



LEMBAR KERJA PRAKTIKUM BIOKIMIA PRODI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS



**STIKes MITRA KELUARGA
2021**

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM
BIOKIMIA



DISUSUN OLEH:
SITI NURFAJRIAH, S.Pd., M.Si

PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN MITRA KELUARGA
BEKASI
2021

DAFTAR ISI

Kata Pengantar	3
Tata Tertib Praktikum	4
Identifikasi Karbohidrat	6
Identifikasi Protein	19
Identifikasi Lipid	31
Uji Aktivitas Enzim	40
Identifikasi Vitamin Analisis	50
Kadar Vitamin C	59
Daftar pustaka	65

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya penyusunan lembar kerja praktikum biokimia dapat diselesaikan dengan baik. Lembar kerja praktikum biokimia sebagai acuan mahasiswa dalam melaksanakan dan membahas hasil praktikum di program studi D3 Teknologi Laboratorium Medis. Lembar kerja praktikum ini disusun secara rinci dan sistematis agar memudahkan mahasiswa dalam memahami dan mempersiapkan diri baik sebelum, proses, dan setelah melakukan kegiatan praktikum. Materi praktikum yang disajikan mencakup cara kerja yang sering dilakukan pada mata kuliah biokimia. Selain itu, materi praktikum ini menjadi dasar untuk materi praktikum mata kuliah urinalisa, kimia darah, dan cairan tubuh.

Harapan saya, lembar kerja praktikum ini dapat bermanfaat bagi mahasiswa. Segala kritik dan saran yang bersifat membangun tentang isi buku ini sangat dihargai demi perbaikan kualitas lebih lanjut.

Bekasi, Maret 2021

Siti Nurfajriah, S.Pd., M.Si

TATA TERTIB PRAKTIKUM BOKIMIA

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
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 pengarahannya 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 lembar kerja 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 2 kali
 - Penilaian ujian praktek:
 - 1) Praktek: 60%
 - 2) Konsep: 30%

3) 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 jenis karbohidrat dari suatu bahan secara kualitatif dengan benar
2. Mengetahui reaksi yang terjadi dalam identifikasi karbohidrat

B. Dasar Teori

Karbohidrat merupakan senyawa yang mengandung gugus aldehid atau keton yang mempunyai gugus karboksil. Karbohidrat yang mengandung aldehid disebut aldosa, sedangkan karbohidrat yang mengandung keton disebut ketosa. Karbohidrat berperan sebagai sumber energi, pembentuk material struktural pada arthropoda, dan zat antara metabolisme. Karbohidrat disimpan dalam bentuk pati pada tanaman. Karbohidrat disimpan dalam bentuk glikogen pada hewan. Berdasarkan jumlah monomer penyusunnya, karbohidrat terbagi atas monosakarida, disakarida, dan polisakarida. Identifikasi karbohidrat dapat dilakukan dengan uji kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui keberadaan atau jenis karbohidrat dalam suatu bahan. Uji kualitatif karbohidrat antara lain uji Molisch, uji Benedict, uji Barfoed, uji Fehling, uji Seliwanoff, uji asam musat.

1. Uji Molisch

Tujuan: Mengidentifikasi karbohidrat secara umum

Prinsip dasar:

Reaksi:

2. Uji Iodium

Tujuan: Mengidentifikasi polisakarida

Prinsip dasar:

Reaksi:

3. Uji Benedict

Tujuan: Mengidentifikasi gula pereduksi

Prinsip dasar:

Reaksi:

4. Uji Barfoed

Tujuan: membedakan monosakarida dan disakarida

Prinsip dasar:

Reaksi:

5. Uji Bial

Tujuan: mengidentifikasi pentosa

Prinsip dasar:

Reaksi:

6. Uji Osazon

Tujuan: mengidentifikasi gula reduksi berdasarkan bentuk kristalnya

Prinsip dasar:

Reaksi:

7. Uji Seliwanoff

Tujuan: mengidentifikasi ketosa

Prinsip dasar:

Reaksi:

8. Uji Asam Musat

Tujuan: membedakan antara glukosa dan galaktosa berdasarkan bentuk kristalnya

Prinsip dasar:

Reaksi:

9. Hidrolisis pati

Tujuan: mengidentifikasi hasil hidrolisis pati

Prinsip dasar:

Reaksi:

10. Hidrolisis Sukrosa

Tujuan: Mengidentifikasi hasil hidrolisis sukrosa

Prinsip dasar :

Reaksi:

C. Metode Kerja

1. Alat

- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Pipet volume
- Pipet tetes
- Plat tetes
- Rak tabung
- Penangas air
- Stopwatch
- Gelas kimia
- 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 4,5%
- Resorsinaol
- CH₃COOH 0,5%
- NaOH 2%
- HNO₃ pekat
- Pereaksi Molisch
- Larutan iodium dalam KI
- Pereaksi Benedict
- Pereaksi Seliwanoff
- Pereaksi Barfoed
- HCl pekat
- Natrium sitrat
- FeCl₃ 3%
- Arabinosa 1%
- Xylosa 1%

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 resorsinol dilarutkan dalam 100 mL HCl pekat, kemudian ditetaskan FeCl_3 10% sebanyak 6 tetes.

6) Pereaksi Seliwanoff

0,05 gram resorsinol dalam 100 mL HCl 1 : 2 (1 aquades : 2 HCl)

b. Penentuan Identifikasi Karbohidrat

1) Uji Molisch

- Masukkan 15 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 5 tetes pereaksi Molisch
- Homogenkan kedua larutan tersebut
- Tambahkan 1 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung sampai terbentuk cincin ungu
- Amati perubahan warna yang terjadi
- Ulangi langkah di atas dengan menggunakan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

2) Uji Iodium

- Masukkan 5 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 2 tetes pereaksi iodium
- Amati perubahan warna yang terbentuk
- Ulangi langkah di atas dengan menggunakan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

3) Uji Benedict

- Masukkan 5 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 10 tetes pereaksi Benedict pada masing-masing tabung
- Homogenkan hingga tercampur sempurna
- Masukkan tabung reaksi ke dalam air mendidih selama 5 menit
- Rendam tabung reaksi dalam air agar tabung reaksi dingin
- Amati perubahan warna dan endapan yang terbentuk
- Ulangi langkah kerja di atas dengan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

4) Uji Barfoed

- Siapkan beberapa tabung reaksi
- Masukkan 5 tetes pereaksi Barfoed ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 2 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi

- Homogenkan kedua larutan
- Masukkan tabung reaksi ke dalam air mendidih selama 5 - 10 menit
- Rendam tabung reaksi dalam air agar tabung reaksi dingin
- Amati perubahan warna dan endapan yang terbentuk
- Ulangi langkah kerja di atas dengan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

5) Uji Bial

- Masukkan 5 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Masukkan 10 tetes pereaksi Bial ke dalam tabung reaksi
- Homogenkan kedua larutan
- Tutup tabung reaksi dengan segumpal kapas
- Masukkan tabung reaksi ke dalam air mendidih selama 5 - 10 menit
- Alirkan bagian bawah tabung reaksi dengan air kran
- Amati perubahan warna dan endapan yang terbentuk
- Ulangi langkah kerja di atas dengan larutan uji yang lain dan air sebagai kontrol negatif

6) Uji Osazon

- Masukkan 10 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 2 mL CH_3COOH glasial
- Tambahkan seujung spatula fenilhidrazin-hidroklorida dan kristal Na-asetat
- Panaskan tabung reaksi di *waterbath* selama 5 menit dengan sesekali digoyang
- Dinginkan dengan air keran yang mengalir
- Amati pembentukan kristal yang terbentuk di bawah mikroskop
- Ganti larutan uji dan ulangi kembali langkah kerja di atas

7) Uji Seliwanoff

- Masukkan 5 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 10 tetes pereaksi Seliwanoff
- Panaskan tabung reaksi dalam air mendidih selama 5 menit
- Amati perubahan warna yang terjadi
- Ulangi langkah kerja di atas dengan larutan uji lain dan air sebagai kontrol negatif

8) Uji Asam Musat

- Masukkan 10 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 5 tetes HNO_3 pekat
- Panaskan dalam tabung reaksi ke dalam penangas air hingga volumenya 5 - 10 tetes
- Dinginkan atau biarkan larutan dalam tabung reaksi selama semalam
- Amati kristal yang terbentuk di bawah mikroskop

9) Hidrolisis pati

- Masukkan 10 mL pati 1% ke dalam gelas kimia
- Tambahkan 5 mL HCl 5 M
- Aduk larutan hingga homogen
- Inkubasi larutan dalam suhu ruang
- Setelah 3 menit, ambil 5 tetes larutan tersebut ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 2 tetes iodium
- Amati perubahan warna yang terjadi
- Ulangi langkah kerja, reaksikan larutan hasil hidrolisis pati dengan iodium setiap interval waktu 5 menit hingga hasilnya kuning pucat
- Lanjutkan hidrolisis pati selama 5 menit, bila hasil larutan sudah kuning pucat
- Dinginkan larutan tersebut
- Ambil 2 mL larutan hasil hidrolisis dan tambahkan dengan 5 tetes NaOH 2% (uji dengan kertas lakmus)
- Lakukan uji Benedict (lihat langkah kerja uji Benedict)
- Amati perubahan warna dan endapan yang terbentuk

10) Hidrolisis Sukrosa

- Masukkan 10 mL sukrosa 1% ke dalam gelas kimia
- Tambahkan 2 mL HCl pekat
- Aduk campuran hingga homogen
- Panaskan dalam gelas kimia ke dalam penangas air mendidih selama 30 menit
- Dinginkan larutan tersebut
- Tambahkan 5 tetes larutan NaOH 2% dan uji dengan kertas lakmus
- Lakukan uji Benedict, Seliwanoff, dan barfoed (lihat langkah kerja uji Benedict)
- Amati perubahan warna dan endapan yang terbentuk pada masing-masing uji di atas

D. Hasil Percobaan

1. Uji Molisch

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Karbohidrat (+/-)
1.	Amilum 1 %		
2.	Glukosa 1 %		
3.	Galaktosa 1 %		
4.	Fruktosa 1 %		

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Karbohidrat (+/-)
5.	Maltosa 1%		
6.	Sukrosa 1%		
7.	Laktosa 1%		
8.	Arabinosa 1%		
9.	Dextrosa 1%		
10.	Xylosa 1%		

2. Uji Iodium

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

3. Uji Benedict

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Gula Pereduksi (+/-)
1.	Pati 1%		
2.	Glukosa 1%		
3.	Galaktosa 1%		

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Gula Pereduksi (+/-)
4.	Fruktosa 1%		
5.	Maltosa 1%		
6.	Sukrosa 1%		
7.	Laktosa 1%		
8.	Arabinosa 1%		
9.	Dextrosa 1%		
10.	Xylosa 1%		

4. Uji Barfoed

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Monosakarida (+/-)
1.	Glukosa 1%		
2.	Galaktosa 1%		
3.	Fruktosa 1%		
4.	Maltosa 1%		
5.	Laktosa 1%		
6.	Arabinosa 1%		
7.	Sukrosa 1%		
8.	Pati 1%		
9.	Dextrosa 1%		
10.	Xylosa 1%		

5. Uji Bial

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Pentosa (+/-)
1.	Glukosa 1%		
2.	Galaktosa 1%		

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Pentosa (+/-)
3.	Fruktosa 1%		
4.	Arabinosa 1%		
5.	Xylosa 1%		
6.	Laktosa 1%		

6. Uji Osazon

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Bentuk Kristal
1.	Sukrosa 1%		
2.	Laktosa 1%		
3.	Maltosa 1%		
4.	Galaktosa 1 %		
5.	Glukosa 1 %		
6.	Fruktosa 1%		
7.	Arabinosa 1%		

7. Uji Seliwanoff

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Bentuk Kristal
1.	Sukrosa 1%		
2.	Galaktosa 1 %		
3.	Fruktosa 1%		
4.	Glukosa 1 %		
5.	Arabinosa 1%		
6.	Xylosa 1%		
7.	Laktosa 1%		

8. Uji Asam Musat

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

9. Hidrolisis pati

Perlakuan	Waktu Hidrolisis (menit)	Hasil Pengamatan	Polisakarida (+/-)
10 mL amilum 1% + 5 mL HCl 5 M, kemudian dipanaskan	5		
	10		
	15		
	20		
	25		
	30		
	35		

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

10. Hidrolisis Sukrosa

Perlakuan	Uji	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Sukrosa 1%	Benedict		
	Seliwanoff		
	Barfoed		
Sukrosa 1% + HCl	Benedict		

Perlakuan	Uji	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
pekat, pemanasan	Seliwanoff		
	Barfoed		

E. Pembahasan

(Pembahasan berisi fungsi reagen dan langkah kerja yang dilakukan; mengkaitkan hasil pengamatan dengan teori)

F. Kesimpulan

(Kesimpulan berisi jawaban sesuai dengan tujuan percobaan yang dituliskan dengan kalimat sederhana)

G. Daftar Pustaka

(Referensi dapat bersumber dari buku dan artikel yang ada di jurnal minimal 3. Daftar pustaka yang digunakan minimal berasal dari 10 tahun terakhir)

H. Evaluasi

1. Seorang analis melakukan pemeriksaan karbohidrat secara kualitatif terhadap suatu sampel. Hasil pemeriksaan menunjukkan uji molisch ungu dan iodium berwarnabiru. Apa senyawa yang tidak terkandung kasus di atas?
2. Seorang analis melakukan pemeriksaan terhadap sampel X. Hasil menunjukkan bahwa uji Barfoed terdapat endapan merah dan uji bial biru. Apa golongan senyawa pada kasus di atas?
3. Jelaskan perbedaan glukosa dan fruktosa!
4. Sebutkan contoh monosakarida yang termasuk heksosa dan pentosa!
5. Mengapa laktosa dapat memberikan hasil positif terhadap uji Barfoed?
6. Mengapa sukrosa memberikan hasil positif pada uji Seliwanoff?
7. Jelaskan perbedaan prinsip kerja uji Barfoed dan Benedict!
8. Jelaskan fungsi pereaksi asam pada uji seliwanoff?
9. Gambar bentuk kristal glukosa dan galaktosa pada uji osazon!
10. Mengapa sukrosa memberikan hasil negatif pada uji Benedict?

Disetujui Oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Kuliah	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

PRAKTIKUM II IDENTIFIKASI PROTEIN

Tanggal praktikum:

A. Tujuan

1. Mengidentifikasi keberadaan protein suatu larutan uji 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. Protein tersusun dari banyak asam amino. Struktur protein terdiri dari tiga macam yaitu sekunder, tersier, dan kuartener. Berdasarkan bentuk molekulnya, protein terbagi atas protein fibrosa dan protein globular. Identifikasi protein dapat dilakukan secara kualitatif dengan uji Ninhidrin, Biuret, Xanthoprotein, Millon.

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 pengaruh alkohol terhadap kelarutan protein

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 peptida dalam protein

Prinsip Dasar:

Reaksi:

8. Uji Ninhidrin

Tujuan: Menentukan adanya asam amino bebas

Prinsip Dasar:

Reaksi:

9. Uji Xanthoprotein

Tujuan: Mengidentifikasi tirosin, triptofan atau fenilalanin

Prinsip Dasar:

Reaksi:

10. Uji Millon

Tujuan: Mengidentifikasi adanya tirosin

Prinsip Dasar:

Reaksi:

11. Tes Glioksilat (Hopkins-Cole)

Tujuan: Mengidentifikasi adanya triptofan

Prinsip Dasar:

Reaksi:

C. Metode Kerja

1. Alat

- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Pipet volume
- Pipet tetes
- Kaki tiga
- Kasa
- Cover glass
- Pembakar bunsen/ spirtus
- Penangas air
- Gelas kimia
- Gelas ukur
- Pipet ukur
- Penjepit tabung reaksi
- Cawan porselen

2. Bahan

- Putih telur
- Kasein 2%
- Pepton 2%
- Larutan millon
- CuSO_4 0,1%
- Gelatin 2 %
- Larutan ninhidrin 0,1 %
- CH_3COOH 5 M
- NaOH 0,1 N
- 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%
- Larutan biuret

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 persolen
- Perhatikan pengembunan pada gelas objek
- Amati pembentukan pengarangan
- Ulangi langkah kerja di atas untuk larutan uji yang 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 pH indikator, catat nilai pH nya
- Ulangi langkah kerja 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 hitam
- Tambahkan 4 tetes HCl pekat
- Cium bau khas belerang
- Ulangi langkah kerja di atas untuk larutan uji lain

2) Uji Kelarutan Protein

- Siapkan 5 buah tabung reaksi
- Isi masing- masing tabung reaksi secara berurutan dengan aquades, HCl 10%, NaOH 50%, alkohol 96%, dan kloroform sebanyak 1 mL
- Tambahkan 1 mL albumin ke dalam setiap tabung reaksi
- Kocok dan amati kelarutan albumin terhadap pelarut di atas
- Ulangi langkah kerja di atas untuk 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 kelarutan albumin dalam alkohol
- Ulangi langkah kerja di atas untuk 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 langkah kerja di atas untuk larutan uji lain

- 5) Uji Pengendapan dengan Asam
- Siapkan 4 buah tabung reaksi
 - Masukkan 2 mL larutan albumin ke tiap tabung reaksi
 - Masukkan larutan H_2SO_4 15%, CH_3COOH 15%, asam trikloroasetat 15%, dan asam salisilat 15% tetes demi tetes sampai terbentuk endapan
 - Ulangi langkah kerja di atas untuk larutan uji lain
- 6) Uji Pengendapan dengan Logam Berat
- Siapkan 4 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 langkah kerja di atas untuk larutan uji lain
- 7) Uji Biuret
- Siapkan 4 buah tabung reaksi
 - Isi masing-masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton 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 5 buah tabung reaksi
 - Isi masing-masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton, dan triptofan sebanyak 1 mL
 - Masukkan 10 tetes pereaksi ninhidrin pada setiap tabung
 - Panaskan tabung reaksi di dalam penangas air mendidih selama 5 menit
 - Amati perubahan warna yang terjadi
- 9) Uji Xanthoprotein
- Siapkan 4 buah tabung reaksi
 - Isi masing-masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton, dan triptofan sebanyak 2 mL
 - Masukkan 1 mL HNO_3 pekat pada setiap tabung
 - Amati pembentukan endapan putih
 - Panaskan tabung reaksi di atas penangas air mendidih selama 1 menit

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

10) Uji Millon

- Siapkan 4 buah tabung reaksi
- Isi masing- masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton, dan tirosin sebanyak 2 mL
- Masukkan 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 terbentuk

11) Tes Glioksilat (Hopkins-Cole)

- Siapkan 4 buah tabung reaksi
- Isi masing- masing tabung dengan albumin, gelatin, kasein, pepton sebanyak 2 mL
- Masukkan 2 mL asam asetat glasial ke masing-masing tabung reaksi
- Tambahkan H_2SO_4 pekat perlahan sehingga terbentuk 2 lapisan
- Amati pembentukan cincin violet

D. Hasil Percobaan

1. Uji Susunan Elementer Protein

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

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (+/-)		
		Pengarangan (C)	Bau Rambut Terbakar (N)	Pengembunan (H dan O)
1.	Putih telur			
2.	Gelatin 2%			
3.	Kasein 2%			
4.	Pepton 2%			

b. Uji atom N

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (+/-)	
		Bau Amoniak	pH
1.	Putih telur		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		
4.	Pepton 2%		

c. Uji atom S

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (+/-)	
		Endapan PbS	Bau Belerang
1.	Putih telur		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		
4.	Pepton 2%		

2. Uji Kelarutan Protein

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Tidak larut)				
		Aquades	HCl 10%	NaOH 40%	Alkohol 96%	Kloroform
1.	Putih telur					
2.	Gelatin 2%					
3.	Kasein 2%					
4.	Pepton 2%					

3. Uji Presipitasi Alkohol

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Tidak larut)		
		Alkohol 50%	Alkohol 75 %	Alkohol 96%
1.	Putih telur			
2.	Gelatin 2%			
3.	Kasein 2%			
4.	Pepton 2%			

4. Uji Pengendapan dengan Garam

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Endapan)				
		NaCl	BaCl ₂	CaCl ₂	MgSO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄
1.	Putih telur					
2.	Gelatin 2%					
3.	Kasein 2%					
4.	Pepton 2%					

5. Uji Pengendapan dengan Asam

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Endapan)			
		CH ₃ COOH	H ₂ SO ₄	TCA	Asam salisilat
1.	Putih telur				
2.	Gelatin 2%				
3.	Kasein 2%				
4.	Pepton 2%				

6. Uji Pengendapan dengan Logam Berat

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Endapan)				
		AgNO ₃	Pb-asetat	CuSO ₄	FeCl ₃	HgSO ₄
1.	Putih telur					
2.	Gelatin 2%					
3.	Kasein 2%					
4.	Pepton 2%					

7. Uji Biuret

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Polipectida (+/-)
1.	Putih telur		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		
4.	Pepton 2%		

8. Uji Ninhidrin

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan	Asam amino Bebas (+/-)
1.	Putih telur		
2.	Gelatin 2%		
3.	Kasein 2%		
4.	Pepton 2%		
5.	Triptofan 2%		

9. Uji Xanthoprotein

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

10. Uji Millon

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

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

11. Tes Glioksilat (Hopkins-Cole)

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

E. Pembahasan

(Pembahasan berisi fungsi reagen dan langkah kerja yang dilakukan; mengkaitkan hasil pengamatan dengan teori)

F. Kesimpulan

(Kesimpulan berisi jawaban sesuai dengan tujuan percobaan yang dituliskan dengan kalimat sederhana)

G. Daftar Pustaka

(Referensi dapat bersumber dari buku dan artikel yang ada di jurnal minimal 3. Daftar pustaka yang digunakan minimal berasal dari 10 tahun terakhir)

H. Evaluasi

1. Bagaimana anda membuktikan adanya unsur C, H, dan O di dalam protein?
2. Mengapa albumin memberikan hasil positif pada uji atom S? Berikan alasan dan bagaimana mengujinya?
3. Mengapa protein tidak larut dalam konsentrasi garam yang terlalu tinggi?

4. Jelaskan prinsip kerja uji Biuret dan Xanthoprotein!
5. Mengapa gelatin positif terhadap uji Xanthoprotein!
6. Mengapa albumin memberikan hasil positif pada uji ninhidrin?
7. Bagaimana kelarutan protein di dalam asam?
8. Mengapa protein dapat mengendap karena adanya logam berat?
9. Mengapa triptofan negatif terhadap uji Biuret?
10. Mengapa susu dapat digunakan sebagai penawar racun logam berat?

Disetujui Oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Kuliah	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

PRAKTIKUM III IDENTIFIKASI LIPID

Tanggal praktikum:

A. Tujuan

1. Mengidentifikasi keberadaan lipid dari beberapa larutan uji secara kualitatif dengan benar
2. Mengetahui reaksi-reaksi yang terjadi pada identifikasi lipid
3. Menentukan sifat kimia lipid

B. Dasar Teori

Lipid adalah sekelompok besar senyawa yang tak larut air, tetapi larut dalam pelarut organik seperti heksana, kloroform, dan dietil eter. Senyawa yang termasuk kelompok lipid adalah trigleserida, fosfolipid, glikolipid, dan steroid. 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 essensial yang diperlukan oleh tubuh. Lemak berfungsi sebagai zat tenaga, pelarut vitamin, dan memberikan rasa gurih pada bahan makanan. Analisis kualitatif lipid meliputi uji kelarutan lipid, uji akrolein, uji ketidakjenuhan lipid, uji ketengikan, uji Salkowski dan uji Lieberman Buchard, uji pettenkofer, uji gmelin, 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:

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 bekas
- Minyak goreng kelapa sawit
- Mentega
- 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 7 tabung reaksi yang bersih dan kering
- Isi tabung secara berturut-turut dengan aquades, alkohol 95%, kloroform, aseton, eter, Na_2CO_3 0,1 %, dan sabun cair sebanyak 1 mL
- Tambahkan setiap tabung dengan 5 tetes minyak goreng

- Kocok campuran hingga homogen, lalu diamkan beberapa saat
- Amati kelarutan minyak goreng pada 7 pelarut yang digunakan
- Ulangi langkah kerja di atas dengan mengganti larutan uji

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 langkah di atas menggunakan larutan uji lain

3) Uji Keasaman

- Masukkan 5 tetes larutan uji pada plat tetes
- Celupkan kertas pH indikator
- Amati perubahan warna pada kertas lakmus
- Bandingkan nilai angka pH pada larutan studi dengan standar pH
- Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan larutan uji lain

4) Uji Ketidakhayuan Minyak

- Siapkan tabung reaksi bersih dan kering
- Masukkan 10 tetes minyak kelapa ke dalam masing- masing tabung reaksi
- Tambahkan 1 mL kloroform
- Masukkan reagen Huble iod reagen tetes demi tetes sampai warna reagen tidak menghilang/ tetap ada selama 3 menit
- Catat jumlah tetes reagen Huble iod yang terpakai
- Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan larutan uji lain

5) Uji Penyabunan Minyak

a) Hidrolisis minyak kelapa

- Masukkan 5 mL minyak kelapa ke dalam gelas kimia 250 mL
- Tambahkan 0,75 gram NaOH dan 12,5 mL alkohol 96%
- Aduk campuran
- Panaskan campuran hingga mendidih
- Ambil 10 tetes larutan dan masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan dengan akuades sebanyak 1 mL. Amati kelarutannya (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. Uji dengan pH indikator
- Apabila larutan sabun telah netral, ambil 10 tetes larutan tersebut ke dalam 3 buah tabung reaksi
- Tambahkan secara berurutan CaCl_2 5% (tabung I), MgSO_4 5% (Tabung II), dan Pb-asetat 5% (Tabung III) sebanyak 2 mL
- Kocok larutan
- Amati perubahan yang terjadi
- Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan detergen sebagai standar

6) Uji Kolesterol

- Siapkan 5 buah tabung reaksi bersih dan kering
- Isi masing- masing tabung reaksi secara berurutan dengan 1 mL minyak kelapa bekas, minyak kelapa baru, mentega, kolesterol 0,5%, dan larutan empedu
- Masukkan 2 mL kloroform 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 bersih dan kering
- 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
- Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan larutan kolesterol 0,5%

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
- Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan larutan kolesterol 0,5%

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

D. Hasil Percobaan

1. Uji Kelarutan Lipid

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Tidak Larut/ Emulsi)				
		Aquades	Alkohol 96 %	Kloroform	Na_2CO_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.	Minyak tengik					
3.	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 CaCl ₂ 5%	Tabung 2 MgSO ₄ 5%	Tabung 3 Pb-asetat 5%
1.	Minyak kelapa			
2.	Detergen			

6. Uji Kolesterol

Larutan Uji	Pengamatan	Kolesterol (+/-)
Minyak kelapa baru		
Minyak kelapa bekas		
Mentega		
Minyak ikan		
Larutan kolesterol 0,5%		

7. Uji Gmelin

Larutan Uji	Pengamatan
Larutan empedu	
Larutan kolesterol 0,5%	

8. Uji Pettenkofer

Larutan Uji	Pengamatan
Larutan empedu	
Larutan kolesterol 0,5%	

9. Uji Alkaloid

Larutan Uji	Pengamatan
Minyak kelapa	
Minyak tengik	
Mentega	

E. Pembahasan

(Pembahasan berisi fungsi reagen dan langkah kerja yang dilakukan; mengkaitkan hasil pengamatan dengan teori)

F. Kesimpulan

(Kesimpulan berisi jawaban sesuai dengan tujuan percobaan yang dituliskan dengan kalimat sederhana)

G. Daftar Pustaka

(Referensi dapat bersumber dari buku dan artikel yang ada di jurnal minimal 3. Daftar pustaka yang digunakan minimal berasal dari 10 tahun terakhir)

H. Evaluasi

1. Mengapa minyak dilarutkan dalam detergen dapat menghasilkan emulsi yang stabil?
2. Mengapa larutan empedu positif terhadap uji gmelin?
3. Jelaskan mengapa lipid tidak larut dalam air tetapi larut dalam kloroform dan eter?
4. Mengapa minyak yang sudah tengik bersifat asam?
5. Jelaskan prinsip kerja uji Liebermann-Burchard!
6. Pada uji ketidakjenuhan minyak, manakah yang membutuhkan pereaksi hubl-iod lebih banyak apakah minyak goreng tengik atau minyak goreng baru? Jelaskan alasannya!
7. Apa pengaruh konsumsi makanan hasil penggorengan dengan minyak yang sudah tengik dan berulang- ulang digunakan bagi kesehatan?
8. Jelaskan makna larutan, campuran, emulsi stabil, dan emulsi tidak stabil!
9. Budi melakukan uji kolesterol terhadap sampel X. Rafli mereaksikan sampel dengan kloroform di dalam tabung reaksi. Rafli selanjutnya memasukkan asam asetat. Apa langkah selanjutnya?
10. Apa fungsi kloroform, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat pada uji kolesterol?

Disetujui Oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Kuliah	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

- ## 5. Prinsip dasar pengaruh inhibitor terhadap aktivitas enzim

C. Metode Kerja

1. Alat

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

2. Bahan

- Amilase dari saliva
- Pati
- Larutan DNS (3,5-Dinitrocalycilic acid)
- Larutan lugol iodin
- Akuades
- Larutan buffer asetat 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
- Siapkan 1 pasang tabung reaksi yang terdiri dari 2 buah tabung reaksi, Tabung pertama untuk blanko (akuades) dan tabung kedua untuk sampel
- Ambil 1 mL larutan amilum 0,5%
- Masukkan larutan amilum ke dalam tabung reaksi 1 dan 2
- Letakkan kedua tabung reaksi pada suhu 37 °C dan diamkan selama 5 menit
- Tambahkan 200 µL enzim ke dalam tabung 2. Tabung 1 sebagai blanko (tanpa penambahan enzim)
- Kocok hingga tercampur rata
- Inkubasi pada tempatnya selama 10 menit
- Setelah 10 menit, ambil 1 mL larutan dari tabung reaksi 1 dan 2, kemudian masukkan ke dalam tabung mikro
- Tambahkan 500 µL larutan lugol iodin
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 600 nm
- Ulangi langkah kerja di atas untuk suhu inkubasi yang berbeda yaitu 20, 50, 70, dan 90° C
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatik dengan suhu

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
- Ulangi langkah kerja di atas untuk suhu inkubasi yang berbeda yaitu 20, 50, 70, dan 90° C
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatis 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
- Ambil 1 mL larutan dari tabung reaksi 1 dan 2, kemudian masukkan ke dalam tabung mikro
- Tambahkan 500 μL larutan lugol iodin
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 600 nm
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatis dengan pH

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 enzimatis 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
- Ambil 1 mL larutan dari tabung reaksi 1 dan 2, kemudian masukkan ke dalam tabung mikro
- Tambahkan 500 µL larutan lugol iodine
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 600 nm
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatik dengan konsentrasi enzim

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
- Ambil 1 mL larutan dari tabung reaksi 1 dan 2, kemudian masukkan ke dalam tabung mikro

- Tambahkan 500 μL larutan lugol iodin
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 600 nm
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatik dengan konsentrasi substrat

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 inhibitor 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
- Ambil 1 mL larutan dari tabung reaksi 1 dan 2, kemudian masukkan ke dalam tabung mikro
- Tambahkan 500 μL larutan lugol iodin
- Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 600 nm
- Buat kurva yang menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi enzimatik dengan inhibitor

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 ($^{\circ}\text{C}$)	Nilai Absorbansi	Polisakarida (+/-)
20		
37		
50		
70		
90		

Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Nilai Absorbansi	Gula Pereduksi (+/-)
20		
37		
50		
70		
90		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

2. Uji pengaruh pH terhadap aktivitas enzim

pH	Nilai Absorbansi	Polisakarida (+/-)
3		
5		
7		
9		
11		

pH	Nilai Absorbansi	Gula Pereduksi (+/-)
3		
5		
7		
9		
11		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

3. Uji pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim

Konsentrasi enzim dengan pengenceran	Nilai Absorbansi	Polisakarida (+/-)
5x		
10x		
20x		
40x		
50x		

Konsentrasi enzim dengan pengenceran	Nilai Absorbansi	Gula Pereduksi (+/-)
5x		
10x		
20x		
40x		
50x		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

4. Uji pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim

Konsentrasi substrat	Nilai Absorbansi	Polisakarida (+/-)
0,1%		
0,5%		
1%		
2%		
5%		

Konsentrasi substrat	Nilai Absorbansi	Gula Pereduksi (+/-)
0,1%		
0,5%		
1%		
2%		
5%		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

5. Uji pengaruh inhibitor terhadap aktivitas enzim

Inhibitor	Nilai Absorbansi	Polisakarida (+/-)
Pb(CH ₃ COO) ₂ 0,5 M		
Hg(NO) ₃ 0,5 M		

Inhibitor	Nilai Absorbansi	Gula Pereduksi (+/-)
Pb(CH ₃ COO) ₂ 0,5 M		
Hg(NO ₃) ₃ 0,5 M		

Catatan: nilai serapan blanko = 0

E. Pembahasan

(Pembahasan berisi fungsi reagen dan langkah kerja yang dilakukan; mengkaitkan hasil pengamatan dengan teori)

F. Kesimpulan

(Kesimpulan berisi jawaban sesuai dengan tujuan percobaan yang dituliskan dengan kalimat sederhana)

G. Daftar Pustaka

(Referensi dapat bersumber dari buku dan artikel yang ada di jurnal minimal 3. Daftar pustaka yang digunakan minimal berasal dari 10 tahun terakhir)

H. Evaluasi

1. Apa golongan kelas enzim amilase?
2. Apa nama substrat dan produk pada amilase?
3. Jelaskan fungsi DNS!
4. Jelaskan perbedaan uji iodium dan DNS pada aktivitas amilase!
5. Apa fungsi pemanasan pada uji DNS?
6. Berapa suhu dan pH optimum aktivitas amilase pada praktikum ini?
7. Jelaskan mekanisme kerja inhibitor enzim!
8. Mengapa pada suhu yang terlalu tinggi enzim sudah tidak dapat lagi bekerja?
9. Jelaskan makna kerja enzim bersifat spesifik!
10. Sebutkan nama dan kelas enzim yang anda ketahui!

Disetujui oleh:

Tanda Tangan Dosen Mata Ajar	Nilai	Tanda Tangan Mahasiswa

PRAKTIKUM V

IDENTIFIKASI VITAMIN

Tanggal praktikum:

A. Tujuan

1. Mengidentifikasi jenis vitamin dari suatu larutan uji secara kualitatif dengan benar
2. Menentukan 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 vitamin larut air dan vitamin larut lemak. Vitamin larut air tidak disimpan oleh tubuh, tidak beracun, dan diekresikan dalam urine. Vitamin yang termasuk golongan ini antara lain tiamin, riboflavin, biotin, vitamin B12, vitamin C. Vitamin larut lemak dapat disimpan dalam tubuh. Golongan vitamin ini adalah A, D, E, K.

1. Vitamin A

Tujuan: mengidentifikasi vitamin A

Prinsip dasar:

2. Vitamin D

Tujuan: mengidentifikasi vitamin D

Prinsip dasar:

3. Vitamin B₁

Tujuan: mengidentifikasi vitamin B₁

Prinsip dasar:

4. Vitamin B₂

Tujuan: mengidentifikasi vitamin B₂

Prinsip dasar:

5. Vitamin B₆

Tujuan: mengidentifikasi vitamin B₆

Prinsip dasar:

6. Vitamin C

Tujuan: mengidentifikasi vitamin C

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/ ekstrak buah (jeruk, pepaya, mangga)
- Sari/ ekstrak sayur (wortel, bayam)
- Vitamin A
- Vitamin D
- Vitamin C
- Kentang/ apel
- Vitamin B kompleks
- 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 ekstrak jeruk ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 10 tetes kloroform
- Kocok campuran
- Tambahkan 2 tetes CH_3COOH pekat
- Tambahkan 1 mL pereaksi Carr-price
- Amati perubahan warna yang terjadi
- Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan sampel lain

b) Pereaksi TCA

- Masukkan 5 tetes ekstrak jeruk ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 1 mL pereaksi TCA dalam 1 mL kloroform
- Kocok campuran dalam tabung reaksi
- Amati perubahan warna yang terjadi
- Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan sampel lain

2) Vitamin D

- Masukkan 10 tetes ekstrak jeruk 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 kerja di atas dengan menggunakan sampel lain

3) Vitamin B₁

- Masukkan 10 tetes ekstrak jeruk 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 kerja di atas dengan menggunakan sampel yang lain
- 4) Vitamin B₂
- Masukkan 10 tetes ekstrak jeruk ke dalam tabung reaksi
 - Tambahkan 2 mL etanol 80 %
 - Kocok campuran hingga rata, kemudian saring campuran
 - Amati filtrate di bawah sinar ultra violet dengan menggunakan laminar air flow
 - Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan sampel yang lain
- 5) Vitamin B₆
- a) Pereaksi Tembaga Sulfat
- Masukkan 1 mL ekstrak jeruk ke dalam tabung reaksi
 - Tambahkan 2 tetes larutan CuSO₄ 2% dan 10 tetes NaOH 3 M
 - Amati perubahan warna yang terjadi
 - Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan sampel yang lain
- b) Pereaksi Besi Klorida
- Masukkan 1 mL ekstrak jeruk ke dalam tabung reaksi
 - Tambahkan 2- 3 tetes larutan FeCl₃ 1%
 - Amati warna yang terjadi
 - Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan sampel yang lain
- 6) Vitamin C
- a) Pereaksi Benedict
- Masukkan 5 tetes larutan ekstrak jeruk ke dalam tabung reaksi
 - Tambahkan 5 tetes pereaksi Benedict
 - Panaskan di atas api kecil hingga mendidih selama 2 menit
 - Amati endapan dan perubahan warna yang terbentuk
 - Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan sampel yang lain
- b) Pereaksi FeCl₃ basa
- Masukkan 10 tetes larutan ekstrak jeruk ke dalam tabung reaksi
 - Perkirakan larutan pada pH 8 dengan menambahkan NaHCO₃ 5%
 - Tambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 1%
 - Amati perubahan warna yang terjadi
 - Ulangi langkah kerja di atas dengan menggunakan sampel yang lain
- 7) Identifikasi efek antioksidan vitamin C
- Sediakan 4 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
- 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	
1.	Ekstrak jeruk			
2.	Ekstrak pepaya			
3.	Ekstrak mangga			
4.	Ekstrak wortel			
5.	Ekstrak bayam			
6.	Vitamin A			

2. Vitamin D

No	Sampel	Hasil Pengamatan	Vitamin D (+/-)
1.	Ekstrak jeruk		
2.	Ekstrak pepaya		
3.	Ekstrak mangga		
4.	Ekstrak wortel		
5.	Ekstrak bayam		
6.	Vitamin D		

3. Vitamin B₁

No	Sampel	Hasil Pengamatan	Vitamin B ₁ (+/-)
1.	Ekstrak jeruk		
2.	Ekstrak pepaya		
3.	Ekstrak mangga		
4.	Ekstrak wortel		
5.	Ekstrak bayam		
6.	Vitamin B		

4. Vitamin B₂

No	Sampel	Hasil Pengamatan	Vitamin B ₂ (+/-)
1.	Ekstrak jeruk		
2.	Ekstrak pepaya		
3.	Ekstrak mangga		
4.	Ekstrak wortel		
5.	Ekstrak bayam		
6.	Vitamin B		

5. Vitamin B₆

No	Sampel	Hasil Pengamatan		Vitamin B ₆ (+/-)
		Pereaksi CuSO ₄	Pereaksi FeCl ₃	
1.	Ekstrak jeruk			
2.	Ekstrak pepaya			
3.	Ekstrak mangga			
4.	Ekstrak wortel			

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

6. Vitamin C

No	Sampel	Hasil Pengamatan		Vitamin C (+/-)
		Pereaksi Benedict	Pereaksi FeCl ₃	
1.	Ekstrak jeruk			
2.	Ekstrak pepaya			
3.	Ekstrak mangga			
4.	Ekstrak wortel			
5.	Ekstrak bayam			
6.	Vitamin C			

7. Identifikasi efek antioksidan vitamin C

No Tabung	Perlakuan Sampel	Hasil Pengamatan
1		
2		
3		
4		

E. Pembahasan

(Pembahasan berisi fungsi reagen dan langkah kerja yang dilakukan; mengkaitkan hasil pengamatan dengan teori)

F. Kesimpulan

(Kesimpulan berisi jawaban sesuai dengan tujuan percobaan yang dituliskan dengan kalimat sederhana)

G. Daftar Pustaka

(Referensi dapat bersumber dari buku dan artikel yang ada di jurnal minimal 3. Daftar pustaka yang digunakan minimal berasal dari 10 tahun terakhir)

H. Evaluasi

1. Jelaskan mengapa vitamin C dapat memberikan hasil positif terhadap uji benedict!
2. Sebutkan fungsi vitamin B₆!
3. Jelaskan fungsi H₂O₂ dan pemanasan pada uji vitamin A dan D!
4. Mengapa terjadi proses pencoklatan bila kentang didiamkan pada udara terbuka?
5. Jelaskan fungsi fenol dan asam askorbat pada uji identifikasi efek antioksidan!
6. Apa vitamin yang berperan sebagai antioksidan?
7. Jelaskan mengapa vitamin C dapat berperan sebagai antioksidan!
8. Sebutkan sumber vitamin D!
9. Jelaskan peran vitamin A dalam proses penglihatan!
10. Apa saja yang termasuk vitamin larut lemak?

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 nama lainnya 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

1. 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 |

2. 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

3. 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) Standardization of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N with KIO_3 0,01 N
 - Pipet 10 mL KIO_3 0,01 N into Erlenmeyer
 - Add 100 mL aquades
 - Add 5 mL H_2SO_4 0,01 N and 10 mL KI 10%
 - Titrate with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N until the solution turns pale yellow
 - Add 1 mL 1% starch until the solution turns blue
 - Continue titration with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N until the blue color disappears
- b) Standardization of iodine 0,01 N with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N
 - Pipet 10 mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N into Erlenmeyer
 - Add 100 mL aquades and 1 mL HCl
 - Add 1 mL 1% starch until the solution turns blue
 - Continue titration with iodine 0,01 N until the blue color disappears
- c) Determination of vitamin C content in sample
 - Pipet 10 mL sample into Erlenmeyer
 - Add 100 mL aquades and 1 mL HCl
 - Add 1 mL 1% starch until the solution turns blue
 - Continue titration with iodine 0,01 N until the blue color disappears

D. Hasil Percobaan

	Volume of Sample (mL)	Pembacaan Buret (mL)		Volume (mL) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Volume (mL) Iodine
		Awal	Akhir		
Standardization of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N with KIO_3 0,01 N					
Volume Rata-rata					
Standardization of iodine 0,01 N with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 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

(Pembahasan berisi fungsi reagen dan langkah kerja yang dilakukan; mengkaitkan hasil pengamatan dengan teori)

F. Kesimpulan

(Kesimpulan berisi jawaban sesuai dengan tujuan percobaan yang dituliskan dengan kalimat sederhana)

G. Daftar Pustaka

(Referensi dapat bersumber dari buku dan artikel yang ada di jurnal minimal 3. Daftar pustaka yang digunakan minimal berasal dari 10 tahun terakhir)

H. Evaluasi

1. Jelaskan mengapa vitamin C dapat memberikan hasil positif terhadap uji benedict!
2. Sebutkan fungsi vitamin B₆!

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 falvus 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): 1-1 8
- Yasid, E. dan Nursanti, L. 2016. *Biokimia Praktikum Analis 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**