \times 0,88 \text{ mg} = a \text{ mg} \\ &= \frac{100 \times a \times 100\%}{V \text{ sampel} \times \text{berat sampel (mg)}} \end{aligned}$$

PRAKTIKUM IX

ISOLASI KASEIN DARI SUSU SECARA KIMIA

Tujuan Praktikum :

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan dapat :

- a. Mengendapkan dan mengisolasi kasein dari air susu.
- b. Menjelaskan prinsip isolasi kasein yang dilakukan.

Dasar Teori :

Sebagai makanan cadangan, susu merupakan sumber protein yang kaya. Ditinjau dari pandangan nutrisi susu merupakan sumber makanan alami yang hampir sempurna. Oleh karena itu disamping untuk makanan bayi susu juga dikonsumsi orang untuk semua umur dan digunakan untuk membuat keju dan mentega. Susu mengandung protein, lipida, karbohidrat, mineral dan vitamin. Sedangkan kandungan besi, tembaga dan vitamin C dan D-nya relatif sangat rendah. Nilai gizi susu ditinjau dari kandungan protein, laktosa, asilgliserol dan asam lemak rendah (oleat, palmitat, stearate dan laurat), kalsium dan fosfat.

Casein merupakan protein dasar yang meliputi 80% dari total protein air susu sapi. Sesudah diambil "cream" nya. Susu skim (skim milk) jika diasamkan sampai pH 4,7 kaseinnya akan mengendap supernatannya merupakan "whey" mengandung 20% protein dari total protein. Shah et al. (2010) menjelaskan bahwa kasein mudah sekali mengendap pada titik isoelektrik yaitu pada pH 4,6-5,0 dan memiliki kelarutan yang rendah pada kondisi asam. pH dapat mempengaruhi struktur kasein.

Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Bahan: susu kambing atau sapi alami tanpa campuran apapun, asam asetat glacial, etanol 95%, campuran etanol : eter = 1:1 dan eter

Alat: Beaker glass 250 ml, penangas air, termometer, pipet tetes, kain muslin, batang pengaduk, corong kaca, corong buchmer, erlenmeyer dan gelas arloji.

b. Prosedur Kerja

- a. Masukkan 100 ml air susu ke dalam beaker glass 250 ml kemudian panaskan sampai 40°C pada penangas air.
- b. Tambahkan setetes demi setetes 1 ml asam asetat glacial sambil diaduk sehingga semua kasein dengan kain muslin dan kemudian airnya diperas.
- c. Suspensikan endapan kasein ke dalam 50 ml larutan 95%. Supernatannya di dekantasi. Ulangi lagi dengan menggunakan 50 ml larutan etanol:eter = 1:1.

- d. Pindahkan kasein dengan menggunakan 50 ml eter alkohol lainnya ke dalam corong Buchner. Kemudian cuci lagi dengan 50 ml eter.
- e. Isaplah corong Buchner dan endapannya di keringkan diatas gelas arloji sehingga diperoleh kasein untuk percobaan selanjutnya.

Awas: Bekerja dengan eter harus jauh dengan api untuk menghindari kebakaran.

Evaluasi

Laporan (lihat Format Laporan Praktikum)

PRAKTIKUM X

HIDROLISIS PROTEIN DENGAN CARA KIMIA

Tujuan Praktikum

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan dapat :

- a. Melakukan hidrolisis ikatan peptida dalam protein sehingga terurai menjadi asam-asam amino dengan cara kimia.
- b. Mengidentifikasi kandungan protein berdasarkan adanya ikatan peptida.

Dasar Teori

Kasein kasar merupakan campuran dari beberapa protein yang berbeda komposisi asam aminonya dan dapat dipisahkan dengan cara elektroforesis. Hasil elektroforesis pada suasana alkalis menunjukkan kasein terdiri dari α -kasein, β -kasein, γ -kasein dan κ -kasein. α - dan β -kasein kaya akan fosfat terutama sebagai residu θ -fosfoserin. Satuan dasar struktur protein adalah asam amino yang disambung satu sama lain dengan ikatan peptide. Struktur protein yang tersusun dari asam-asam amino ini dapat didemonstrasikan melalui hidrolisis protein dengan cara kimia atau enzimatik.

Proses hidrolisis adalah proses pemecahan suatu molekul menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan molekul air. Hidrolisis protein adalah proses pecahnya atau terputusnya ikatan peptida dari protein menjadi molekul yang lebih sederhana. Hidrolisis ikatan peptida akan menyebabkan beberapa perubahan pada protein, yaitu meningkatkan kelarutan karena bertambahnya kandungan NH_3^+ dan COO^- dan berkurangnya berat molekul protein atau polipeptida, rusaknya struktur globular protein (Nielsen, 1997). Menurut Sediaoetama (2000) ada tiga cara yang dapat ditempuh untuk menghidrolisis protein, yaitu hidrolisis menggunakan asam, basa dan enzim.

1. Hidrolisis Asam

Hidrolisis dengan mempergunakan asam kuat anorganik, seperti HCl atau H_2SO_4 pekat (4-8 normal) dan dipanaskan pada suhu mendidih, dapat dilakukan dengan tekanan di atas satu atmosfer, selama beberapa jam. Menurut Girindra (1993), akibat samping yang terjadi dengan hidrolisis asam ialah rusaknya beberapa asam amino (triptofan, sebagian serin dan threonin).

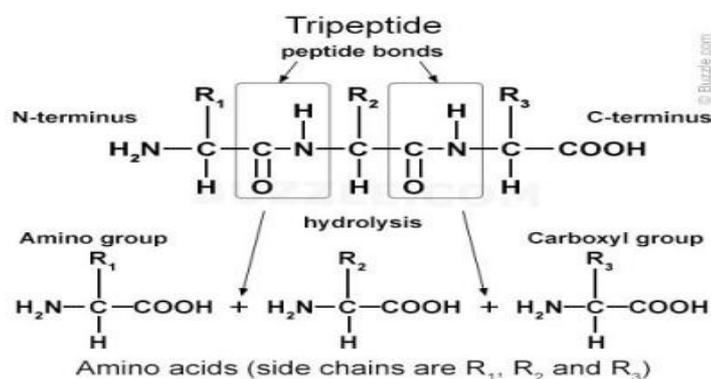
2. Hidrolisis Basa

Hidrolisis protein menggunakan basa merupakan proses pemecahan polipeptida dengan menggunakan basa / alkali kuat, seperti NaOH dan KOH pada suhu tinggi, selama beberapa jam, dengan tekanan di atas satu atmosfer. Menurut Girindra (1993), serin dan threonin rusak dengan basa.

3. Hidrolisis Enzimatik

Hidrolisis enzimatik dilakukan dengan mempergunakan enzim. Dapat digunakan satu jenis enzim saja, atau beberapa jenis enzim yang berbeda. Penambahan enzim perlu dilakukan pengaturan pada kondisi pH dan suhu optimum (Anonymous, 2001).

Hidrolisis protein menjadi satuan-satuan dasar dapat dipercepat oleh 6 N HCl selama 18-24 jam pada suhu 110°C dalam tabung yang tertutup. Di bawah kondisi ini unit-unit asam amino akan dilepaskan dari struktur protein yang dapat diisolasi sebagai garam-garam hidroklorida. Semua asam amino dalam keadaan stabil kecuali triptofan yang rusak dalam suasana asam kuat. Triptofan ini dapat ditemukan kembali jika selama hidrolisis dengan asam ditambahkan reduktor atau protein dihidrolisis dengan 2 N NaOH. Akan tetapi penggunaan NaOH ini dapat merusak sistein, serin, treonin dan arginine. Disamping itu penggunaan NaOH dapat menyebabkan rasemasi semua asam amino.



Gambar 9. Hidrolisis Tripeptida

Asam-asam amino dalam protein disambung satu dengan lain dengan ikatan peptide yang merupakan ikatan kovalen amida yang terbentuk oleh gugus α - karboksil dan α - amino. Sesuai dengan jumlah asam amino yang menyusun ikatan peptide maka kita kenal dipeptide, oligopeptida dan polipeptida.

Asam amino dalam rantai peptida memberikan reaksi biuret yang sangat berguna untuk penentuan protein baik kualitatif maupun kuantitatif. Dalam kondisi alkali kuat biuret dengan

CuSO₄ memberikan warna violet. Reaksi biuret dapat diberikan oleh peptida-peptida yang mempunyai paling sedikit dua ikatan peptida. Dipeptida dan asam-asam amino (kecuali histidine, serin dan prolin) tidak memberikan hasil positif untuk reaksi biuret.

Pelaksanaan Praktikum

a. Alat dan Bahan

Bahan: Kasein hasil isolasi, larutan 6 N HCl, larutan 6 N NaOH, larutan 2,5 N NaOH
larutan 0,01 M CuSO₄

Alat: Satu set alat refluks, plat tetes, pipet tetes

b. Prosedur Kerja

- 1) Masukkan 2,5 gram kasein dan 10 ml larutan 6 N HCl dalam Erlenmeyer 50 ml yang tertutup dan kocoklah perlahan lahan sampai kasein larut.
- 2) Refluk larutan tersebut dalam lemari asam pada suhu 100°C selama 18- 24 jam, lalu dinginkan.
- 3) Ambillah satu tetes dan ujilah dengan pereaksi biuret. Bila masih positif hidrolisis diteruskan lagi sampai reaksi biuret negatif.
- 4) Hidrolisis ini kemudian dinetralkan dengan larutan 6 N NaOH yang di tambahkan sedikit demi sedikit sampai netral

Evaluasi

Laporan (lihat Format Laporan Praktikum)

DAFTAR PUSTAKA

- Poedjiadi, A., Supriyani, T.F.M.. 2006. Dasar-dasar Biokimia, Eksperimen Laboratorium, Widya Medika, Bagian Biokimia FKUI. Jakarta
- Bettelheim FA, Brown WH, Campbell MK, Farrel SO. 2010. Introduction to General, Organic, and Biochemistry. 9th Edition. Brooks/Cole, Cengage Learning. Belmont.
- Pereira JC, Giese EC, Moretti MM, Gomes S, Perrone OM, Boscolo M, Silva R, Gomes E, Alonso D, Martins B. (2017). Effect of metal ions, chemical agents and organic compounds on lignocellulolytic enzymes activities. In M. Senturk (Ed.), Enzyme Inhibitors and activators (pp. 139-164). Rijeka, Croatia: InTech.
- Salwanee S, Wanaida WM, Mamot S, Maskat MY, Ibrahim S. (2013). Effects of Enzyme Concentration, Temperature, pH and Time on the Degree of Hydrolysis of Protein Extract from Viscera of Tuna. *Sains Malaysian*, 42(3), 279-287.
- Soewoto H, Sadikin M, Kurniati V, Wanandi SI, Retno D, Abadi P, Prijanti AR, Harahap IP, Jusman SW. 2001. Biokimia, Eksperimen Laboratorium, Widya Medika, Bagian Biokimia FKUI. Jakarta.
- Wirahadikusumah, M. (2008). Biokimia protein enzim dan asam nukleat. Bandung: ITB.
- Yohanis Ngili. 2009. Biokimia Metabolisme dan Bioenergetika, Edisi pertama, Graha Ilmu, Jakarta.
- Anna Poedjiadi, F.M. Titin Supriyani. 2006. Dasar-dasar Biokimia, Eksperimen Laboratorium, Widya Medika, Bagian Biokimia FKUI. Jakarta.
- Hafiz Soewoto dkk., 2001. Biokimia, Eksperimen Laboratorium, Widya Medika, Bagian Biokimia FKUI. Jakarta.
- Bambang subardjo. 2005, Penuntun Praktikum Biokimia. Depdiknas. Universitas Jendral Sudirman. Purwokerto.
- Shah, R., A. H. Jana, K. D. Aparnathi and P. S. Prajapati. (2010). Process standardization for rennet casein based Mozzarella cheese analogue. *J. Food Sci and Technol* 47: 574-578.
- Clark JM and RL Switzer. (1964). *Experimental Biochemistry*. WH Fremen & Co, San Fransisco.