



PENUNTUN PRAKTIKUM BIOKIMIA PRODI DIII ANALIS KESEHATAN



**STIKES MITRA KELUARGA
2019**



**PENUNTUN PRAKTIKUM
BIOKIMIA**

DISUSUN OLEH:

SITI NURFAJRIAH, S.Pd., M.Si

**PROGRAM STUDI DIII ANALIS KESEHATAN
STIKes MITRA KELUARGA
BEKASI
2019**

DAFTAR ISI

Kata Pengantar	3
Tata Tertib Praktikum	4
Identifikasi Karbohidrat	6
Identifikasi Protein	21
Identifikasi Lipid	34
Uji Aktivitas Enzim	44
Identifikasi Vitamin	54
Analisis Kadar Vitamin C	63
Daftar pustaka	69

KATA PENGANTAR

Penuntun praktikum biokimia ini disusun dengan tujuan membantu mahasiswa dalam melaksanakan praktikum biokimia. Keahlian dan keterampilan kerja di laboratorium sangat membantu dalam memahami teori yang telah diperoleh di kuliah sehingga dapat tercipta korelasi yang saling membangun antara teori dengan kenyataan. Modul praktikum ini disusun rinci dan sistematis sehingga memudahkan praktikan memahami dan mempersiapkan diri sebelum melakukan kegiatan praktikum. Materi yang disajikan dalam modul ini mencakup teknik dasar yang lazim dilakukan di laboratorium biokimia. Harapan kami, buku ini dapat bermanfaat bagi praktikan biokimia serta bagi mahasiswa yang memerlukannya. Segala kritik dan saran yang bersifat membangun tentang isi buku ini sangat dihargai demi perbaikan kualitas lebih lanjut.

Jakarta, Januari 2019

Tim penyusun

TATA TERTIB PRAKTIKUM BIOKIMIA

1. Praktikan harus mengikuti semua kegiatan praktikum. Apabila melakukan pelanggaran terhadap hal ini akan mengakibatkan nilai E (gagal praktikum).
2. Praktikan harus mengikuti jadwal praktikum yang telah disusun oleh dosen pengampu praktikum.
3. Praktikan wajib hadir 10 menit sebelum praktikum dimulai.
4. Sebelum praktikum dimulai, mahasiswa tidak diperkenankan memasuki laboratorium.
5. Praktikan memasuki laboratorium sudah mengenakan **jas laboratorium dan sepatu tertutup**.
6. Setelah masuk laboratorium praktikan wajib:
 - a. Mengisi daftar hadir yang telah disediakan
 - b. Mengumpulkan modul praktikum
 - c. Melaksanakan pretest/ post test
7. Selama kegiatan praktikum berlangsung praktikan:
 - a. Wajib mengikuti pengarahan dari dosen pengampu, baik mengenai prosedur praktikum maupun penggunaan peralatan gelas
 - b. **Tidak diperkenankan keluar-masuk laboratorium, makan dan minum, membawa *handphone*, membuat keributan, dan mengenakan perhiasan secara berlebihan**
 - c. Menjaga ketertiban dan keselamatan kerja, menjaga kebersihan, serta bersikap sopan selayaknya mahasiswa.
8. Setelah praktikum selesai praktikan:
 - a. Membersihkan semua peralatan dan meja serta memasukan kembali semua peralatan ke dalam lemari masing-masing.
 - b. Merapikan botol reagen
 - c. Membuat laporan pada modul praktikum (dikumpulkan paling lambat 1 minggu setelah praktikum berlangsung)
 - d. Meninggalkan laboratorium dalam keadaan bersih dan masih mengenakan jas laboratorium

9. Ujian Praktikum:

➤ Praktikan wajib mengikuti ujian praktek sebanyak 3 kali

➤ Penilaian ujian praktek:

- Praktek: 60%
- Konsep: 30%
- Sikap: 10%

➤ Penilaian akhir praktikum:

- 1) Nilai laporan : 30%
- 2) kuis : 20%
- 3) Nilai ujian praktek : 50%

➤ Penilaian laporan praktikum:

- 1) Dasar teori : 20
- 2) Hasil pengamatan: 20
- 3) Pembahasan : 40
- 4) Kesimpulan : 5
- 5) Daftar pustaka : 5

10. Apabila praktikan memecahkan atau merusak peralatan atau bahan kimia, **wajib diganti sesuai spesifikasinya.**

11. Setiap alat dan bahan utama praktikum sudah disiapkan oleh laboran, apabila ingin menggunakan alat dan bahan tambahan maka harus melaporkan ke laboran dan mencatatkan peminjaman alat pada buku peminjaan alat dan bahan.

12. Praktikan wajib mengikuti kegiatan praktikum dengan kehadiran 100%.

13. Praktikan yang tidak bisa hadir dalam kegiatan praktikum karena sesuatu hal (sakit atau izin) sesuai jadwal yang telah ditentukan maka dapat mengajukan praktikum pengganti.

14. Hal-hal yang belum ditentukan dalam tata tertib ini akan diputuskan kemudian.

PRAKTIKUM I

IDENTIFIKASI KARBOHIDRAT

Tanggal praktikum:

A. Tujuan

1. Mengidentifikasi karbohidrat suatu bahan secara kualitatif dengan benar
2. Mengetahui reaksi yang terjadi dalam identifikasi karbohidrat
3. Menentukan sifat kimia karbohidrat

B. Dasar Teori

Karbohidrat merupakan senyawa-senyawa aldehid atau keton yang mempunyai gugus karboksil. Karbohidrat bertindak sebagai sumber energi, bahan bakar, dan zat antara metabolisme seperti pati pada tumbuhan dan glikogen pada hewan. Beberapa macam karbohidrat yang terdapat pada makanan diantaranya adalah amilum atau pati dan sukrosa (gula tebu). Berdasarkan jumlah monomer penyusunnya, karbohidrat terbagi atas monosakarida, disakarida, dan polisakarida. Uji kualitatif dapat dilakukan untuk mengetahui keberadaan atau jenis karbohidrat dalam suatu bahan (Maria 2010). Uji kualitatif karbohidrat antara lain uji Molisch, uji Benedict, uji Barfoed, uji Fehling, uji Seliwanoff, dan sebagainya.

1. Uji Molisch

Tujuan: Mengidentifikasi karbohidrat secara umum

Prinsip dasar:

Reaksi:

2. Uji Iodium

Tujuan: Mengidentifikasi polisakarida

Prinsip dasar:

Reaksi:

3. Presipitasi polisakarida

Tujuan: mengidentifikasi polisakarida

Prinsip dasar:

Reaksi:

4. Uji Benedict

Tujuan: Mengidentifikasi gula pereduksi

Prinsip dasar:

Reaksi:

5. Uji Barfoed

Tujuan: membedakan monosakarida dan disakarida

Prinsip dasar:

Reaksi:

6. Uji Bial

Tujuan: mengidentifikasi pentosa

Prinsip dasar:

Reaksi:

7. Uji Osazon

Tujuan: mengidentifikasi gula reduksi berdasarkan bentuk kristalnya

Prinsip dasar:

Reaksi:

8. Uji Seliwanoff

Tujuan: mengidentifikasi ketosa

Prinsip dasar:

Reaksi:

9. Uji Asam Musat

Tujuan: membedakan antara glukosa dan galaktosa berdasarkan bentuk kristalnya

Prinsip dasar:

Reaksi:

10. Hidrolisis pati

Tujuan: mengidentifikasi hasil hidrolisis pati

Prinsip dasar:

Reaksi:

11. Hidrolisis Sukrosa

Tujuan: Mengidentifikasi hasil hidrolisis sukrosa

Prinsip dasar :

Reaksi:

C. Metode Kerja

1. Alat

- | | |
|---------------------|----------------|
| - Tabung reaksi | - Penangas air |
| - Rak tabung reaksi | - Stopwatch |
| - Pipet volume | - Gelas kimia |

- Pipet tetes
- Plat tetes
- Rak tabung
- Pipet ukur
- Mikroskop
- Penjepit tabung reaksi

2. Bahan

- Alkohol 96%
- Pati 1%
- Laktosa 1%
- Glukosa 1%
- Dekstrosa 1%
- Sukrosa 1%
- H₂SO₄ pekat
- Aquades
- Na₂CO₃
- CuSO₄
- Resorsinaol
- CH₃COOH
- NaOH 2%
- HNO₃ pekat
- Pereaksi Molisch
- Larutan iodium dalam KI
- Pereaksi Benedict
- Pereaksi Seliwanoff
- Pereaksi *methylene blue*
- Pereaksi Barfoed
- HCl pekat
- Natrium sitrat
- FeCl₃
- Arabinosa

3. Prosedur Kerja

a. Pembuatan Larutan Pereaksi

1) Pereaksi Molisch

2,5 gram α -naftol dilarutkan dalam 50 mL alkohol 96%

2) Pereaksi Iodium

1 gram KI dilarutkan dalam 50 mL aquades dan tambahkan iod 1% sampai warnanya kuning pekat

3) Pereaksi Benedict

- 8,65 gram natrium sitrat dan 5 gram Na₂CO₃ dimasukkan ke dalam 30 mL aquades dengan alat pemanas (Larutan 1)
- Larutkan 0,865 gram CuSO₄ dalam 10 mL aquades (Larutan 2)
- Tambahkan larutan 2 ke dalam larutan 1 secara perlahan sambil diaduk
- Tambahkan aquades sampai tanda tera 50 mL

4) Pereaksi Barfoed

CuSO₄ 4,5% dilarutkan dengan CH₃COOH 0,5%

5) Pereaksi Bial

0,3 gram resorsional dilarutkan dalam 100 mL HCl pekat, kemudian ditetaskan FeCl₃ 10% sebanyak 6 tetes.

- 6) Pereaksi Seliwanoff
0,05 gram resorsinol dalam 100 mL HCl 1 : 2 (1 aquades : 2 HCl)

b. Penentuan Karbohidrat

1) Uji Molisch

- Masukkan 15 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 3 tetes pereaksi Molisch
- Campurkan kedua larutan tersebut
- Tambahkan 1 mL H₂SO₄ melalui dinding tabung sampai terbentuk cincin ungu
- Amati perubahan yang terjadi
- Ulangi percobaan dengan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

2) Uji Iodium

- Masukkan 3 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 2 tetes pereaksi iodium
- Amati perubahan warna yang terjadi
- Ulangi percobaan dengan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

3) Presipitasi polisakarida

- Masukkan 2 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan alkohol 95% secara perlahan-lahan sampai berlebih
- Amati endapan yang terbentuk
- Ulangi percobaan dengan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

4) Uji Benedict

- Siapkan beberapa tabung reaksi untuk larutan uji
- Masukkan 5 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 10 tetes pereaksi Benedict pada masing-masing tabung
- Kocok hingga tercampur sempurna
- Masukkan tabung reaksi ke dalam air mendidih selama 5 menit
- Dinginkan perlahan-lahan
- Amati warna dan endapan yang terbentuk
- Ulangi percobaan dengan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

5) Uji Barfoed

- Siapkan beberapa tabung reaksi
- Masukkan 5 tetes pereaksi Barfoed ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 2 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Kocok hingga tercampur dengan baik
- Masukkan tabung reaksi ke dalam air mendidih selama 5 - 10 menit
- Amati warna dan endapan yang terbentuk

- Ulangi percobaan dengan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

6) Uji Bial

- Masukkan 5 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 10 tetes pereaksi Bial
- Kocok hingga tercampur dengan baik
- Tutup tabung reaksi dengan segumpal kapas
- Panaskan dalam penangas air mendidih selama 10 menit
- Amati warna dan endapan yang terbentuk
- Ulangi percobaan dengan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

7) Uji Osazon

- Masukkan 2 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 5 tetes CH_3COOH glasial
- Tambahkan seujung spatula fenilhidrazin-hidroklorida dan kristal Na-asetat
- Panaskan dalam waterbath selama 5 menit dengan sesekali digoyang
- Dinginkan perlahan dengan air keran yang mengalir
- Perhatikan kristal yang terbentuk di bawah mikroskop

8) Uji Seliwanoff

- Siapkan beberapa tabung reaksi
- Masukkan 5 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 10 tetes pereaksi Seliwanoff
- Panaskan dalam air mendidih selama 1 menit
- Amati warna yang terbentuk
- Ulangi percobaan dengan menggunakan air sebagai blanko

9) Uji Asam Musat

- Masukkan 10 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 2 tetes HNO_3 pekat
- Panaskan dalam penangas air hingga volumenya 2 - 3 tetes
- Dinginkan perlahan atau biarkan selama semalam
- Perhatikan bentuk kristal di bawah mikroskop

10) Hidrolisis pati

- Masukkan 5 mL pati 1% ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 2,5 mL HCl 5 M
- Kocok hingga tercampur dengan baik
- Setelah 3 menit, ambil 2 tetes larutan tersebut ke dalam plat tetes dan tambahkan 1 tetes iodium
- Amati perubahan warna yang terjadi

- Ulangi perlakuan di atas setiap 3 menit, hingga hasilnya kuning pucat
- Lanjutkan hidrolisis 5 menit lagi
- Dinginkan larutan tersebut
- Ambil 2 mL larutan hasil hidrolisis dan netralkan dengan NaOH 2% (tes dengan kertas lakmus)
- Lakukan uji Benedict
- Amati warna atau endapan yang terbentuk
- Simpulkan apa yang dihasilkan dari hidrolisis pati tersebut

11) Hidrolisis Sukrosa

- Masukkan 5 mL sukrosa 1% ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 5 tetes HCl pekat
- Kocok hingga tercampur dengan baik
- Panaskan dalam penangas air mendidih selama 30 menit
- Dinginkan larutan tersebut
- Tambahkan NaOH 2% dan cek dengan kertas lakmus
- Lakukan uji Benedict, Seliwanoff, dan barfoed
- Simpulkan apa yang dihasilkan dari hidrolisis pati tersebut

D. Hasil Percobaan

1. Uji Molisch

No	Zat Uji	Hasil Uji	Karbohidrat (+/-)
1.	Amilum 1%		
2.	Dextrin 1%		
3.	Glukosa 1%		
4.	Galaktosa 1%		
5.	Fruktosa 1%		
6.	Maltosa 1%		
7.	Sukrosa 1%		
8.	Laktosa 1%		
9.	Arabinosa 1%		

2. Uji Iodium

No	Zat Uji	Hasil Uji	Polisakarida (+/-)
1.	Amilum 1%		
2.	Dextrin 1%		
3.	Glukosa 1%		
4.	Galaktosa 1%		
5.	Fruktosa 1%		
6.	Maltosa 1%		
7.	Sukrosa 1%		
8.	Laktosa 1%		
9.	Arabinosa 1%		

3. Presipitasi Polisakarida

No	Zat Uji	Hasil Uji	Polisakarida (+/-)
1.	Amilum 1%		
2.	Dextrin 1%		
3.	Glukosa 1%		
4.	Fruktosa 1%		
5.	Sukrosa 1%		
6.	Laktosa 1%		

4. Uji Benedict

No	Zat Uji	Hasil Uji	Gula Pereduksi (+/-)
1.	Pati 1%		
2.	Glukosa 1%		

No	Zat Uji	Hasil Uji	Gula Pereduksi (+/-)
3.	Galaktosa 1%		
4.	Fruktosa 1%		
5.	Maltosa 1%		
6.	Sukrosa 1%		
7.	Laktosa 1%		
8.	Arabinosa 1%		

5. Uji Barfoed

No	Zat Uji	Hasil Uji	Monosakarida (+/-)
1.	Glukosa 1%		
2.	Galaktosa 1%		
3.	Fruktosa 1%		
4.	Maltosa 1%		
5.	Laktosa 1%		
6.	Arabinosa 1%		
7.	Sukrosa 1%		

6. Uji Bial

No	Zat Uji	Hasil Uji	Pentosa (+/-)
1.	Glukosa 1%		
2.	Galaktosa 1%		
3.	Fruktosa 1%		
4.	Maltosa 1%		
5.	Arabinosa 1%		

7. Uji Osazon

No	Zat Uji	Hasil Uji	Bentuk Kristal
1.	Sukrosa 1%		
2.	Laktosa 1%		
3.	Maltosa 1%		
4.	Galaktosa 1%		
5.	Glukosa 1%		

8. Uji Seliwanoff

No	Zat Uji	Hasil Uji	Ketosa (+/-)
1.	Sukrosa 1%		
2.	Galaktosa 1%		
3.	Fruktosa 1%		
4.	Glukosa 1%		
5.	Arabinosa 1%		

9. Uji Asam Musat

No	Zat Uji	Hasil Uji	Bentuk Kristal
1.	Sukrosa 1%		
2.	Laktosa 1%		
3.	Galaktosa 1%		
4.	Glukosa 1%		

10. Hidrolisis pati

Perlakuan	Waktu Hidrolisis (menit)	Hasil Uji	Hasil Hidrolisis
5 mL amilum 1% + 2,5 mL HCl 5 M, kemudian dipanaskan	3		
	6		
	9		
	12		
	15		
	18		
	21		

Perlakuan	Waktu Hidrolisis (menit)	Hasil Uji	Gula Pereduksi (+/-)
2 mL hasil hidrolisis (kuning) + NaOH + uji benedict			

11. Hidrolisis Sukrosa

Perlakuan	Uji	Hasil Uji
Sukrosa 1%	Benedict	
	Seliwanoff	
	Barfoed	
Sukrosa 1% + HCl pekat, pemanasan	Benedict	
	Seliwanoff	
	Barfoed	

E. Pembahasan

F. Kesimpulan

G. Daftar Pustaka

H. Pertanyaan

1. Sebutkan penggolongan karbohidrat dan contohnya!
2. Sebutkan bahan yang mengandung senyawa furfural dan HMF!
3. Jelaskan persamaan dan perbedaan antara amilum dan glikogen!
4. Pada pengujian Benedict, manakah zat uji yang menunjukkan hasil positif ?
Jelaskan alasannya!
5. Sebutkan jenis pengujian lain yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi gula pereduksi! Tuliskan prosedur kerjanya?
6. Jelaskan mengapa disakarida dapat memberikan hasil positif terhadap uji Barfoed bila dilakukan pemanasan lebih lama!
7. Jelaskan perbedaan antara glukosa dan arabinosa!
8. Tuliskan struktur kimia fenilhidrazin dan sebutkan sifat- sifatnya!
9. Bagaimana cara mengetahui hidrolisis pati telah sempurna?
10. Jelaskan apa yang dimaksud dengan gula invert!

Disetujui Oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Ajar	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

PRAKTIKUM II

IDENTIFIKASI PROTEIN

Tanggal praktikum:

A. Tujuan

1. Mengidentifikasi protein suatu bahan secara kualitatif dengan benar
2. Mengetahui reaksi – reaksi yang terjadi dalam identifikasi protein
3. Menentukan sifat kimia protein

B. Dasar Teori

Protein adalah salah satu makromolekul yang penting peranannya dalam makhluk hidup. Protein berfungsi sebagai bahan struktural dan sebagai mesin yang bekerja pada tingkat molekular. Semua protein terdiri dari rantai polipeptida yang memiliki struktur tiga dimensi. Struktur protein terdiri dari tiga macam yaitu sekunder, tersier, dan kuartener (Ngili, 2010). Pada struktur tersier terdapat ikatan hidrogen, ikatan disulfida atau ikatan ionik. Berdasarkan bentuk molekulnya, protein terbagi atas protein fibrosa dan protein globular. Pengujian protein secara kualitatif meliputi uji Ninhidrin, Biuret, Xanthoprotein, Millon, reduksi sulfur, dan pengendapan logam.

1. Uji Susunan Elementer Protein

Tujuan: menentukan unsur- unsur penyusun protein

Prinsip Dasar:

2. Uji Kelarutan Protein

Tujuan: menentukan daya kelarutan protein terhadap pelarut tertentu

Prinsip Dasar:

3. Uji Pengaruh Alkohol

Tujuan: Menentukan presipitasi protein oleh alkohol

Prinsip Dasar:

4. Uji Pengendapan dengan Garam

Tujuan: Menentukan pengaruh garam terhadap kelarutan protein

Prinsip Dasar:

5. Uji Pengendapan dengan Asam

Tujuan: Menentukan pengaruh asam terhadap kelarutan protein

Prinsip Dasar:

6. Uji Pengendapan dengan Logam Berat

Tujuan: Menentukan pengaruh logam berat terhadap kelarutan protein

Prinsip Dasar:

7. Uji Biuret

Tujuan: Mengidentifikasi molekul - molekul peptida dalam protein

Prinsip Dasar:

Reaksi:

8. Uji Ninhidrin

Tujuan: Mengidentifikasi asam amino bebas dalam protein

Prinsip Dasar:

Reaksi:

9. Uji Xanthoprotein

Tujuan: Mengidentifikasi tirosin, triptofan atau fenilalanin dalam protein

Prinsip Dasar:

Reaksi:

10. Uji Millon

Tujuan: Mengidentifikasi adanya tirosin dalam protein

Prinsip Dasar:

Reaksi:

11. Tes Gliksilat (Hopkins-Cole)

Tujuan: Mengidentifikasi adanya triptofan dalam protein

Prinsip Dasar:

Reaksi:

12. Penentuan Titik Isoelektrik Protein

Tujuan: Menentukan titik isoelektrik dari kasein secara kualitatif

Prinsip Dasar:

C. Metode Kerja

1. Alat

- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Pipet volume
- Pipet tetes
- Plat tetes
- Rak tabung
- Kaki tiga
- 12) Pembakar bunsen
- 13) Penangas air
- 14) Gelas kimia
- 15) Gelas ukur
- 16) Pipet ukur
- 17) Penjepit tabung reaksi

2. Bahan

- Albumin 2%
- Kasein 2%
- Pepton 2%
- Reagen millon
- Pati 2%
- CuSO_4 0,1%
- Gelatin 2 %
- Larutan ninhidrin 0,1 %
- CH_3COOH 5 M
- NaOH 10%
- HNO_3 pekat
- NaOH 50 %
- Etanol 95%
- NaOH 5%
- HCl 0,1 M
- $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 5 %
- $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 5%
- NaOH 0,1 N

3. Prosedur Kerja

a. Pembuatan Larutan Pereaksi

1) Pereaksi Millon

Larutkan 10 gram Hg dalam 14 mL HNO_3 pekat (BJ= 1,42) dalam cawan penguapan di lemari asam, kemudian encerkan dengan 2x volume aquades

2) Pereaksi Ninhidrin

0,1 gram ninhidrin dilarutkan dengan aquades sampai volume 100 mL

b. Prosedur Kerja

1) Uji Susunan Elementer Protein

a) Uji unsur C, H, dan O

- Masukkan 1 mL albumin ke dalam cawan porselen
- Letakkan kaca objek di atasnya
- Panaskan cawan porselen
- Perhatikan pengembunan pada gelas objek

- Amati bau yang terjadi
- Amati pembentukan pengarangan
- Ulangi langkah di atas untuk larutan uji lain

b) Uji atom N

- Masukkan 1 mL albumin ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 1 mL NaOH 5%, kemudian panaskan
- Perhatikan bau amonia yang terjadi
- Uji dengan kertas lakmus merah yang dibasahi aquades
- Ulangi langkah di atas untuk larutan uji lain

c) Uji atom S

- Masukkan 1 mL albumin ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 1 mL NaOH 5%, kemudian panaskan
- Tambahkan 4 tetes Pb-asetat 5%
- Amati pembentukan endapan
- Tambahkan 4 tetes HCl pekat
- Amati bau khas belerang
- Ulangi langkah di atas untuk larutan uji lain

2) Uji Kelarutan Protein

- Siapkan 3 buah tabung reaksi
- Masing- masing tabung isi secara berurutan aquades, HCl 10%, NaOH 50%, alkohol 96%, dan kloroform sebanyak 1 mL
- Tambahkan 1 mL albumin ke dalam setiap tabung reaksi
- Kocok dan amati kelarutannya
- Ulangi percobaan dengan larutan uji lain

3) Uji Presipitasi Alkohol

- Siapkan 3 buah tabung reaksi
- Masing- masing tabung isi secara berurutan dengan alkohol 50%, alkohol 75%, dan alkohol 96% sebanyak 1 mL
- Tambahkan 1 mL albumin ke dalam setiap tabung reaksi
- Kocok dan amati kelarutannya
- Ulangi percobaan dengan larutan uji lain

4) Uji Pengendapan dengan Garam

- Siapkan 5 buah tabung reaksi
- Masukkan 1 mL larutan albumin ke tiap tabung reaksi
- Masukkan NaCl 5%, BaCl₂ 5%, CaCl₂ 5%, MgSO₄ 5%, dan (NH₄)₂SO₄ jenuh tetes demi tetes
- Amati endapan yang terbentuk

- Tambahkan larutan-larutan garam tersebut secara berlebih
 - Ulangi percobaan dengan larutan uji lain
- 5) Uji Pengendapan dengan Asam
- Siapkan 5 buah tabung reaksi
 - Masukkan 2 mL larutan albumin ke tiap tabung reaksi
 - Masukkan larutan CH_3COOH , asam trikloroasetat, dan asam salisilat tetes demi tetes sampai terbentuk endapan
 - Ulangi percobaan dengan larutan uji lain
- 6) Uji Pengendapan dengan Logam Berat
- Siapkan 5 buah tabung reaksi
 - Masukkan 2 mL larutan albumin ke tiap tabung reaksi
 - Masukkan larutan AgNO_3 , Pb-asetat, CuSO_4 , dan FeCl_3 tetes demi tetes sampai terbentuk endapan
 - Tambahkan larutan logam berat secara berlebih
 - Ulangi percobaan dengan larutan uji lain
- 7) Uji Biuret
- Siapkan 6 buah tabung reaksi
 - Isi masing-masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton, susu murni, dan santan sebanyak 1 mL
 - Tambahkan 1 mL NaOH 5% ke dalam tabung reaksi
 - Tambahkan 5-10 tetes CuSO_4 0,1% pada setiap tabung
 - Amati perubahan warna yang terjadi
- 8) Uji Ninhidrin
- Siapkan 6 buah tabung reaksi
 - Isi masing-masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton, susu murni, dan santan sebanyak 1 mL
 - Tambahkan 5 tetes pereaksi ninhidrin pada setiap tabung
 - Panaskan di atas penangas air mendidih selama 5 menit
 - Amati perubahan warna yang terjadi
- 9) Uji Xanthoprotein
- Siapkan 6 buah tabung reaksi
 - Isi masing-masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton, susu murni, dan santan sebanyak 2 mL
 - Tambahkan 1 mL HNO_3 pekat pada setiap tabung
 - Amati pembentukan endapan putih
 - Panaskan di atas penangas air mendidih selama 1 menit

- Dinginkan di bawah air keran
- Masukkan NaOH 5% setetes demi setetes hingga terbentuk 2 lapisan
- Amati perubahan warna yang terjadi

10) Uji Millon

- Siapkan 6 buah tabung reaksi
- Isi masing- masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton, susu murni, dan tirosin ebanyak 2 mL
- Tambahkan 5 tetes reagen millon pada setiap tabung
- Panaskan di atas penangas air mendidih selama 10 menit
- Tambahkan 5 tetes larutan NaNO_3
- Amati perubahan warna yang terjadi

11) Tes Glioksilat (Hopkins-Cole)

- Siapkan 6 buah tabung reaksi
- Isi masing- masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton, susu murni, dan triptofan sebanyak 2 mL
- Tambahkan 2 mL asam asetat glasial
- Tambahkan H_2SO_4 pekat perlahan sehingga terbentuk 2 lapisan
- Amati pembentukan cincin violet

12) Penentuan Titik Isoelektrik Protein

- Siapkan 9 tabung reaksi
- Isi tiap tabung dengan larutan sesuai tabel di bawah ini

Perlakuan	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Larutan kasein (mL)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CH_3COOH 0,01 M (mL)	0,6	1,3	-	-	-	-	-	-	-
CH_3COOH 0,1 M (mL)	-	-	0,3	0,5	1	2	4	8	-
CH_3COOH 1 M (mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	1,6
quades (mL)	8,4	7,7	8,7	8,5	8	7	5	1	7,4
pH larutan	5,9	5,7	5,3	5	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5

- Kocok campuran sampai homogen
- Catat derajat kekeruhannya setelah 0, 10, 20, dan 30 menit
- Amati tabung yang mengalami pengendapan maksimal
- Panaskan semua tabung di atas penangas air
- Amati pada pH berapa kasein mengalami pembentukan endapan paling cepat atau banyak

D. Hasil Percobaan

1. Uji Susunan Elementer Protein

a. Uji unsur C, H, O, dan N

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan (+/-)		
		Pengarangan (C)	Bau Rambut Terbakar (N)	Pengembunan (H dan O)
1.	Albumin 2%			
2.	Gelatin 2%			
3.	Kasein 2%			

b. Uji atom N

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan (+/-)	
		Bau Amoniak	Kertas Lakmus Merah
1.	Albumin 2%		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		

c. Uji atom S

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan (+/-)	
		Endapan PbS	Bau Belerang
1.	Albumin 2%		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		

2. Uji Kelarutan Protein

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Tidak larut)				
		Aquades	HCl 10%	NaOH 40%	Alkohol 96%	Kloroform
1.	Albumin 2%					
2.	Gelatin 2%					
3.	Kasein 2%					

3. Uji Presipitasi Alkohol

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Tidak larut)		
		Alkohol 50%	Alkohol 75 %	Alkohol 96%
1.	Albumin 2%			
2.	Gelatin 2%			
3.	Kasein 2%			

4. Uji Pengendapan dengan Garam

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Endapan)				
		NaCl	BaCl ₂	CaCl ₂	MgSO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄
1.	Albumin 2%					
2.	Gelatin 2%					

5. Uji Pengendapan dengan Asam

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Endapan)		
		CH ₃ COOH	TCA	Asam salisilat
1.	Albumin 2%			
2.	Gelatin 2%			

6. Uji Pengendapan dengan Logam Berat

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Endapan)
	AgNO ₃	AgNO ₃ , Pb-asetat, CuSO ₄ , dan FeCl ₃

7. Uji Biuret

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan	Poliipeptida (+/-)
1.	Albumin 2%		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		
4.	Glisin 2%		

8. Uji Ninhidrin

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan	Asam amino Bebas (+/-)
1.	Albumin 2%		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		
4.	Glisin 2%		

9. Uji Xanthoprotein

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan	Tirosin/ Triptofan/ Fenilalanin (+/-)
1.	Albumin 2%		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan	Tirosin/ Triptofan/ Fenilalanin (+/-)
4.	Tirosin 2%		
5.	Triptofan		

10. Uji Millon

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan	Tirosin (+/-)
1.	Albumin 2%		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		
6.	Tirosin		

11. Tes Glioksilat (Hopkins-Cole)

No	Zat Uji	Hasil Pengamatan	Triptofan (+/-)
1.	Albumin 2%		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		
6.	Triptofan		

12. Penentuan Titik Isoelektrik Protein

No Tabung	Kasein dalam pH	Pengamatan Endapan (sedikit/ banyak) menit			
		0	10	20	30
1.	3,5				
2.	3,8				
3.	4,1				
4.	4,4				
5.	4,7				
6.	5,0				
7.	5,3				
8.	5,7				
9.	5,9				

E. Pembahasan

F. Kesimpulan

G. Daftar Pustaka

H. Pertanyaan

1. Unsur apakah yang membedakan antara albumin dan gelatin?
2. Tuliskan reaksi pembentukan bau belerang pada uji atom S!
3. Mengapa protein tidak dapat larut dalam eter atau kloroform?
4. Jelaskan mengapa penambahan garam dengan konsentrasi tinggi menyebabkan protein mengendap!
5. Sebutkan perbedaan antara polipeptida dan protein!
6. Jelaskan apa yang dimaksud dengan asam amino bebas!
7. Tuliskan struktur kimia asam amino tirosin, triptofan, dan fenilalanin!
8. Pada pH berapakah diperoleh pengendapan maksimal kasein? Berikan alasannya!
9. Sebutkan faktor- faktor yang mempengaruhi harga Rf!
10. Mengapa susu atau putih telur dapat digunakan sebagai penawar racun logam Pb^{2+} atau Hg^{2+} ?

Disetujui Oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Ajar	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

PRAKTIKUM III

IDENTIFIKASI LIPID

Tanggal praktikum:

A. Tujuan

1. Melakukan analisis kualitatif lipid suatu bahan secara kualitatif dengan benar
2. Mengetahui reaksi-reaksi yang terjadi pada identifikasi lipid
3. Menentukan sifat kimia lipid

B. Dasar Teori

Lipid berasal dari bahasa Yunani yaitu *lipos* berarti lemak. Lipid adalah sekelompok besar senyawa alam yang tak larut air, tetapi larut dalam pelarut organik non polar seperti n-heksan, kloroform, dan dietil eter. Senyawa yang termasuk kelompok lipid adalah trigleserida, fosfolipid, glikolipid, steroid, dan lain-lain. Lemak dan minyak termasuk golongan lipid yang berperan sebagai komponen makanan utama bagi organisme makhluk hidup. Hal ini dikarenakan lemak dan minyak mengandung asam-asam lemak esensial yang diperlukan oleh tubuh. Lemak berfungsi sebagai zat tenaga, pelarut vitamin, dan memberikan rasa gurih pada bahan makanan. Analisis kualitatif lipid antara lain uji kelarutan lipid, uji akrolein, uji ketidakjenuhan lipid, uji ketengikan, uji Salkowski dan uji Lieberman Buchard untuk mengidentifikasi keberadaan kolesterol, dan uji penyabunan minyak.

1. Uji Kelarutan Lipid

Tujuan: Menentukan kelarutan lipid pada pelarut tertentu

Prinsip dasar:

2. Uji Pembentukan Emulsi

Tujuan: Mengetahui pembentukan emulsi

Prinsip dasar:

3. Uji Keasaman

Tujuan: Mengidentifikasi sifat asam basa dari minyak kelapa

Prinsip dasar:

4. Uji Ketidakjenuhan Minyak

Tujuan: Menentukan sifat ketidakjenuhan minyak/ lemak

Prinsip dasar:

5. Uji Penyabunan Minyak

Tujuan: Mengetahui proses hidrolisis minyak oleh alkali

Prinsip dasar:

Reaksi:

6. Uji Kolesterol

Tujuan: Mengidentifikasi kolesterol dalam suatu bahan secara kualitatif

Prinsip dasar:

Reaksi:

7. Uji Gmelin

Tujuan: Mengidentifikasi pigmen – pigmen dalam empedu

Prinsip dasar:

8. Uji Pettenkofer

Tujuan: Mengidentifikasi asam empedu dalam larutan empedu

Prinsip dasar:

9. Uji Akrolein

Tujuan: Menunjukkan terjadinya akrolein dari gliserol dan turunannya

Prinsip dasar:

Reaksi:

10. Uji Hidrolisis Mentega

Tujuan: menentukan asam lemak hasil hidrolisis mentega

Prinsip dasar:

C. Metode Kerja

1. Alat

- Tabung reaksi
- Pipet tetes
- Pipet ukur
- Penjepit tabung
- Erlenmeyer
- Hot plate
- Spatula
- Neraca Analitis
- Vortex
- Plat tetes
- Kertas lakmus
- Pipet volume
- Gelas kimia

2. Bahan

- Minyak goreng curah
- Minyak goreng kelapa sawit
- Mentega
- Asam oleat
- Larutan empedu
- Kolesterol
- Sukrosa 5%
- Alkohol 95 %
- Aquades
- Larutan Na_2CO_3 0,5 %
- Sabun cair
- Gliserol
- Kristal KHSO_4
- Larutan NaOH
- Asam asetat 5 M
- CaCl_2 5 %
- MgCl_2 5 %
- Pb -asetat 5 %
- Larutan detergent 1%
- H_2SO_4 pekat

3. Prosedur Kerja

a. Pembuatan Larutan Pereaksi

1) Pereaksi Iod Hubl

- Larutkan 2,6 gram iodin dalam 50 mL alkohol 95% (larutan 1)
- Larutkan 3 gram HgCl dalam 50 mL alkohol 95% (larutan 2)
- Campurkan larutan 1 dan 2
- Saring larutan bila diperlukan

2) Pereaksi Meyer

- Campurkan 1,36 gram HgCl_2 dan 0,5 gram KI dalam gelas kimia
- Larutkan dengan aquades sampai volumenya 100 mL

b. Pengujian Lipid

1) Uji Kelarutan Lipid

- Siapkan 6 tabung reaksi yang bersih dan kering
- Isi tabung secara berturut-turut dengan aquades, alkohol 95%, kloroform, aseton, Na_2CO_3 0,1 %, dan sabun cair sebanyak 1 mL
- Tambahkan setiap tabung dengan 3 tetes larutan uji

- Kocok hingga homogen, lalu diamkan beberapa saat
- Amati kelarutannya
- Ulangi langkah kerja di atas dengan mengganti dengan larutan uji lain

2) Uji Pembentukan Emulsi

- Siapkan lima tabung reaksi yang bersih dan kering
 - Tabung 1: isi 1 mL air dan 2 tetes minyak kelapa
 - Tabung 2: isi 1 mL air, 2 tetes minyak kelapa, 2 tetes larutan Na_2CO_3 0,5 %
 - Tabung 3: isi 1 mL air, 2 tetes minyak kelapa, dan 2 tetes sabun
 - Tabung 4: isi 1 mL larutan protein 2 % dan 2 tetes minyak kelapa
 - Tabung 5: isi 1 mL larutan empedu encer dan 2 tetes minyak kelapa
- Kocok setiap tabung dengan kuat, lalu biarkan beberapa saat
- Amati pembentukan emulsi
- Ulangi percobaan dengan menggunakan minyak tengik dan mentega

3) Uji Keasaman

- Masukkan 2 tetes larutan uji pada plat tetes
- Celupkan kertas lakmus atau kertas pH indikator
- Amati perubahan warna pada kertas lakmus/ angka pH
- Ulangi percobaan di atas dengan menggunakan larutan uji lain

4) Uji Ketidakhayuan Minyak

- Siapkan beberapa tabung reaksi sesuai jumlah larutan uji yang diuji
- Masukkan 5 tetes minyak kelapa ke dalam masing- masing tabung reaksi
- Tambahkan 2 mL kloroform
- Tambahkan Huble iod reagen (larutan iod dalam alkohol yang sedikit mengandung merkuri klorida) sampai warna reagen tidak menghilang lagi selama 3 menit.
- Catat jumlah tetes Huble iod reagen yang terpakai
- Perlakuan yang sama digunakan untuk larutan uji lain

5) Uji Penyabunan Minyak

a) Hidrolisis minyak kelapa

- Masukkan 2,5 mL minyak kelapa ke dalam gelas kimia 250 mL
- Tambahkan 0,75 gram NaOH dan 12,5 mL alkohol 96%
- Panaskan campuran hingga mendidih
- Ambil 3 tetes larutan, kemudian larutkan dalam aquades (tanda reaksi telah sempurna ditandai dengan larutnya larutan)
- Setelah reaksinya sempurna, uapkan sisa alkohol sampai habis
- Dinginkan larutan

- Masukkan 34,5 mL aquades
- Panaskan sampai semua sabun larut

b) Uji sifat- sifat sabun

- Ambil 5 mL larutan sabun tersebut
- Netralkan dengan asam asetat encer
- Bagi larutan sabun yang telah netral, kemudian masukan ke dalam 3 buah tabung reaksi
- Tambahkan secara berurutan CaCl_2 5%, MgSO_4 5%, dan Pb-asetat 5% sebanyak 2 mL
- Kocok larutan
- Amati perubahan yang terjadi
- Ulangi langkah di atas dengan menggunakan detergen

6) Uji Kolesterol

- Siapkan 4 buah tabung reaksi
- Isi masing- masing tabung reaksi secara berurutan dengan 1 mL minyak kelapa, 0,1 gram mentega, 5 tetes minyak ikan, 5 tetes kolesterol 0,5%
- Masukkan 2 mL klorofom ke dalam masing- masing tabung
- Tambahkan 10 tetes CH_3COOH dan 3 tetes H_2SO_4
- Amati perubahan warna yang terjadi

7) Uji Gmelin

- Sediakan 2 buah tabung reaksi
- Isi tabung pertama dengan 1 mL HNO_3 pekat dan tabung kedua dengan iodium 0,5%
- Masukkan 1 mL larutan empedu ke masing- masing tabung reaksi hingga terbentuk dua lapisan
- Amati warna yang terbentuk antara kedua lapisan cairan

8) Uji Pettenkofer

- Masukkan 1 mL larutan empedu ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 3 tetes sukrosa 5%
- Tambahkan 10 tetes H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung secara hati-hati hingga terbentuk dua lapisan
- Amati pembentukan cincin merah- violet pada perbatasan antara kedua fasa

9) Uji Alkaloid

- 0,1 gram sampel dilarutkan dalam 3- 5 tetes H_2SO_4 2 M
- Tambahkan 3- 5 tetes pereaksi Meyer
- Amati warna dan endapan yang terjadi

10) Uji Hidrolisis Mentega

- Ambil 0,1 gram mentega dan masukan ke dalam erlenmeyer
- Masukkan 5 mL larutan NaOH dalam alcohol
- Panaskan dalam penangas air mendidih selama 10- 15 menit
- Ambil 5 tetes campuran dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi aquades. Reaksi dinyatakan sempurna bila campuran tersebut larut.
- Tambahkan 15 mL aquades
- Panaskan kembali hingga semua alkohol menguap
- Tambahkan H₂SO₄ encer (cek dengan kertas lakmus)
- Amati bau asam lemak yang mudah menguap
- Ambil lapisan minyak di atas permukaan
- Masukkan ke dalam tabung reaksi
- Pamanaskan asam lemak yang mudah menguap sampai habis
- Amati perubahan yang terjadi
- Lakukan uji ikatan rangkap

D. Hasil Percobaan

1. Uji Kelarutan Lipid

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Tidak Larut/ Emulsi)				
		Aquades	Alkohol 96%	Kloroform	Na ₂ CO ₃	Sabun
1.	Minyak kelapa					
2.	Minyak tengik					
3.	Mentega					

2. Uji Pembentukan Emulsi

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Emulsi Stabil/ Tidak Stabil)				
		Tabung 1	Tabung 2	Tabung 3	Tabung 4	Tabung 5
1.	Minyak kelapa					
2.	Mentega					

3. Uji Keasaman

No	Larutan Uji	Perubahan Warna		Asam/ Basa
		Lakmus merah	Lakmus biru	
1.	Minyak kelapa			
2.	Minyak tengik			
3.	Mentega			

4. Uji Ketidakjenuhan Minyak

No	Larutan Uji	Jumlah tetesan Hubl-Iod
1.	Minyak kelapa	
2.	Minyak tengik	
3.	Mentega	

5. Uji Penyabunan Minyak

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Endapan/ Tidak ada)		
		Tabung 1	Tabung 2	Tabung 3
1.	Minyak kelapa			
2.	Detergent			

6. Uji Kolesterol

Larutan Uji	Pengamatan	Kolesterol (+/-)
Minyak kelapa		
Minyak tengik		
Mentega		
Kolesterol 0,5%		

7. Uji Gmelin

Larutan Uji	Pengamatan
Larutan empedu	

8. Uji Pettenkofer

Larutan Uji	Pengamatan
Larutan empedu	

9. Uji Alkaloid

Larutan Uji	Pengamatan
Minyak kelapa	
Minyak tengik	
Mentega	
Asam oleat	

10. Uji Hidrolisis Mentega

Larutan Uji	Pengamatan	Ikatan Rangkap (+/-)
Minyak kelapa		

E. Pembahasan

F. Kesimpulan

G. Daftar Pustaka

H. Pertanyaan

1. Jelaskan mengapa eter sedikit larut dalam alcohol, tetapi larut sempurna dalam eter dan kloroform?
2. Sebutkan jenis emulsi dan bagaimana cara membedakannya!
3. Pada uji ketidakjenuhan minyak, manakah yang membutuhkan pereaksi hubl-iod lebih banyak apakah minyak atau mentega? Jelaskan alasannya!
4. Jelaskan mengapa sabun mempunyai kemampuan untuk mengemulsikan kotoran berminyak!
5. Sebutkan tiga sumber makanan yang banyak mengandung kolesterol!
6. Tuliskan struktu kimia kolesterol!
7. Apa pengaruh konsumsi makanan hasil penggorengan dengan minyak yang sudah tengik dan berulang- ulang digunakan bagi kesehatan?

Disetujui oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Ajar	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

PRAKTIKUM IV UJI AKTIVITAS ENZIM

Tanggal praktikum:

A. Tujuan

1. Membuktikan pengaruh suhu terhadap aktivitas amilase
2. Membuktikan pengaruh pH terhadap aktivitas amilase
3. Membuktikan pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas amilase
4. Membuktikan pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas amilase
5. Membuktikan pengaruh konsentrasi inhibitor terhadap aktivitas amilase

B. Dasar Teori

Enzim adalah protein yang berfungsi sebagai katalisator untuk berbagai reaksi kimia dalam sistem biologik. Enzim umumnya terdapat dalam konsentrasi rendah di dalam sel yang mampu meningkatkan kecepatan reaksi tanpa mengubah posisi kesetimbangan (Ngili, 2010). Enzim (holoenzim) terdiri atas protein (apoenzim) dan gugus bukan protein (kofaktor) (Poedjiadi dan Supriyanti, 2009). Faktor- faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim antara lain suhu, pH, konsentrasi enzim, dan konsentrasi substrat. Tiap-tiap enzim memiliki suhu dan pH optimum sendiri, yaitu suhu dan pH dimana enzim tersebut dapat bekerja dengan baik (optimal) (Sumardjo, 2009).

Aktivitas suatu enzim dapat meningkat dengan adanya suatu senyawa, unsur atau ion. Zat- zat yang memiliki peranan demikian disebut aktivator enzim. Kebanyakan aktivator adalah ion-ion anorganik terutama ion logam atau kation. Aktivator untuk enzim deoksiribonuklease adalah ion Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , dan Fe^{2+} (Soemardjo, 2009). Inhibitor atau penghambat suatu enzim adalah suatu senyawa atau zat yang dapat menghalangi aktivitas enzim tersebut (Soemardjo, 2009). Berdasarkan sifat kestabilan penghambatan, inhibitor dibedakan atas inhibitor *reversible* dan inhibitor *irreversible*.

1. Prinsip dasar pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim

2. Prinsip dasar pengaruh pH terhadap aktivitas enzim

3. Prinsip dasar pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim

4. Prinsip dasar pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim

5. Prinsip dasar pengaruh inhibitor terhadap aktivitas enzim

C. Metode Kerja

1. Alat

- Tabung mikro
- Mikropipet 100 – 1000 μL
- Sentrifus
- *Hot plate*
- *Waterbath*
- Gelas kimia 250 dan 500 mL
- Penjepit tabung
- Tabung reaksi
- Pipet tetes

2. Bahan

- Enzim amylase
- Pati
- Larutan DNS
- Larutan iodium
- Aquades
- Larutan buffer pH 3,5,7,9, dan 11
- Larutan $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ 0,5 M
- Larutan $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 0,5 M

3. Prosedur Kerja

a. Uji pengaruh suhu

1) Uji Iodium

- Encerkan 1 mL enzim dengan aquades sampai volumenya 10 mL
- Ambil 1 mL larutan amilum 0,5%
- Masukkan larutan amilum ke dalam tiap pasangan tabung reaksi (tabung 1 dan 2)
- Letakkan tiap pasangan tabung reaksi pada suhu yang sesuai
 - Pasangan tabung reaksi pertama ke dalam gelas kimia pada suhu kamar
 - Pasangan tabung reaksi kedua ke dalam gelas kimia berisi air yang suhunya 36°C
 - Pasangan tabung reaksi ketiga dalam penangas air yang suhunya dipertahankan tetap pada 50°C
 - Pasangan tabung reaksi keempat dalam penangas air yang suhunya dipertahankan tetap pada suhu 70°C
 - Pasangan tabung reaksi kelima dalam penangas air yang suhunya dipertahankan tetap pada suhu 90°C
- Biarkan masing-masing tabung pada tempatnya selama 5 menit
- Tambahkan 200 μL enzim ke dalam tabung 2 pada setiap pasangan tabung. Tabung 1 sebagai blanko, tanpa penambahan enzim)
- Kocok hingga tercampur rata
- Inkubasi pada tempatnya selama 10 menit
- Setelah 10 menit, ambil 5 tetes larutan dari pasangan tabung reaksi dan masukkan ke dalam plat tetes

- Tambahkan 2 tetes pereaksi iodium
- Amati perubahan warna yang terjadi

2) Uji gula pereduksi (DNS)

- Ambil 100 μL larutan dari tabung 2 tiap kondisi suhu (aquades digunakan sebagai blanko)
- Masukkan ke dalam tabung mikro
- Tambahkan 100 μL DNS
- Panaskan pada air mendidih selama 10 menit
- Dinginkan larutan hingga suhu kamar
- Tambahkan 800 μL aquades
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 500 nm
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatik dengan suhu

b. Uji pengaruh pH

1) Uji iodium

- Encerkan 1 mL enzim dengan aquades 10 mL di dalam gelas kimia
- Ambil 1 mL larutan amilum 0,5% yang dilarutkan dalam berbagai pH 3, 5, 7, 9, dan 11
- Masukkan ke dalam tiap pasangan tabung (tabung 1 dan 2)
- Tempatkan setiap pasangan tabung reaksi pada suhu 37 °C selama 5 menit
- Tambahkan 200 μL enzim ke dalam tabung 2 pada setiap pasangan tabung. Tabung 1 sebagai blanko, tanpa penambahan enzim)
- Kocok hingga tercampur rata
- Inkubasi larutan pada suhu 37 °C selama 10 menit
- Setelah 10 menit, ambil 5 tetes larutan dari pasangan tabung reaksi dan masukkan ke dalam plat tetes
- Tambahkan 2 tetes pereaksi iodium
- Amati perubahan warna yang terjadi

2) Uji gula pereduksi (DNS)

- Ambil 100 μL larutan dari tabung 2 tiap kondisi pH (aquades digunakan sebagai blanko)
- Masukkan ke dalam tabung mikro
- Tambahkan 100 μL DNS
- Panaskan pada air mendidih selama 10 menit
- Dinginkan larutan hingga suhu kamar
- Tambahkan 800 μL aquades
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 500 nm
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatik dengan pH

c. Uji pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim

1) Uji iodium

- Encerkan 1 mL enzim di dalam gelas kimia dengan aquades sampai volumenya 5, 10, 20 mL, 40 mL, dan 50 mL
- Ambil 1 mL larutan amilum 0,5%
- Masukkan larutan amilum ke dalam tiap pasangan tabung reaksi (tabung 1 dan 2)
- Letakkan tiap pasangan tabung reaksi di dalam waterbath pada suhu 37 °C selama 5 menit
- Tambahkan 200 µL enzim ke dalam tabung 2 pada setiap pasangan tabung. (Tabung 1 sebagai blanko, tanpa penambahan enzim)
- Kocok hingga tercampur rata
- Inkubasi pada tempatnya selama 10 menit
- Setelah 10 menit, ambil 5 tetes larutan dari pasangan tabung reaksi dan masukkan ke dalam plat tetes
- Tambahkan 2 tetes pereaksi iodium
- Amati perubahan warna yang terjadi

2) Uji gula pereduksi (DNS)

- Ambil 100 µL larutan dari tabung 2 tiap kondisi suhu (aquades digunakan sebagai blanko)
- Masukkan ke dalam tabung mikro
- Tambahkan 100 µL DNS
- Panaskan pada air mendidih selama 10 menit
- Dinginkan larutan hingga suhu kamar
- Tambahkan 800 µL aquades
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 500 nm
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatik dengan konsentrasi enzim

d. Uji pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim

1) Uji Iodium

- Encerkan 1 mL enzim dengan 10 mL aquades di dalam gelas kimia
- Ambil 1 mL larutan amilum dengan konsentrasi 0,1 %; 0,5%; 1%; 2%; 5%
- Masukkan larutan amilum ke dalam tiap pasangan tabung reaksi (tabung 1 dan 2)
- Letakkan tiap pasangan tabung reaksi di dalam waterbath pada suhu 37 °C selama 5 menit
- Tambahkan 200 µL enzim ke dalam tabung 2 pada setiap pasangan tabung. (Tabung 1 sebagai blanko, tanpa penambahan enzim)
- Kocok hingga tercampur rata
- Inkubasi pada tempatnya selama 10 menit

- Setelah 10 menit, ambil 5 tetes larutan dari pasangan tabung reaksi dan masukkan ke dalam plat tetes
- Tambahkan 2 tetes pereaksi iodium
- Amati perubahan warna yang terjadi

2) Uji Gula Pereduksi (DNS)

- Ambil 100 μL larutan dari tabung 2 tiap kondisi suhu (aquades digunakan sebagai blanko)
- Masukkan ke dalam tabung mikro
- Tambahkan 100 μL DNS
- Panaskan pada air mendidih selama 10 menit
- Dinginkan larutan hingga suhu kamar
- Tambahkan 800 μL aquades
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 500 nm
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatik dengan konsentrasi substrat

e. Uji pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim

1) Uji iodium

- Encerkan 1 mL enzim dengan 10 mL aquades di dalam gelas kimia
- Ambil 1 mL larutan amilum
- Masukkan larutan amilum ke dalam tiap pasangan tabung reaksi (tabung 1 dan 2)
- Tambahkan 10 tetes larutan $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ dan $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ dengan konsentrasi 0,5 M
- Letakkan tiap pasangan tabung reaksi di dalam waterbath pada suhu 37°C selama 5 menit
- Tambahkan 200 μL enzim ke dalam tabung 2 pada setiap pasangan tabung. (Tabung 1 sebagai blanko, tanpa penambahan enzim)
- Kocok hingga tercampur rata
- Inkubasi pada tempatnya selama 10 menit
- Setelah 10 menit, ambil 5 tetes larutan dari pasangan tabung reaksi dan masukkan ke dalam plat tetes
- Tambahkan 2 tetes pereaksi iodium
- Amati perubahan warna yang terjadi

2) Uji gula pereduksi (DNS)

- Ambil 100 μL larutan dari tabung 2 tiap kondisi suhu (aquades digunakan sebagai blanko)
- Masukkan ke dalam *tabung mikro*
- Tambahkan 100 μL DNS
- Panaskan pada air mendidih selama 10 menit
- Dinginkan larutan hingga suhu kamar

- Tambahkan 800 μL aquades
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 500 nm
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatik dengan konsentrasi enzim

D. Hasil Percobaan

1. Uji pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim

Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Hasil Uji Iodium	Polisakarida (+/-)
0		
25		
Suhu kamar		
50		
70		
100		

Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Serapan (A)	Kecepatan Reaksi ($V = A/\text{menit}$)
0		
25		
Suhu kamar		
50		
70		
100		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

2. Uji pengaruh pH terhadap aktivitas enzim

pH	Hasil Uji Iodium	Polisakarida (+/-)
3		
5		
7		
9		
11		

pH	Serapan (A)	Kecepatan Reaksi ($V = A/\text{menit}$)
3		
5		
7		
9		
11		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

3. Uji pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim

Konsentrasi enzim dengan pengenceran	Hasil Uji Iodium	Polisakarida (+/-)
5x		
10x		
20x		
40x		
50x		

Konsentrasi enzim dengan pengenceran	Serapan (A)	Kecepatan Reaksi (V= A/menit)
5x		
10x		
20x		
40x		
50x		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

4. Uji pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim

Konsentrasi substrat (Pati)	Hasil Uji Iodium	Polisakarida (+/-)
0,1%		
0,5%		
1%		
2%		
5%		

Konsentrasi substrat	Serapan (A)	Kecepatan Reaksi (V= A/menit)
0,1%		
0,5%		
1%		
2%		
5%		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

5. Uji pengaruh inhibitor terhadap aktivitas enzim

Inhibitor	Hasil Uji Iodium	Polisakarida (+/-)
Pb(CH ₃ COO) ₂ 0,5 M		
Hg(NO) ₃ 0,5 M		

Inhibitor	Serapan (A)	Kecepatan Reaksi (V= A/menit)
Pb(CH ₃ COO) ₂ 0,5 M		
Hg(NO) ₃ 0,5 M		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

E. Pembahasan

F. Kesimpulan

G. Daftar Pustaka

Disetujui oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Ajar	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

PRAKTIKUM V

IDENTIFIKASI VITAMIN

Tanggal praktikum:

A. Tujuan

1. Mengidentifikasi vitamin suatu bahan secara kualitatif dengan benar
2. Menguji sifat antioksidan vitamin C

B. Dasar Teori

Vitamin adalah senyawa-senyawa organik tertentu yang diperlukan tubuh manusia dalam jumlah kecil tetapi penting untuk reaksi metabolisme dalam sel, melangsungkan pertumbuhan normal, dan memelihara kesehatan (Poedjiadi, 1994). Kebanyakan vitamin tidak dapat disintesa oleh tubuh, oleh karenanya tubuh harus memperoleh vitamin dari makanan sehari-hari. Vitamin terbagi ke dalam dua golongan yaitu, prakoenzim (vitamin larut air) dan alosterin (vitamin larut lemak). Prakoenzim tidak disimpan oleh tubuh, tidak beracun, dan tidak diekresikan dalam urine. Vitamin yang termasuk golongan prakoenzim antara lain tiamin, riboflavin, biotin, vitamin B12, vitamin C. Golongan kedua adalah alosterin. Vitamin ini dapat disimpan dalam tubuh. Golongan vitamin ini adalah A, D, E, K.

1. Vitamin A

Tujuan: mengidentifikasi vitamin A dalam suatu sampel

Prinsip dasar:

2. Vitamin D

Tujuan: mengidentifikasi vitamin D dalam suatu sampel

Prinsip dasar:

3. Vitamin B₁

Tujuan: mengidentifikasi vitamin B₁ dalam suatu sampel

Prinsip dasar:

4. Vitamin B₂

Tujuan: mengidentifikasi vitamin B₂ dalam suatu sampel

Prinsip dasar:

5. Vitamin B₆

Tujuan: mengidentifikasi vitamin B₆ dalam suatu sampel

Prinsip dasar:

6. Vitamin C

Tujuan:

Prinsip dasar:

7. Identifikasi efek antioksidan vitamin C

Tujuan:

Prinsip dasar:

C. Metode Kerja

1. Alat

- Pipet tetes
- Tabung reaksi
- Spatula
- Bunsen
- Penjepit tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Kertas saring
- Corong
- Laminar air flow
- Gelas kimia

2. Bahan

- Sari buah + sayur
- Jeruk
- Minyak ikan
- Wortel
- Reagen Carr- Price
- Alkohol absolute
- Larutan H_2O_2 5%
- Larutan NaOH 6 N
- Larutan Pb-asetat 10%
- NaOH 3 N
- CuSO_4 2%
- Etanol 80%
- Pereaksi benedict

3. Prosedur Kerja

a. Pembuatan Larutan Pereaksi

1. Pereaksi Carr-Price

2,5 gram antimony klorida dilarutkan dalam 10 mL kloroform

b. Pengujian Vitamin

1) Vitamin A

a) Pereaksi Carr- Price

- Masukkan 5 tetes minyak ikan ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 10 tetes kloroform
- Kocok tabung reaksi
- Tambahkan 2 tetes CH_3COOH
- Tambahkan 1 mL pereaksi Carr-price
- Amati perubahan warna yang terjadi
- Ulangi perlakuan di atas dengan sampel lain

b) Pereaksi TCA

- Masukkan 5 tetes minyak ikan ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 1 mL pereaksi TCA dalam 1 mL kloroform
- Kocok campuran dalam tabung reaksi
- Perhatikan warna yang timbul
- Ulangi percobaan di atas dengan menggunakan sampel lain

2) Vitamin D

- Masukkan 10 tetes minyak ikan ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 10 tetes larutan H_2O_2 5%
- Kocok campuran kira-kira 1 menit
- Panaskan tabung reaksi di atas api kecil perlahan-lahan sampai tidak ada gelembung-gelembung gas keluar. Usahakan jangan sampai mendidih
- Dinginkan tabung reaksi di bawah air kran
- Lalu lakukan uji dengan pereaksi *Carr-Price* seperti pada penentuan vitamin A
- Amati perubahan warna yang terjadi
- Ulangi langkah di atas dengan sampel yang lain

3) Vitamin B₁

- Masukkan 10 tetes larutan yang diuji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 10 tetes larutan Pb-asetat 10% dan 1 mL NaOH 6 N
- Kocok hingga tercampur dengan baik, perhatikan warna kuning yang terjadi
- Panaskan tabung reaksi
- Amati perubahan warna yang terbentuk
- Ulangi langkah di atas dengan sampel yang lain

4) Vitamin B₂

- Masukkan 10 tetes larutan thiamin 1%
- Tambahkan 2 mL etanol 80 %
- Kocok campuran hingga rata, kemudian saring campuran
- Amati filtrate di bawah sinar ultra violet dengan menggunakan laminar air flow
- Perlakuan yang sama dilakukan untuk sampel lainnya

5) Vitamin B₆

a) Pereaksi Tembaga Sulfat

- Masukkan 1 mL larutan piridoksin 1% ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 2 tetes larutan CuSO_4 2% dan 10 tetes NaOH 3 M
- Amati warna yang terjadi

- Ulangi langkah di atas untuk sampel yang lain
- b) Pereaksi Besi Klorida
- Masukkan 1 mL larutan pirodoksin 1% ke dalam tabung reaksi
 - Tambahkan 2- 3 tetes larutan FeCl_3 1%
 - Amati warna yang terjadi
 - Ulangi langkah di atas untuk sampel yang lain
- 6) Vitamin C
- a) Pereaksi Benedict
- Masukkan 5 tetes larutan asam askorbat 1% ke dalam tabung reaksi
 - Tambahkan 5 tetes pereaksi Benedict
 - Panaskan di atas api kecil hingga mendidih selama 2 menit
 - Amati endapan yang terbentuk
 - Perlakuan yang sama dilakukan untuk sampel lain
- b) Pereaksi FeCl_3 basa
- Masukkan 10 tetes larutan asam askorbat 1% ke dalam tabung reaksi
 - Perkirakan larutan pada pH 8 dengan menambahkan NaHCO_3 5%
 - Tambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 1%
 - Amati perubahan warna yang terjadi
 - Perlakuan yang sama dilakukan untuk sampel lain
- 7) Identifikasi efek antioksidan vitamin C
- Sediakan 6 tabung reaksi bersih dan kering
 - Isi masing-masing tabung dengan perlakuan berikut:
 - Tabung 1: 3 mL ekstrak kentang dan 5 tetes larutan fenol 1%
 - Tabung 2: 3 mL ekstrak kentang, 5 tetes larutan fenol 1%, dan 10 tetes larutan asam askorbat
 - Tabung 3: 3 mL ekstrak apel dan 5 tetes larutan fenol 1%
 - Tabung 4: 3 mL ekstrak apel, 5 tetes larutan fenol 1%, dan 10 tetes larutan asam askorbat
 - Tabung 5: 3 mL ekstrak pir dan 5 tetes larutan fenol 1%
 - Tabung 6: 3 mL ekstrak pir, 5 tetes larutan fenol 1%, dan 10 tetes larutan asam askorbat
 - Kocok semua tabung reaksi dan diamkan beberapa saat
 - Amati perubahan warna yang terjadi

D. Hasil Percobaan

1. Vitamin A

No	Sampel	Hasil Pengamatan		Vitamin A (+/-)
		Pereaksi Carr-Price	Pereaksi TCA	

2. Vitamin D

No	Sampel	Hasil Pengamatan	Vitamin D (+/-)

3. Vitamin B₁

No	Sampel	Hasil Pengamatan	Vitamin B ₁ (+/-)

4. Vitamin B₂

No	Sampel	Hasil Pengamatan	Vitamin B ₂ (+/-)

5. Vitamin B₆

No	Sampel	Hasil Pengamatan		Vitamin B ₆ (+/-)
		Pereaksi CuSO ₄	Pereaksi FeCl ₃	

6. Vitamin C

No	Sampel	Hasil Pengamatan		Vitamin C (+/-)
		Pereaksi Benedict	Pereaksi FeCl ₃	

7. Identifikasi efek antioksidan vitamin C

No Tabung	Sampel	Hasil Pengamatan
1		
2		
3		
4		
5		
6		

E. Pembahasan

F. Kesimpulan

G. Daftar Pustaka

H. Pertanyaan

1. Jelaskan mengapa vitamin C dapat memberikan hasil positif terhadap uji benedict!
2. Sebutkan fungsi vitamin B₆!
3. Apa fungsi H₂O₂ dan pemanasan dalam percobaan ini? Jelaskan!
4. Sebutkan penyakit akibat defisiensi vitamin B₁ dan gejalanya!
5. Jelaskan mengapa vitamin C dapat berperan sebagai antioksidan!

Disetujui oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Ajar	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

PRAKTIKUM VI

ANALISIS KADAR VITAMIN C

Tanggal praktikum:

A. Tujuan

Menentukan kadar vitamin C pada suatu bahan secara kuantitatif

B. Dasar Teori

Vitamin adalah komponen mikro yang dibutuhkan oleh tubuh. Vitamin dikelompokkan menjadi vitamin larut air dan larut lemak. Salah satu vitamin larut air adalah vitamin C atau asam askorbat. Sumber vitamin C berasal dari buah-buahan dan sayur-sayuran. Vitamin C termasuk golongan antioksidan yang berperan untuk menangkal berbagai penyakit. Sifat vitamin C antara lain sangat mudah teroksidasi oleh panas, logam, dan cahaya. Penentuan kadar vitamin C dapat dilakukan dengan metode titrasi iodometri.

Prinsip kerja iodometri:

Reaksi:

C. Metode Kerja

6. Alat

- | | |
|-------------------------------|---------------------------|
| • Neraca analitik | • Pipet tetes |
| • Buret | • Gelas ukur 25 dan 50 mL |
| • Gelas kimia 100 dan 2050 mL | • Pipet volume 1 dan 5 mL |
| • Erlenmeyer 250 mL | • Pipet ukur 1 dan 5 mL |

1. Bahan

- Tablet vitamin C 500 mG
- Sari buah
- Minuman sari buah
- Larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N
- Larutan KIO_3 0,01 N
- Pati 1%
- Larutan KI 10%
- Larutan H_2SO_4 0,01 N
- HCl
- Larutan iodin 0,01 N

2. Cara Kerja

a. Pembuatan Larutan Pereaksi

1) Larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N

0,79 gram dilarutkan dengan akuades sampai volumenya 1000 mL

3) Indikator pati 1%

1 gram pati dilarutkan dengan akuades sampai volumenya 100 mL

4) Larutan KI 10%

10 gram KI dilarutkan dengan akuades sampai volumenya 100 mL

b. Penentuan Kadar Vitain C

1) Preparasi sampel

a) Tablet Vitamin C

- Timbang berat 1 tablet vitamin C
- Catat beratnya
- Larutkan tablet vitamin C dalam 200 mL aquades

b) Minuman sari buah/ sayuran kemasan

Bila minuman sari buah/sayuran kemasan masih mengandung bulir-bulir maka harus disaring terlebih dahulu.

c) Buah/ Sayuran Segar

- 100 gram buah/sayur dipotong- potong kecil
- Blender/ Hancurkan dengan menggunakan *mortar- pestle*
- Tambahkan 10 mL aquades sampai 5x
- Saring hasil blender
- Tambahkan 50 mL aquades ke dalam ekstrak buah

2) *Titration Iodimetry*

- a) Standardisasi larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N dengan larutan KIO_3 0,01 N
- Pipet 10 mL KIO_3 0,01 N ke dalam Erlenmeyer
 - Tambahkan 100 mL aquades
 - Tambahkan 5 mL H_2SO_4 0,01 N dan 10 mL KI 10%
 - Titrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N sampai larutan kuning muda
 - Tambahkan 1 mL pati 1% sampai warna biru
 - Lanjutkan titrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N sampai warna biru tepat hilang
- b) Standardisasi larutan iodium 0,01 N dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N
- Pipet 10 mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N ke dalam Erlenmeyer
 - Tambahkan 100 mL aquades dan 1 mL HCl
 - Tambahkan 1 mL pati 1% sampai warna biru
 - Lanjutkan titrasi dengan larutan iodium 0,01 N sampai warna biru
- c) Penetapan kadar vitamin C sampel
- Pipet 10 mL sampel ke dalam Erlenmeyer
 - Tambahkan 100 mL aquades dan 1 mL HCl
 - Tambahkan 1 mL pati 1% sampai warna biru
 - Lanjutkan titrasi dengan larutan iodium 0,01 N sampai warna biru

D. Hasil Pengamatan

	Volume of Sampel (mL)	Pembacaan Buret (mL)		Volume (mL) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Volume (mL) Iodium
		Awal	Akhir		
Standarisasi larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N dengan larutan KIO_3 0,01 N					
Volume Rata-rata					
Standarisasi larutan iodium 0,01 N dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N					
Volume Rata-rata					
Jenis sampel:					
	Volume Rata- rata				

Titran:

Titer:

Indikator:

Warna titik akhir:

Perhitungan:

1. Pembakuan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N dengan larutan KIO_3 0,01 N

$$V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} = V_{\text{KIO}_3} \times N_{\text{KIO}_3}$$

2. Pembakuan larutan iodium 0,01 N dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N

$$V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times N_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} = V_{\text{iodium}} \times N_{\text{iodium}}$$

3. Kadar vitamin C sampel

$$\text{Kadar vitamin C (ppm)} = \frac{V_{\text{titrasi sampel}} \times N \times \text{BE} (88,06) \times D (100/10) \times 1000}{10}$$

10

Ket:

V = volume titrasi sampel

N = normalitas iod

D = delutasi

Be = bobot ekuivalen vitamin C

E. Pembahasan

F. Kesimpulan

G. Daftar Pustaka

Disetujui oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Ajar	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

DAFTAR PUSTAKA

- Bintang, M. 2010. *Biokimia, Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga
- Haitami, Ulfa. A., Muntaha, A. 2017. *Kadar Vitamin C Jeruk Sunkist Peras dan Infused Water*. Medical Laboratory Technology Journal. 3 (1): 98 – 102
- Kusumadjaja, A. P. dan Dewi, R. P. 2005. *Determination of Optimum Condition of Papain Enzyme from Papaya Var Java (Carica papaya)*. Indo. J. Chem. 5 (2): 147 – 151
- Iswari, R. S. dan Yuniastuti, A. 2006. *Biokimia*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Mann, J. dan Truswell, A. 2014. *Buku Ajar Ilmu Gizi*, edisi ke Empat. Jakarta: EGC.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Rodwell, V. W. 2009. *Biokimia Harper*, Alih bahasa Brahm U. Pendit, edisi ke Dua Puluh Tujuh. Jakarta: EGC.
- Bhimba, B. V., dkk. 2011. *Characterization of Extracellular Amylase Enzyme Produced by a Aspergillus flavus MV5 Isolated from Mangrove Sediment*. Indian Journal of Natural Product and Resources. 2 (2): 170- 173.
- Panil, Z. 2008. *Memahami Teori dan Praktikum Biokimia Dasar Medis*. Jakarta: EGC
- Poedjiadi, A. 2009. *Dasar- dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Soeditama, A. D. 2007. *Ilmu Gizi untuk Mahasiswa dan Profesi*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Tim Biokimia FKUI. 2014. *Biokimia Eksperimen Laboratorium*. Jakarta: Widya Medika
- Vishal, T., dkk. 2013. *Pepsin, Papain, and Hyaluronidase Enzyme Analysis: a Review*. International Journal of Research in Pharmacy and Science. 3 (1): 1-18
- Yasid, E. dan Nursanti, L. 2016. *Biokimia Praktikum Analisis Kesehatan*. Jakarta: EGC

**Kampus B - Jl. Pengasinan (Sebelah R.S. Mitra Keluarga Bekasi Timur)
Rawa Semut, Margahayu-Bekasi Timur. Telp. (021) 88345797,
88351995. Fax. (021) 88345897
Email: d3analiskesehatan@stikesmitrakeluarga.ac.id**