

PANDUAN PRAKTIKUM **BIOKIMIA**



Penyusun :
Intan Kurnia Putri, S.Si., M.Sc

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN MITRA KELUARGA
BEKASI
2022

Kata Pengantar

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkah dan rahmatNya, sehingga Panduan Praktikum Biokimia ini dapat tersusun dan selesai tepat pada waktunya. Penyusunan panduan praktikum ini bertujuan untuk membantu mahasiswa dalam menjalankan praktikum Biokimia.

Dalam penyusunan Panduan Praktikum Biokimia ini mungkin masih terdapat kekurangan, maka kami mengharapkan saran dan kritik untuk perbaikannya.

Semoga panduan praktikum ini dapat bermanfaat bagi para pembaca khususnya mahasiswa dalam melaksanakan praktikum Biokimia. Kepada semua pihak yang telah membantu tersusunnya Panduan Praktikum ini kami ucapkan terima kasih.

Bekasi, Maret 2022
Penyusun

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	3
PEDOMAN PRAKTIKUM BIOKIMIA	6
PRODI S1 FARMASI	6
STIKes Mitra Keluarga	6
NAMA MATA KULIAH : PRAKTIKUM BIOKIMIA.....	6
BEBAN STUDI : 1 SKS (T=0,P=1,K=0).....	6
PENEMPATAN : SEMESTER IV.....	6
A. DESKRIPSI MATA KULIAH.....	6
PRAKTIKUM I	16
ANALISIS KARBOHIDRAT :	16
UJI <i>MOLISCH</i> DAN <i>BENEDICT</i>	16
PRAKTIKUM II.....	21
ANALISIS GLUKOSA DALAM URIN	21
DENGAN METODE <i>BENEDICT</i> DAN <i>DIPSTICK</i>	21
PRAKTIKUM III	24
HIDROLISIS PATI SECARA KIMIAWI.....	24
I. Tujuan	24
II. Tinjauan Pustaka.....	24
2.1. Pati (Amilum)	24
PRAKTIKUM IV	28
HIDROLISIS PATI SECARA ENZIMATIS	28
PRAKTIKUM V	31
ANALISIS PROTEIN	31

PRAKTIKUM VI	36
ANALISIS ASAM AMINO	36
PRAKTIKUM VII.....	40
ANALISIS LIPID	40
PRAKTIKUM VIII	46
BENDA KETON.....	46
PRAKTIKUM IX	48
HIDROLISIS MENTEGA DAN UJI AKROLEIN.....	48
PRAKTIKUM X.....	50
ANALISIS BILIRUBIN, UROBILIN DAN UROBILINOGEN.....	50
PRAKTIKUM XI	53
ANALISIS VITAMIN	53

TATA TERTIB PRAKTIKUM BIOKIMIA

1. Praktikan harus hadir 15 menit sebelum praktikum dimulai. Keterlambatan praktikan lebih dari 15 menit tanpa alasan yang jelas, tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
2. Bila karena sesuatu hal tidak dapat mengikuti praktikum, harus dapat menunjukkan surat keterangan sakit dari dokter.
3. Selama mengikuti praktikum, semuanya diharuskan memakai jas praktikum yang bersih, sepatu tertutup, membawa lap/tissue serta keperluan lain, serta dilarang membawa makanan/minuman, serta membawa handphone (HP) ke dalam laboratorium/ruang praktikum
4. Praktikan yang meninggalkan ruang laboratorium, harus lapor pada dosen Pembimbing Praktikum.
5. Praktikan harus menjaga kebersihan Laboratorium, bekerja dengan tertib, tenang dan teratur. Selama praktikum, peserta harus bersikap sopan dan dilarang tidur.
6. Praktikan wajib menuliskan hasil pada tabel data pengamatan dan menjawab pertanyaan (*Post test*).
7. Setiap praktikan harus mengembalikan alat-alat yang telah dipakai ke tempat semula dalam keadaan bersih dan kering dalam keadaan dan jumlah yang sama

seperti sebelum praktikum.

8. Kerusakan/pemecahan alat baik dilakukan oleh perorangan maupun kelompok, harus melapor kepada laborant pada saat itu juga dan diharuskan mengganti.
9. Setiap praktikan, harus berhati-hati pada waktu mengambil atau melakukan pemanasan zat-zat yang berbahaya dan beracun (Zat-zat yang pekat, korosif, karsinogen, dan mudah terbakar). Hal ini untuk menghindari terjadinya kebakaran dan kecelakaan.
10. Hal-hal yang belum tercantum dalam peraturan tata tertib ini akan diatur oleh koordinator praktikum dengan peraturan atau pengumuman tersendiri.

**PEDOMAN PRAKTIKUM BIOKIMIA
PRODI S1 FARMASI
STIKes Mitra Keluarga**

NAMA MATA KULIAH	: PRAKTIKUM BIOKIMIA
BEBAN STUDI	: 1 SKS (T=0,P=1,K=0)
PENEMPATAN	: SEMESTER IV

A. DESKRIPSI MATA KULIAH

Mata kuliah ini mempelajari makromolekul sistem hidup, pembangkitan energi, rangkaian metabolik, reaksi-reaksi yang memerlukan energi, metabolisme dan biosintesis makromolekul sebagai landasan aksi obat dalam tubuh.

B. CAPAIAN PEMBELAJARAN MATA KULIAH

Setelah mengikuti kegiatan pembelajaran ini, mahasiswa mampu :

1. Melakukan analisis glukosa dalam urin dengan metode benedict dan dipstick
2. Melakukan uji hidrolisis pati secara enzimatis dengan metode benedict dan dipstick
3. Melakukan pemeriksaan benda keton pada urin menggunakan metode *Gerhard* dan *Dipstick*
4. Melakukan uji kelarutan dan identifikasi vitamin pada sampel makanan
5. Melakukan pemeriksaan bilirubin, urobilin dan urobilinogen pada urin dengan metode *Harrison*, *Schlezing* dan *Ehrlich*
6. Melakukan uji pengaruh konsentrasi enzim, substrat, pH dan suhu terhadap aktivitas enzim amilase dan Katalase
7. Menganalisis hidrolisis pati, pemeriksaan bilirubin, urobilin dan urobilinogen urin, analisis vitamin dan enzim amilase
8. Melakukan analisis karbohidrat menggunakan uji *molisch* dan *benedict*
9. Melakukan uji hidrolisis pati secara kimiawi dengan metode *benedict* dan *iodin*
10. Melakukan identifikasi protein dengan pereaksi biuret dan uji pengendapan protein dengan logam berat

- Melakukan analisis asam amino menggunakan pereaksi *ninhidrin*, *millon* dan *Folin- Ciocalteu*
- Melakukan analisis lipid yang meliputi uji kelarutan lipid, keasaman, ketidakjenuhan lipid, penyabunan lipid dan kolesterol, uji hidrolisis mentega dan akrolein
- Menganalisis uji lipid, badan keton dalam urin dan hidrolisis mentega dan akrolein

C. METODE PEMBELAJARAN

- Video simulasi melalui laboratorium virtual dan simulasi data
- Observasi
- Eksperimen

D. METODE EVALUASI

- Post Test
- Presentasi
- Oral Test

JADWAL PEMBELAJARAN PRAKTIKUM

Mg Ke-	CPMK/Sub-CPMK (Kemampuan akhir tiap tahapan belajar)	Penilaian		Bentuk Pembelajaran, Metode Pembelajaran, Penugasan Mahasiswa [Estimasi Waktu]		Materi Pembelajaran [Pustaka]	Dosen
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring (offline)	Daring (online)		
[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[9]
I	Mampu melakukan Analisis Glukosa dalam Urin dengan Metode <i>Benedict</i> dan <i>Dipstick</i>	Ketepatan menjawab soal <i>post test</i> uraian/PG berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk Test: MCQ pada post test (soal 10 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar teori -Alat dan Bahan -Cara Kerja -Hasil	Praktikum: Metode: Observasi TM : 1x170'	Edlink: https://edlink.id/ panel/cl asses Praktikum: Metode: deo simulasi melalui laboratorium virtual - Simulasi data TM : 1x170'	Analisis Glukosa dalam Urin dengan Metode <i>Benedict</i> dan <i>Dipstick</i> (virtual lab : http://amrita.olabs.edu.in/?sub=79&brc h=17&sim=207&cnt=4)	IKP

Mg Ke-	CPMK/Sub-CPMK (Kemampuan akhir tiap tahapan belajar)	Penilaian		Bentuk Pembelajaran, Metode Pembelajaran, Penugasan Mahasiswa [Estimasi Waktu]		Materi Pembelajaran [Pustaka]	Dosen
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring (offline)	Daring (online)		
[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[9]
			pengamatan - Pembahasan - Kesimpulan -Daftar Pustaka				
II	Mampu melakukan uji hidrolisis pati secara enzimatis dengan metode <i>benedict</i> dan <i>iodin</i>	ketepatan menjawab soal <i>post test</i> uraian/P G berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP 1 (soal 10 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar teori -Alat dan Bahan -Cara Kerja -Hasil pengamatan - Pembahasan - Kesimpulan -Daftar Pustaka	Praktikum: Metode: Observasi TM : 1x170'	Edlink: https://edlink.id/ panel/classroom asses Praktikum: Metode: deo simulasi melalui laboratorium tutorial - Simulasi data TM : 1x170'	Uji Hidrolisis Pati secara Enzimatis dengan metode <i>benedict</i> dan <i>iodin</i> (https://www.youtube.com/watch?v=kquaf6GPhpc)	IKP

Mg Ke-	CPMK/Sub-CPMK (Kemampuan akhir tiap tahapan belajar)	Penilaian		Bentuk Pembelajaran, Metode Pembelajaran, Penugasan Mahasiswa [Estimasi Waktu]		Materi Pembelajaran [Pustaka]	Dosen
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring (offline)	Daring (online)		
[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[9]
III	Mampu melakukan pemeriksaan benda keton pada urin menggunakan metode <i>Gerhard</i> dan <i>Dipstick</i>	Ketepatan menjawab soal <i>post test</i> uraian/PG berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP 1 (soal 10 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar teori -Alat dan Bahan -Cara Kerja -Hasil pengamatan - Pembahasan - Kesimpulan -Daftar Pustaka	Praktikum: Metode: Observasi TM : 1x170'	Edlink: https://edlink.id/ panel/classes Praktikum: Metode: video simulasi melalui laboratorium Simulasi data TM : 1x170'	Benda Keton 1. Pemeriksaan benda keton menggunakan metode <i>Gerhard</i> 2. Pemeriksaan benda keton menggunakan metode <i>dipstick</i> https://www.youtube.com/watch?v=DQjilZoZCtU https://www.researchgate.net/publication/273983166_Comparing_Finger-stick_b-Hydroxybutyrate_with_Dipstick_Urine_Tests_in_the_Detection_of_Ketone_Bodies/link/554882400cf26a7bf4dacbb1/download	IKP
IV	Mampu melakukan uji kelarutan dan identifikasi vitamin pada sampel makanan	Ketepatan menjawab soal UP 1 uraian/PG berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP 1 (soal 10 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar teori	Praktikum: Metode: Observasi TM : 1x170'	Edlink: https://edlink.id/ panel/classes Praktikum: Metode: ini Lab - Simulasi data TM : 1x170'	Analisis Vitamin 1. Uji kelarutan vitamin pada sampel makanan 2. Identifikasi vitamin A, B6 dan C pada sampel makanan http://online-journal.unja.ac.id/index.php/sainmatika/article/view/1537	IKP

Mg Ke-	CPMK/Sub-CPMK (Kemampuan akhir tiap tahapan belajar)	Penilaian		Bentuk Pembelajaran, Metode Pembelajaran, Penugasan Mahasiswa [Estimasi Waktu]		Materi Pembelajaran [Pustaka]	Dosen
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring (offline)	Daring (online)		
[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[9]
			-Alat dan Bahan -Cara Kerja -Hasil pengamatan - Pembahasan - Kesimpulan -Daftar Pustaka				
V-VII	Mampu memahami pemeriksaan bilirubin, urobilin dan urobilinogen pada urin dengan metode <i>Harrison, Schlezinger</i> dan <i>Ehrlich</i>	Ketepatan dalam menjawab soal : UP1 (PG) 5 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP1 (soal 5 buah) Laporan : -Mencari jurnal dengan tema analisis bilirubin, urobilin dan urobilinogen - Presentasi dan diskusi antar kelompok	Praktikum: Metode: Observasi TM : 1x170'	Edlink: https://edlink.id/ panel/cl asses Praktikum: Metode: <i>Small Group Discussion</i> TM : 1x170'	alisis Bilirubin, Urobilin dan Urobilinogen 1. Analisis bilirubin pada urin dengan metode <i>Harrison</i> 2. Analisis urobilin pada urin dengan metode <i>Schlezinger</i> 3. Analisis urobilinogen dengan metode <i>Ehrlich</i>	IKP

Mg Ke-	CPMK/Sub-CPMK (Kemampuan akhir tiap tahapan belajar)	Penilaian		Bentuk Pembelajaran, Metode Pembelajaran, Penugasan Mahasiswa [Estimasi Waktu]		Materi Pembelajaran [Pustaka]	Dosen
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring (offline)	Daring (online)		
[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[9]
VIII	Mampu melakukan uji pengaruh konsentrasi enzim, substrat, pH dan suhu terhadap aktivitas enzim amilase dan Katalase	Ketepatan menjawab soal UP 1 uraian/PG berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP 1 (soal 10 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar teori -Alat dan Bahan -Cara Kerja -Hasil pengamatan - Pembahasan - Kesimpulan -Daftar Pustaka	Praktikum: Metode: Observasi TM : 1x170'	Edlink: https://edlink.id/ panel/classes Praktikum: Metode: deo simulasi melalui laboratorium virtual - Simulasi data TM : 1x170'	Analisis Enzim Amilase dan katalase 1. Pengaruh konsentrasi enzim, substrat, pH terhadap aktivitas enzim amilase 2. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim amilase 3. Uji enzim katalase pada sampel http://amrita.olabs.edu.in/?sub=79&brch=18&sim=236&cnt=4 1.	IKP
IX	Mampu melakukan analisis karbohidrat menggunakan uji <i>molisch</i> dan <i>benedict</i>	Ketepatan menjawab soal UP 2 uraian/PG berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP 2 (soal 5 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar teori	Praktikum : Observasi dan Eksperimen	Edlink: https://edlink.id/ panel/classes Praktikum: Metode: deo simulasi melalui laboratorium virtual - Simulasi data TM :	Analisis Karbohidrat : Uji <i>Molisch</i> dan <i>Benedict</i> http://amrita.olabs.edu.in/?sub=73&brch=8&sim=209&cnt=4	IKP

Mg Ke-	CPMK/Sub-CPMK (Kemampuan akhir tiap tahapan belajar)	Penilaian		Bentuk Pembelajaran, Metode Pembelajaran, Penugasan Mahasiswa [Estimasi Waktu]		Materi Pembelajaran [Pustaka]	Dosen
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring (offline)	Daring (online)		
[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[9]
			-Alat dan Bahan -Cara Kerja -Hasil pengamatan - Pembahasan - Kesimpulan -Daftar Pustaka		1x170'		
X	Mampu melakukan uji hidrolisis pati secara kimiawi dengan metode <i>benedict</i> dan <i>iodin</i>	Ketepatan menjawab soal UP 2 uraian/PG berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP2 (soal 5 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar teori -Alat dan Bahan -Cara Kerja -Hasil pengamatan - Pembahasan - Kesimpulan -Daftar Pustaka	Praktikum : Observasi dan Eksperimen	Edlink: https://edlink.id/panel/classes Praktikum: Metode: deo simulasi melalui laboratorium tual - Simulasi data TM : 1x170'	Uji hidrolisis Pati secara kimiawi dengan metode <i>benedict</i> dan <i>iodin</i>	IKP

Mg Ke-	CPMK/Sub-CPMK (Kemampuan akhir tiap tahapan belajar)	Penilaian		Bentuk Pembelajaran, Metode Pembelajaran, Penugasan Mahasiswa [Estimasi Waktu]		Materi Pembelajaran [Pustaka]	Dosen
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring (offline)	Daring (online)		
[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[9]
XI	Mampu melakukan identifikasi protein dengan pereaksi biuret dan uji pengendapan protein dengan logam berat	Ketepatan menjawab soal UP 2 uraian/PG berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP2 (soal 5 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar teori -Alat dan Bahan -Cara Kerja -Hasil pengamatan - Pembahasan - Kesimpulan -Daftar Pustaka	Praktikum : Observasi dan Eksperimen	Edlink: https://edlink.id/panel/classes Praktikum: Metode: deo simulasi melalui laboratorium tual - Simulasi data TM : 1x170'	Analisis Protein : 1. Identifikasi protein dengan pereaksi <i>Biuret</i> Uji pengendapan protein dengan logam berat (http://amrita.olabs.edu.in/?sub=73&brch=8&sim=140&cnt=4)	IKP

Mg Ke-	CPMK/Sub-CPMK (Kemampuan akhir tiap tahapan belajar)	Penilaian		Bentuk Pembelajaran, Metode Pembelajaran, Penugasan Mahasiswa [Estimasi Waktu]		Materi Pembelajaran [Pustaka]	Dosen
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring (offline)	Daring (online)		
[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[9]
XII	Mampu melakukan analisis asam amino menggunakan pereaksi <i>ninhidrin</i> , <i>millon</i> dan <i>Folin-Ciocalteu</i>	Ketepatan menjawab soal UP 2 uraian/PG berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP2 (soal 5 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar teori -Alat dan Bahan -Cara Kerja -Hasil pengamatan - Pembahasan - Kesimpulan -Daftar Pustaka	Praktikum : Observasi dan Eksperimen	Edlink: https://edlink.id/panel/classes Praktikum: Metode: deo simulasi melalui laboratorium tual - Simulasi data TM : 1x170'	Analisis asam amino menggunakan pereaksi <i>ninhidrin</i> , <i>millon</i> dan <i>Folin-Ciocalteu</i>	IKP
XIII	Melakukan analisis lipid yang meliputi uji kelarutan lipid, keasaman, ketidakjenuhan lipid, penyabunan lipid dan kolesterol, uji hidrolisis mentega dan akrolein	Ketepatan menjawab soal UP 2 uraian/PG berjumlah 10 soal	Kriteria: Pedoman penskoran (Marking Scheme) Bentuk: Test: MCQ pada UP2 (soal 5 buah) Laporan resmi : -Judul, tujuan dan dasar	Praktikum : Observasi dan Eksperimen	Edlink: https://edlink.id/panel/classes Praktikum: Metode: deo simulasi melalui laboratorium tual - Simulasi data	Analisis Lipid 1. Uji kelarutan Lipid 2. Uji Keasaman 3. Uji ketidakjenuhan minyak 4. Uji penyabunan minyak (hidrolisis minyak kelapa) 5. Uji kolesterol	IKP

Mg Ke-	CPMK/Sub-CPMK (Kemampuan akhir tiap tahapan belajar)	Penilaian		Bentuk Pembelajaran, Metode Pembelajaran, Penugasan Mahasiswa [Estimasi Waktu]		Materi Pembelajaran [Pustaka]	Dosen
		Indikator	Kriteria & Bentuk	Luring (offline)	Daring (online)		
[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[9]

PRAKTIKUM I

ANALISIS KARBOHIDRAT :

UJI *MOLISCH* DAN *BENEDICT*

I. Tujuan

- 1.1. Mahasiswa mampu mengidentifikasi karbohidrat dalam suatu bahan
- 1.2.Mahasiswa mampu mengetahui reaksi-reaksi dalam identifikasi karbohidrat
- 1.3. Mahasiswa mampu mengetahui beberapa sifat kimia karbohidrat
- 1.4.Mahasiswa mampu melakukan analisis karbohidrat pada sampel makanan dengan uji *Molisch*
- 1.5.Mahasiswa mampu melakukan analisis karbohidrat pada sampel makanan dengan uji *Benedict*

II. Tinjauan Pustaka

Karbohidrat merupakan senyawa organik yang paling melimpah di alam. Senyawa

ini dapat ditemukan baik pada tubuh manusia, hewan maupun tumbuhan. Adapun gugus fungsi karbohidrat terdiri dari aldehida (-CHO) dan keton (=CO). Senyawa ini juga mengandung banyak gugus hidroksil (-OH).

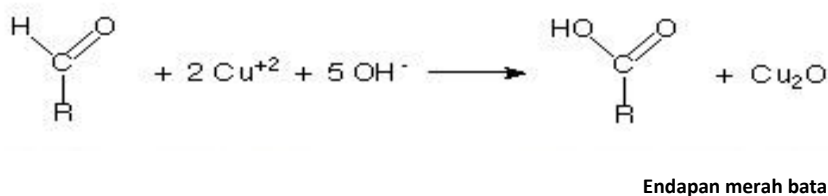
Karbohidrat pada umumnya dibagi menjadi tiga golongan yaitu monosakarida, disakarida dan polisakarida. Monosakarida merupakan karbohidrat yang paling sederhana, contohnya adalah glukosa, fruktosa dan galaktosa. Disakarida merupakan senyawa yang tersusun atas dua molekul monosakarida, sedangkan polisakarida adalah senyawa yang tersusun atas banyak molekul monosakarida (glukosa).

2.1. Uji molisch

Pada praktikum kali ini akan dilakukan deteksi kandungan karbohidrat dengan uji *benedict* dan *molisch*. **Prinsip dari uji molisch** adalah hidrolisis ikatan glikosidik pada karbohidrat oleh asam sulfat pekat sehingga menghasilkan monosakarida yang terhidrasi menjadi senyawa furfural dan derivatnya. Reaksi pembentukan furfural ini adalah reaksi dehidrasi atau pelepasan molekul oleh asam sulfat pekat. Senyawa furfural yang terbentuk kemudian akan berkondensasi dengan α - naftol membentuk senyawa berwarna. *Catatan : dehidrasi heksosa menghasilkan senyawa hidroksimetil furfural sedangkan dehidrasi pentosa menghasilkan senyawa furfural.*

2.2. Uji Benedict

Adapun uji *benedict* bertujuan mengidentifikasi karbohidrat melalui reaksi gula pereduksi. **Prinsip uji benedict** yaitu larutan alkali (basa) dari tembaga direduksi oleh gula yang mengandung gugus aldehid/keton bebas sehingga membentuk kupro oksida berwarna. Oleh sebab itu larutan benedict mengandung kuprisulfat, natrium karbonat dan natrium sitrat. Uji benedict dilakukan pada suasana basa yang menyebabkan terjadinya transformasi isomerik, artinya pada suasana basa, terjadi reduksi Cu^{2+} dari CuSO_4 oleh gula pereduksi akan berlangsung dengan cepat dan membentuk **Cu_2O yang merupakan endapan merah bata**. Pereaksi Benedict terdiri dari logam Cu dan larutan basa kuat. **Reaksi reduksi pada uji benedict** dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



III. Metode Kerja

3.1. Alat dan bahan uji Molisch

a. Alat

- Tabung Reaksi
- Rak tabung reaksi
- Pipet tetes

b. Bahan

- Larutan Glukosa 1%
- Larutan Fruktosa 1%
- Larutan Sukrosa 1%
- Larutan Laktosa 1%
- Larutan Maltosa 1%
- Larutan Pati
- Pereaksi *Molisch* (Larutan 5% α -naftol dalam alkohol 95%) (dibuat baru)

3.2. Alat dan Bahan Uji Benedict

a. Alat

- Tabung Reaksi
- Rak tabung reaksi
- Pipet tetes

b. Bahan

- Larutan Glukosa 1%
- Larutan Fruktosa 1%
- Larutan Sukrosa 1%
- Larutan Laktosa 1%
- Larutan Maltosa 1%
- Larutan Pati
- Pereaksi Benedict
- H_2SO_4 Pekat

3.3. Cara Kerja

a. Uji Molisch

1. Masukkan 5 mL bahan praktikum ke dalam tabung reaksi
2. Teteskan 2-3 tetes pereaksi Molisch lalu aduk .
3. Tambahkan perlahan-lahan melalui dinding tabung 3 mL asam sulfat pekat.
4. Perhatikan warna yang terjadi pada batas larutan

b. Uji Benedict

1. Pembuatan Pereaksi :

- Reagen Benedict : Campurkan 173 gram natrium sitrat dan 100 gram Na_2CO_3 anhidrat dalam kira-kira 800 mL air, aduk, lalu saring.

Kemudian tambahkan 17,3 gram CuSO₄ yang telah dilarutkan dalam 100 mL aquades. Selanjutnya volume total dibuat menjadi 1 L dengan aquades.

- 0,1 M galaktosa : larutkan 18 gram galaktosa dalam 1 L air.
- 0,1 M fruktosa : larutkan 18 gram fruktosa dalam 1 L air.
- Larutan Glukosa 0,1 M , Larutan sukrosa 0,1 M , dan Larutan pati 1%.

2. Prosedur Uji benedict

- Tambahkan 2-3 tetes larutan glukosa pada tabung reaksi yang telah mengandung 1-2 mL reagen Benedict, lalu dikocok.
- Tempatkan tabung reaksi ke dalam penangas air mendidih selama 5 menit, biarkan dingin, amati perubahan warnanya. Pembentukan endapan hijau, kuning atau merah menunjukkan reaksi positif.
- Lakukan prosedur uji *benedict* untuk larutan 0,1 M galaktosa, maltosa, sukrosa, fruktosa dan larutan pati 1%.

IV.LAPORAN KERJA MAHASISWA

Nama :

NIM :

DATA PENGAMATAN

a. Uji Molish

Warna	Penilaian warna	Endapan	Positif/Negatif
Galaktosa			
Fruktosa			
Glukosa			
Sukrosa			
Maltosa			

Pati/Amylum			
-------------	--	--	--

b. Uji Benedict

Warna	Penilaian warna	Endapan	Positif/Negatif
Galaktosa			
Fruktosa			
Glukosa			
Sukrosa			
Maltosa			
Pati/Amilum			

Post Test (Kerjakan langsung di kertas dan kumpulkan setelah selesai praktikum)

- a. Sebutkan uji karbohidrat yang anda lakukan !
- b. Jelaskan prinsip kerja metode !
- c. Berikan kesimpulan dari praktikum yang Anda kerjakan !

PRAKTIKUM II

ANALISIS GLUKOSA DALAM URIN

DENGAN METODE *BENEDICT* DAN *DIPSTICK*

I. Tujuan

- 1.1. Mahasiswa mampu melakukan analisis glukosa pada urin dengan metode *Benedict*
- 1.2. Mahasiswa mampu melakukan analisis glukosa pada urin dengan metode *dipstick*

II. Tinjauan Pustaka

Urin merupakan suatu larutan yang kompleks dan mengandung bermacam-macam bahan organik maupun anorganik. Komposisi urin tergantung dari bahan makanan yang dimakan, keadaan metabolisme tubuh, dan kemampuan ginjal untuk mengadakan seleksi. Sehingga komposisi urin dapat mencerminkan kemampuan ginjal untuk menahan dan menyerap bahan-bahan yang penting untuk metabolisme dasar dan mempertahankan homeostasis tubuh. Normalnya jumlah bahan yang terdapat dalam urin selama 24 jam adalah 35 gram bahan organik dan 25 gram bahan anorganik (Ma'arufah, 2004).

Pemeriksaan urin dapat dibagi menjadi tiga yaitu

1. Pemeriksaan fisik urin berupa warna, kejernihan, berat jenis, dan bau;
2. Pemeriksaan kimia atau uji dipstik yaitu melihat kadar zat-zat dalam urin yaitu protein, glukosa, keton, eritrosit, bilirubin, urobilinogen, nitrit, esterase leukosit, dan berat jenis spesifik;
3. Pemeriksaan mikroskopik urin untuk melihat

Pada praktikum kali ini akan dilakukan pemeriksaan kimia urin berupa glukosa. Pemeriksaan glukosa pada urin penting dalam mendeteksi dan monitoring kadar glukosa pada penderita diabetes mellitus. Dalam keadaan normal hampir semua glukosa difiltrasi glomerulus dan diserap kembali oleh tubulus proksimal. Biasanya glukosa pada urin terdeteksi jika kadar glukosa darah sudah mencapai 160-180 mg/dL tetapi glukosa dalam urin juga dapat terdeteksi pada urin normal. Metode untuk pengujian glukosa pada urin adalah dipstick dan benedict.

Metode dipstick dilakukan dengan menggunakan reagen strip (Strasinger dan Lorenzo, 2008). Uji kimia yang tersedia pada reagen strip umumnya adalah pH, protein, glukosa, bilirubin, urobilinogen, berat jenis, darah, keton, nitrit, dan leukosit esterase (Mundt dan Shanahan, 2011). Reagen strip adalah strip berupa plastik tipis yang ditempeli bantalan yang mudah menyerap urin yang mengandung bahan kimia tertentu sesuai jenis parameter yang akan diperiksa. Hasil uji dipstik kemudian dibandingkan dengan warna pada reagen strip dengan indikator dan dilaporkan secara semikuantitatif yaitu +1, +2, +3, atau +4. Reagen strip dicelupkan secara menyeluruh kedalam urin lalu

ditiriskan dari sisa urin yang masih menempel pada strip. Tunggu sampai urin dan reagen bereaksi dengan baik dan lakukan pembacaan hasil (Strasinger dan Lorenzo, 2008).

III. Alat dan Bahan

3.1. Alat

- a. Tabung Reaksi
- b. Rak tabung reaksi
- c. Pipet tetes
- d. *Drople plate* porselen
- e. Pot urin
- f. Alat dipstick GCU
- g. Strip dispstick

3.2. Bahan

- a. Larutan Glukosa 1%
- b. Larutan Fruktosa 1%
- c. Larutan Sukrosa 1%
- d. Larutan Laktosa 1%
- e. Larutan Maltosa 1%
- f. Larutan Pati
- g. Pereaksi Benedict
- h. H_2SO_4 Pekat

3.3. Cara Kerja:

a. Metode Benedict

1. Siapkan lima buah tabung reaksi
2. Masukkan 2,5 ml larutan *benedict* ke dalam masing-masing tabung reaksi.
3. Tambahkan empat tetes larutan dan urin patologis yang akan diperiksa:
 1. Tabung I : Glukosa 0,3 %
 2. Tabung II : Glukosa 1 %
 3. Tabung III : Glukosa 5%
 4. Tabung IV : Galaktosa 1 %
 5. Tabung V : Urin mahasiswa
4. Campur dengan baik
5. Didihkan selama 3 menit, kemudian dinginkan.
6. Interpretasi
 - (-) : Tetap biru atau hijau keruh
 - (+) : Keruh, warna hijau agak kuning

- (++) : Kuning kehijauan dengan endapan kuning
- (+++) : Kuning kemerahan, dengan endapan kuning merah
- (++++) : Merah jingga sampai merah bata

b. Metode Dipstick

- Masukkan urin ke dalam Tabung reaksi/pot urin
- Celupkan strip reagen (dipstick) ke dalam urin
- Tunggu selama 60 detik
- Amati perubahan warna yang terjadi
- Cocokkan dengan bagan warna.
- Catat warna yang terjadi.

IV. Hasil

a. Hasil Pemeriksaan Glukosa Metode *Benedict*

Warna	Penilaian warna	Endapan	Kadar glukosa
Biru	-	-	0
Hijau/hijau kuning	+	$\pm$	< 0,5 %
Kuning/kuning	+	+	0,5 – 1 %
Jingga	+	+	1 – 2 %
Merah bata	+	+	> 2%

b. Hasil Pemeriksaan Glukosa Metode *dipstick* (menurut simulasi video)

No	Kode Sampel	Penilaian	Warna	Interprestasi

4.1. Pembahasan

V. Kesimpulan

Daftar Pustaka

PRAKTIKUM III

HIDROLISIS PATI SECARA KIMIAWI

I. Tujuan

- 1.1. Mahasiswa mampu menganalisis hidrolisis amilum secara kimiawi dengan uji *Benedict*
- 1.2. Mahasiswa mampu menganalisis hidrolisis amilum secara kimiawi dengan uji Uji Iodin

II. Tinjauan Pustaka

2.1. Pati (Amilum)

Pati (amilum) merupakan salah satu jenis polisakarida yang berlimpah di alam, selain itu pati juga merupakan polimer yang tersusun oleh satuan-satuan glukosa sebagai monomernya yang terikat melalui ikatan glikosidik. Melalui reaksi hidrolisis sempurna, baik secara kimiawi maupun enzimatis, ikatan glikosidik tersebut diputus sehingga terbentuk satuan-satuan monomernya.

Dalam praktikum kali ini, perubahan yang terjadi selama proses hidrolisis dengan berjalannya waktu dapat diamati dengan uji Iodin (positif untuk pati) dan uji Benedict (positif untuk gula reduksi seperti maltosa dan glukosa). Kedua uji tersebut merupakan jenis uji kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui dan membuktikan adanya senyawa tertentu dalam sampel.

2.2. Uji Benedict

Uji Benedict bertujuan untuk mengetahui adanya gula pereduksi dalam larutan sampel. Prinsip dari uji ini adalah gugus aldehid atau keton bebas pada gula reduksi yang terkandung dalam sampel mereduksi ion Cu^{2+} dari $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam suasana alkalis menjadi Cu^+ yang mengendap menjadi Cu_2O . Suasana alkalis diperoleh dari Na_2CO_3 dan Na sitrat yang terdapat pada reagen Benedict.

Pada uji ini menghasilkan endapan merah bata yang menandakan adanya gula pereduksi pada sampel. Endapan yang terbentuk dapat berwarna hijau, kuning atau merah bata tergantung pada konsentrasi gula reduksinya. Semakin berwarna merah bata maka gula reduksinya semakin banyak.

2.3. Uji Iodin

Uji Iodin dilakukan untuk mengidentifikasi adanya polisakarida (pati) dalam sampel pati. Perubahan warna larutan terjadi karena dalam larutan pati terdapat unit-unit glukosa yang membentuk rantai heliks berupa ikatan dengan konfigurasi pada tiap unit glukosanya. Bentuk ini yang menyebabkan pati dapat

membentuk kompleks dengan molekul yodium yang dapat masuk kedalam spiralnya, sehingga menghasilkan warna biru tua atau kehitam hitaman.

Prinsip dari uji Iodin/Iod adalah larutan pati akan bereaksi dengan iod membentuk warna biru, karena iod masuk ke dalam kumparan molekul pati. Senyawa ini hanya stabil dalam larutan dingin. Pada pemanasan, warna biru akan hilang karena pati meregang, sehingga iod lepas dari kumparan pati, tetapi akan kembali biru apabila didinginkan. Amilosa akan memberikan warna yang lebih biru apabila dibandingkan dengan amilopektin

Urutan tinjauan pustaka

- a. *Pengertian pati (amilum) beserta contohnya*
- b. *Analisis kualitatif pati atau amilum*
- c. *uji iod*

III. Metode Kerja

3.1. Alat dan Bahan

a. Alat

1. Gelas Piala
2. Pipet tetes
3. Tabung reaksi
4. Penjepit tabung reaksi
5. Alat pemanas (waterbath)

b. Bahan

1. Larutan Pati 1%
2. Larutan Iodin (0,05 M iodium yaitu larutkan 10 gr KI dalam satu liter air + 2,5 gr Iodium dan aduk).
3. Reagen Benedict
4. HCl Pekat

3.2. Cara Kerja

a. Pembuatan Larutan I

1. Masukkan 25 mL larutan pati 1% ke dalam gelas piala.
2. Tambahkan 10 tetes HCl pekat
3. Kocok dan didihkan dalam *waterbath*.
4. **Larutan I** tetap dipanaskan dalam *waterbath* selama 45 menit
5. Jangan memindahkan **larutan I** dari *waterbath* selama rentang waktu tersebut sambil sekali-sekali dikocok.
6. Pengamatan hidrolisis pati dan perubahan yang terjadi selama berjalannya waktu sampai 45 menit tersebut dapat dilakukan dengan **uji iodin** dan **uji benedict** pada saat yang bersamaan setiap selang waktu 5 menit terhadap

larutan I tersebut.

b. Uji Iodin

- 1. Ambil satu tetes **Larutan I**
- 2. Masukkan ke dalam plat tetes atau cawan petri,
- 3. Tambahkan satu tetes larutan iodin.
- 4. Aduk dan amati perubahan warna yang terjadi.
- 5. Catat perubahan intensitas warna yang terjadi dengan bertambahnya waktu pemanasan.

c. Uji Benedict

- 1. Siapkan 9 tabung reaksi (masing-masing mengandung 5 mL larutan Benedict
- 2. Tambahkan pada masing-masing tabung reaksi 3 tetes **Larutan I** (lakukan dengan interval 5 menit pada tiap tabung, karena waktu hidrolisis sampai 45 menit maka dibutuhkan 9 kali uji benedict).
- 3. Panaskan tabung tersebut dalam waterbath dan amati perubahan warnanya.
- 4. Setelah dingin, bandingkan warnanya
Warna hijau : menunjukkan kandungan glukosa 0,25%
Warna kuning orange menunjukkan kandungan glukosa 1%
Warna merah menunjukkan kandungan glukosa lebih dari 2%.
- 5. Hasil pengamatan dicatat dalam tabel pengamatan.

IV. LAPORAN KERJA MAHASISWA

NAMA:

NIM:

DATA PENGAMATAN

Waktu	Uji Benedict			Uji Iodin
	Mula-mula	Dipanaskan	Didinginkan	
5'				
10'				
15'				
20'				
25'				

30'				
35'				
40'				
45'				

PRAKTIKUM IV

HIDROLISIS PATI SECARA ENZIMATIS

I. Tujuan

- 1.1. Mahasiswa mampu melakukan analisis hidrolisis pati secara enzimatis menggunakan uji *Benedict*
- 1.2. Mahasiswa mampu melakukan analisis hidrolisis pati secara enzimatis menggunakan uji Iodin

II. Tinjauan Pustaka

Air liur atau saliva disekresikan oleh tiga pasang kelenjar air liur yaitu kelenjar parotis di bawah telinga, kelenjar submaksilaris di bawah rahang bawah dan kelenjar sublingual di bawah lidah. Cairan ini terdiri dari kira-kira 99,5% air dan 0,5% komponen non air. Dua pertiga bagian dari komponen non air berupa bahan organik terutama ptialin (amilase saliva) dan musin, sedangkan sisanya berupa ion-ion anorganik seperti SO_4 , PO_4 , HCO_3 , Cl, Ca, Na dan K.

Musin dalam air liur berfungsi sebagai pelicin rongga mulut dan membasahi makanan sewaktu makanan dikunyah sehingga mudah ditelan. Ptialin (amilase saliva) berfungsi menghidrolisis pati menjadi dekstrin-dekstrin dan maltosa. Amilase saliva ini tidak aktif pada pH 4 atau lebih rendah lagi. Air liur umumnya memiliki pH sedikit asam yaitu kira-kira 6,8. Pada praktikum kali ini akan dilakukan analisis hidrolisis pati secara enzimatis dengan uji benedict dan Iodin.

III. Metode Kerja

3.1. Alat dan Bahan

a. Alat

1. Pot plastik
2. *Drople plate*
3. Kapas
4. Kertas saring
5. *Glass wool*

6. Cawan petri
7. Pipet tetes
8. *Waterbath*
9. Tabung reaksi dan rak tabung reaksi

b. Bahan :

1. Sampel air liur
2. Pereaksi Iodium
3. Pereaksi *Benedict*
4. HCl 0,1%
5. Asam Asetat 0,1%
6. Na_2CO_3 0,1%
7. Larutan pati 1%

3.2. Cara Kerja

a. Pengumpulan Sampel Air Liur

1. Bersihkan rongga mulut anda dengan cara berkumur berkali-kali.
2. Kunyah sepotong kapas atau kertas saring yang dibasahi dengan sedikit asam asetat encer (untuk merangsang produksi air liur).
3. Kumpulkan air liur anda sampai 50 mL
4. saring dengan *glass wool*.

b. Pembuatan Larutan I (Hidrolisis Pati Oleh Amilase Saliva)

1. Masukkan larutan pati atau kanji 1% ke dalam tabung reaksi
2. teteskan 2 mL air liur (yang sudah disaring)
3. kocok kemudian simpan atau inkubasi pada suhu 37°C (disebut **Larutan I**).
4. Setiap selang waktu 5 detik, lakukan uji iodin dalam plat tetes atau cawan petri dengan cara mengambil satu tetes cuplikan **Larutan I** dan dicampur dengan satu tetes pereaksi Iodium.
5. Catat kapan berubahnya kekentalan.
6. Catat pada detik atau menit keberapa timbulnya warna biru, warna kecoklat-coklatan dan kapan tidak memperlihatkan perubahan

warna lagi (ingat pereaksi Iodium sendiri berwarna kecoklat-coklatan).

7. Saat uji Iodium tidak lagi menunjukkan uji positif disebut Titik Akhromatik.
8. Lakukan pula uji *Benedict* pada saat tercapai titik akromatik untuk meyakinkan terbentuknya gula reduksi.
9. Bandingkan waktu yang anda temukan untuk tercapainya titik akhromatik dengan waktu yang ditemukan kelompok lain.
10. Jika percobaan ini dilakukan pada waktu dan cara yang sama, apakah hasilnya juga sama? Bagaimanakah pendapat anda ?

C. Pengujian Aktivitas Amilase Air Liur terhadap PH

1. Sediakan empat tabung reaksi

Tabung I : 2 mL HCl 0,1%

Tabung II : 2 mL Asam Asetat 0,1%

Tabung III : 2 mL aquadest dan

Tabung IV : 2 mL Na_2CO_3 0,1%

(Nilai pH dari masing - masing larutan pada tabung - tabung tersebut adalah 1, 5, 7 dan 9).

2. Tambahkan 2 mL larutan pati 1% dan 2 mL air liur ke dalam tiap-tabung.
3. Kocok dengan baik dan letakkan pada waterbath 37 °C selama 15 menit.
4. Pindahkan isi tabung dan bagi menjadi dua bagian, satu bagian dilakukan uji Iodium dan satu bagian lain dilakukan uji Benedict.

IV. LAPORAN KERJA MAHASISWA

4.1 Hasil.

Tuliskan data pengamatan dan berikan kesimpulan yang ada pada video tersebut

PRAKTIKUM V ANALISIS PROTEIN

I. Tujuan

- 1.1. Mahasiswa mampu melakukan identifikasi protein dengan pereaksi Biuret
- 1.2. Mahasiswa mampu melakukan uji pengendapan protein dengan logam berat

II. Tinjauan Pustaka

2.1. Protein

Protein merupakan makromolekul yang terbentuk dari asam amino yang tersusun dari atom nitrogen, karbon, hydrogen dan oksigen. Beberapa jenis asam amino yang mengandung sulfur (metionin, sistin, sistein) yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Dalam makhluk hidup protein berperan sebagai pembentuk struktur sel dan beberapa jenis protein memiliki peran fisiologis.

Protein merupakan makromolekul yang memegang peranan penting pada hampir semua proses biologi. Protein tersusun atas polimer asam amino, dimana asam amino merupakan senyawa yang terdiri dari gugus amina ($-NH_2$), gugus karboksil ($-COOH$) dan rantai samping (R). Dua atau lebih asam amino dapat membentuk polipeptida melalui pembentukan ikatan peptida. Ikatan ini dibentuk antara gugus amina pada asam amino satu dengan gugus karboksilat pada asam amino yang lain.

Berdasarkan bentuknya, molekul protein dibedakan menjadi protein globular (albumin, globulin dan hemoglobin) dan protein serabut (keratin pada rambut dan fibroin pada sutra). **Berdasarkan tingkat kelarutannya dalam air**, protein globular mudah larut dalam air, sedangkan protein keratin tidak larut dalam air. **Berdasarkan strukturnya**, protein dibentuk oleh struktur-struktur berikut ini :

1. Struktur primer, dibentuk oleh ikatan peptida antar asam amino
2. Struktur sekunder, dibentuk oleh ikatan hydrogen intramolekul yang terjadi di antara oksigen karbonil dan nitrogen amida pada kerangka peptida.

3. Struktur tersier, merupakan rangkaian molekuler yang menggambarkan bentuk keseluruhan dari protein. Jenis ikatan yang membentuk struktur tersier terdiri dari ikatan hydrogen, ionik, disulfida dan hidrofobik.
4. Struktur kuartener, dibentuk oleh beberapa polipeptida yang berikatan satu sama lain tidak secara kovalen.

Pada praktikum kali ini akan dipelajari cara identifikasi protein dan pengaruh fisik seperti suhu, pH serta zat-zat kimia terhadap struktur protein. **Uji kualitatif** dapat dilakukan untuk mengetahui keberadaan atau jenis protein dalam suatu bahan, sedangkan **uji kuantitatif** dapat dilakukan untuk mengetahui jumlah kandungan protein dalam suatu bahan.

2.2. Uji Biuret

Uji ini baik digunakan untuk uji umum terhadap protein, karena uji ini dapat mendeteksi kehadiran ikatan peptide. Uji biuret didasarkan pada reaksi antara ion Cu^{2+} dan ikatan peptide dalam suasana basa. Warna kompleks ungu menunjukkan adanya protein. Intensitas warna yang dihasilkan merupakan ukuran jumlah ikatan peptide yang ada dalam protein. Ion Cu^{2+} dari pereaksi biuret dalam suasana basa akan bereaksi dengan polipeptida atau ikatan ikatan peptide yang menyusun protein dan membentuk senyawa kompleks berwarna ungu atau violet. Reaksi ini positif terhadap dua buah ikatan peptide atau lebih, tetapi negatif untuk asam amino bebas atau satu ikatan peptide. Protein melarutkan hidroksi tembaga untuk membentuk kompleks warna. Reaksi pembentukan warna ini dapat terjadi pada senyawa yang mengandung gugus karbonil yang berikatan dengan nitrogen atau atom karbon (misalnya senyawa biuret).

2.3. Pengendapan Protein Oleh Logam

Kation-kation logam berat seperti Hg^{2+} , Pb, Cu, Ag, Au, Pt, dan lain-lain dapat mengendapkan protein dalam suasana basa. Kation besar dapat merusak interaksi ionik yaitu menetralkan muatan negatif dalam

protein sehingga terjadi denaturasi. Ion-ion ini juga dapat mendenaturasi protein karena bereaksi dengan gugus –SH membentuk sulfida.

(Urutan tinjauan pustaka):

1. *Pengertian protein*
2. *Klasifikasi protein*
3. *Sifat-sifat protein*
4. *Analisis kualitatif protein*
 - *Uji biuret*
 - *Uji pengendapan protein oleh logam*

III. Metode Kerja

3.1. Alat dan Bahan

a. Alat

1. Tabung reaksi
2. Rak tabung reaksi
3. Pipet tetes
4. Penangas Air

b. Bahan

1. Asam trikloroasetat (TCA) 10 %
2. NaOH 10 %
3. CuSO₄ 0,1 %
4. Sampel : albumin 2%, kasein 2%
5. PbAsetat 2%
6. FeCl₃ 2%
7. Asam Asetat 0,1 N dan Natrium Asetat 0,1 N

3.2. Cara Kerja

a. Uji Biuret

1. Siapkan tabung reaksi berisi 1 mL sampel protein dan 1 mL 10% NaOH kemudian aduk sekuatnya.
2. Tambahkan 1 - 5 tetes 0,1% CuSO₄, aduk sekuatnya.
3. Apabila tidak timbul warna tambahkan lagi beberapa tetes CuSO₄

sampai terbentuk warna.

4. Warna dan senyawa kompleks apa yang terbentuk? Mengapa harus dihindari kelebihan dari CuSO_4 ?
5. Positif ditunjukkan dengan warna violet (ungu)

b. Uji Pengendapan protein oleh Logam dan asam organik :

1. Sediakan 5 tabung reaksi yang bersih dan masukkan 2 ml larutan albumin ke dalam masing-masing tabung
2. Secara berurutan pada tabung 1,2,3 tambahkan 10 tetes larutan asam trikloroasetat 10 %, CuSO_4 5 % dan Pb-asetat 5 %.
3. Kocok setiap tabung dan amati perubahan yang terjadi
4. Perhatikan perubahan yang terjadi pada setiap kali penetesan.
5. Perhatikan lagi apakah endapan yang terbentuk larut kembali atau bertambah dengan penambahan reagen yang berlebih.

IV. LAPORAN KERJA MAHASISWA

NAMA :

NIM :

DATA PENGAMATAN

4.1. Hasil

a. Uji biuret

No	Zat uji	Hasil uji biuret	Poliipeptida (+/-)
1	Albumin/Putih telur		
2	Kasein		
3	Susu murni		
4	santan		

b. Uji pengendapan Protein dengan Logam dan Asam Organik

Bahan	Tabung 1	Tabung 2	Tabung 3
TCA 10 %			
CuSO ₄ 5%			
Pb-Asetat 5%			

Post Test (kerjakan langsung dikertas Folio)

1. Uji Biuret

- Sebutkan Perbedaan polipeptida dan protein
- Reaksi pembentukan biuret
- Pada praktikum ini, manakah yang memberikan hasil negatif pada uji biuret
- Sebutkan sumber protein gelatin dan kasein

2. Uji Pengendapan Protein dengan Logam dan Asam Organik

- Jelaskan mengenai denaturasi ireversibel protein
- Tuliskan struktur kimia asam sulfosalisilat dan TCA

PRAKTIKUM VI
ANALISIS ASAM AMINO

I. Tujuan

- 1.1.Mahasiswa mampu melakukan identifikasi asam amino dengan uji Ninhidrin
- 1.2.Mahasiswa mampu melakukan identifikasi asam amino dengan uji Milon

II. Tinjauan Pustaka

2.1. Asam Amino

Asam amino sebagai monomer protein merupakan molekul organik dengan massa molekul rendah (antara 100-200) yang mengandung setidaknya satu gugus karboksil (COOH) dan satu gugus amina (NH₂). Terdapat 20 macam asam amino penyusun protein. Variasi antar asam amino terletak pada jenis rantai sampingnya (gugus R). Pengetahuan tentang sifat asam amino akan membantu dalam identifikasi gugus R.

Asam amino diklasifikasikan dalam tujuh kelompok berdasarkan sifat kimia gugus R (Tabel 1), sehingga akan memudahkan dalam mengingat sifat-sifat umum dari setiap asam amino. Dengan klasifikasi ini dapat dirancang metode analisis yang spesifik untuk asam amino tertentu (Tabel 2).

Tabel 1. Klasifikasi asam amino berdasarkan sifat kimia gugus R.

Sifat Kimia Gugus R	Contoh Asam Amino
Alifatik	Gly, Ala, Val, Leu
Aromatik	Phe, Tyr, Trp
Hidroksiklik	Ser, Thr
Karboksiklik	Asp, Glu
Mengandung Sulfur	Cys, Met
Imino	Pro
Amino	Lys, Arg
Amida	Asn, Gln

Tabel 2. Beberapa reaksi untuk mendeteksi asam amino berdasarkan gugus R.

Nama Uji	Reaksi	Asam Amino Yang Dideteksi	Warna
Reaksi Millon	HgNO ₃ dalam asam nitrat dengan sedikit asam nitrit	Tirosin	Merah
Reaksi Hopkins-Cole	Asam glioksilat dalam asam sulfat pekat	Triptofan	Ungu

Reaksi Sakaguchi	α -naftol dan natrium hipoklorit	Arginin	Merah
Reaksi Folin-Ciocalteu	Asam fosfomolibdotungstat	Tirosin	Biru

2.3. Uji Ninhidrin

Semua asam amino bereaksi dengan triketonhidrindena hidrat (ninhidrin) untuk membentuk aldehid yang lebih kecil, dengan membebaskan karbondioksida, ammonia dan menghasilkan warna biru violet (untuk prolin dan hidroksiprolin dihasilkan warna kuning). Senyawa senyawa ammonium kuat, senyawa amin, sebagian besar peptide dan protein bereaksi dengan jalur yang sama, walaupun tidak menghasilkan karbondioksida dan ammonia.

Uji ninhidrin merupakan uji umum untuk asam amino. Apabila ninhidrin (triketohidrindene hidrat) dipanaskan dengan asam amino maka akan terbentuk kompleks berwarna. Dalam reaksi ini NH₃ dan CO₂ dilepaskan sehingga kemungkinan dapat diukur secara kuantitatif. Prolin dan hidroksiprolin menghasilkan kompleks yang berbeda warnanya dengan asam amino lainnya. Kompleks warna yang terbentuk mengandung dua molekul ninhidrin yang bereaksi dengan amonia setelah asam amino dioksidasi. Keseluruhan reaksi asam amino dengan ninhidrin adalah sebagai berikut :

1. Dekarboksilasi oksidatif dari asam amino dan produksi ninhidrin tereduksi, amonia, dan karbon dioksida.
2. Reaksi ninhidrin tereduksi dengan molekul ninhidrin lain serta amonia yang dibebaskan.
3. Kompleks berwarna biru terbentuk.

2.4. Uji Millon

Prinsip dari uji Millon adalah ternitrasinya tirosin membentuk garam merkuri yang berwarna merah. Pereaksi Millon berisi merkuri dan ion merkuro dalam asam nitrat dan asam nitrit. Fungsi uji Millon adalah untuk membuktikan adanya tirosin yang terkandung dalam suatu protein. Pada dasarnya reaksi ini positif untuk fenol-fenol, karena terbentuknya senyawa merkuri dengan gugus hidroksifenil yang berwarna.

Urutan tinjauan pustaka :

1. *Pengertian asam amino*
2. *Klasifikasi/macam asam amino*
3. *Uji kualitatif asam amino*

III. Metode Kerja

3.1. Alat dan Bahan

a. Alat

1. Tabung reaksi
2. Pipet tetes
3. Lampu spritus

b. Bahan

1. Larutan Ninhidrin (triketohidrindene hidrat)
2. Larutan Millon (HgNO_3 dalam asam nitrat dengan sedikit asam nitrit)
3. Sampel Protein 2%
4. Sampel Asam Amino 2%

3.2. Cara Kerja

a. Uji Millon

1. Sebanyak 2 ml sampel larutan yang akan diuji (albumin, gelatin dan kasein masing-masing)
2. Lalu tambahkan 5-10 tetes pereaksi millon dan dicampur dengan baik.
3. Amati endapan putih yang terbentuk.
4. Campuran lalu dipanaskan dengan hati hati sampai terlihat warna merah yang menunjukkan hasil positif terhadap uji millon

b. Uji Ninhidrin

1. Sampel yang akan diuji (albumin, kasein, dan pepton) 0,2 % ditur pH-nya hingga mendekati 7 dengan menambahkan larutan alkali.
2. Sebanyak 2 ml sampel yang akan diuji ditambahkan ke dalam tabung reaksi lalu tambahkan beberapa tetes larutan ninhidrin 0,1% pada masing-masing tabung
3. Panaskan hingga mendidih selama 10 menit
4. Amati perubahan warna kompleks yang terjadi (warna biru violet yang terbentuk menunjukkan hasil positif adanya asam amino)

IV. LAPORAN KERJA MAHASISWA

NAMA:

NIM:

DATA PENGAMATAN

4.1. Hasil

a. Uji Millon

No	Sampel	Hasil Pengamatan	Asam amino bebas (+/-)

b. Uji Ninhidrin

No	Sampel	Hasil Pengamatan	Asam amino bebas (+/-)
1	Albumin 2%		
2	Gelatin 2 %		
3	Kasein 0,5%		
4	Pepton 0,5%		
5	Susu murni		
6	Santan		

Post Test

1. Jelaskan apa yang dimaksud asam amino bebas
2. Pada percobaan ini mana yang memberikan hasil positif pada uji millon dan ninhidrin
3. Dapatkan reaksi ninhidrin digunakan untuk menentukan asam amino secara kuantitatif ? jelaskan

PRAKTIKUM VII
ANALISIS LIPID

I. Tujuan

- 1.1.Mahasiswa mampu melakukan uji kelarutan, keasaman, ketidakjenuhan dan penyabunan sampel yang mengandung lipid.
- 1.2.Mahasiswa mampu melakukan uji kolesterol pada sampel yang mengandung lipid

II. Tinjauan Pustaka

Lipid adalah segolongan senyawa dalam organisme hidup yang bersifat larut dalam pelarut organik. Lipid berfungsi penting bagi tubuh sebagai pelarut beberapa vitamin (A, D, E, dan K) dan juga merupakan sumber energi yang lebih efektif dibanding karbohidrat dan protein. Karakteristik sifat lipid adalah tidak larut dalam 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 essensial 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 kolestrerol, dan uji penyabunan minyak.

Lemak dan minyak merupakan lipid sederhana. **Lemak** berwujud padat pada suhu kamar, sedangkan **minyak** berwujud cair. Lemak dan minyak adalah trigliserida berupa ester yang terbentuk oleh hasil kondensasi tiga molekul asam lemak dengan trihidroksi alkohol (gliserol). Asam lemak terpenting yang terdapat dalam tumbuhan dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Daftar Berat Molekul beberapa asam lemak

Sumber Minyak	Asam Lemak Terbanyak	Bobot Molekul
Kelapa sawit	Asam Palmitat($C_{16}H_{32}O_2$)	256
Kelapa sawit	Asam Laurat ($C_{12}H_{24}O_2$)	200
Susu	Asam Oleat ($C_{18}H_{34}O_2$)	282
Jagung, Kedelai	Asam Linoleat ($C_{18}H_{32}O_2$)	278

Asam lemak pembentuk lipid terbagi dua kelompok, yaitu asam lemak jenuh (contohnya asam laurat, asam miristat, asam palmitat dan asam stearate) dan asam lemak tak jenuh (contohnya asam oleat, asam linoleat, asam linoleat dan asam arakidonat). Berdasarkan komposisi kimianya, lipid digolongkan menjadi :

- a. Lipid sederhana
- b. Lipid majemuk dan
- c. Turunan lipid

Uji kualitatif lipid dapat dilakukan untuk mengetahui sifat, kelarutan dan jenis lipid suatu bahan, sedangkan uji kuantitatif dapat dilakukan untuk mengetahui jumlah kandungan lipid dalam suatu bahan.

Urutan tinjauan pustaka

- *Pengertian lipid*
- *Klasifikasi lipid*
- *Asam lemak dan macam asam lemak*

III. Metode Kerja

3.1. Alat dan Bahan

a. Alat

- | | |
|------------------|--------------------|
| 1. Tabung reaksi | 7. Neraca analitis |
| 2. Pipet tetes | 8. Vortex |
| 3. Plat tetes | 9. Hot plate |
| 4. Kertas lakmus | 10. Spatula |
| 5. Erlenmeyer | 11. Pipet volume |
| 6. Gelas kimia | |

b. Bahan :

- | | |
|---|--|
| 1. Minyak goreng bekas | 11. Sabun Cair |
| 2. Minyak goreng baru | 12. Gliserol |
| 3. Mentega | |
| 4. Minyak Kelapa (VCO) | 13. Larutan NaOH |
| 5 Minyak kemasan (eceran) | 14. Asam Asetat 5 M |
| 6. CaCl ₂ 5 % | 15.Minyak ikan |
| 7. MgCl ₂ 5 % | |
| 8. Alkohol 99 % | 16. Pb-asetat 5 % |
| 9. Aquadest | 17. Larutan detergen 1 % |
| 10. Larutan Na ₂ CO ₃ 0,5 % | 20. H ₂ SO ₄ pekat |
| | 21. minyak kelapa tengik |

3.2. Cara Kerja

a. Pengujian Lipid

1) Uji Kelarutan Lipid

Prinsip :

Senyawa golongan lipid mempunyai sifat kelarutan yang berbeda. Lipid larut dalam pelarut organik non polar dan pelarut polar yang dipanaskan. Sifat ini digunakan untuk mengekstraksi dan mengisolasi lipid dari berbagai bahan biologi.

Cara kerja :

- Sejumlah 0,5 gr bahan praktikum (lemak padat, minyak zaitun, asam palmitat dan gliserol dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang terpisah
- Lalu masukkan 3 ml pelarut (air, alcohol panas, alcohol dingin, eter dan kloroform) ke dalam masing-masing tabung kemudian kocok kuat kuat.
- Amati tingkat kelarutannya secara langsung atau tidak langsung dengan cara menyaringnya dengan kertas saring ke dalam kaca gelas arloji
- Setelah itu pelarut diuapkan pada penangas air sampai terlihat lipid yang terlarut dalam cawan tersebut.

2) Uji Keasaman Minyak

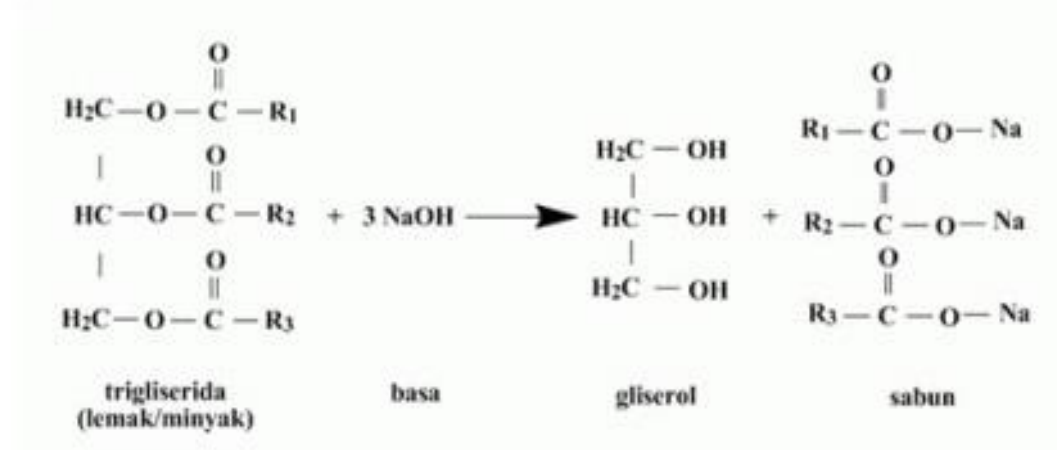
Prinsip Dasar :

Minyak umumnya bersifat netral, sedangkan minyak yang sudah tengik bersifat asam. Hal tersebut terjadi karena minyak mengalami hidrolisis dan oksidasi menghasilkan aldehid, keton dan asam lemak bebas. Proses ketengikan pada lemak atau minyak dapat dipercepat oleh cahaya , kelembaban, pemanasan, aksi mikroba dan katalis logam tertentu seperti Fe, Ni atau Mn. Proses ketengikan tersebut dapat dihambat oleh zat-zat yang disebut antioksidan , misalnya tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), polifenol, hidrokuionon dan flavonoid

- Masukkan 2 tetes larutan uji (minyak kelapa baru dan tengik) pada plat tetes
- Celupkan kertas lakmus
- Amati perubahan warna pada kertas lakmus
- Ulangi percobaan di atas menggunakan larutan uji lain

3) Uji Penyabunan Minyak

Lemak dan minyak dapat terhidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol. Prosed hidrolisis yang disengaja biasanya dilakukan dengan penambahan basa kuat, seperti NaOH dan KOH, dengan pemanasan menghasilkan gliserol dan sabun.



Proses hidrolisis minyak oleh alkali tersebut disebut dengan **reaksi penyabunan (saponifikasi)**

a. Hidrolisis minyak kelapa (Saponifikasi)

- Masukkan 2,5 mL minyak kelapa ke dalam gelas kimia 250 mL
- Tambahkan 1,5 gram NaOH dan 25 mL alkohol 96%
- Panaskan campuran hingga mendidih selama 15 menit
- Untuk mengetahui reaksi penyabunan telah sempurna. 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 lalu tambahkan 75 mL aquades lalu panaskan sampai semua sabun larut

b. Uji sifat-sifat Sabun (Kesadahan)

- Ambil 6 ml larutan sabun tersebut dengan pipet ukur, lalu netralkan dengan asam asetat encer.
- Larutan sabun yang telah netral dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- Pada tabung 1, 2 dan 3 secara berurutan tambahkan CaCl_2 5 %, MgSO_4 5 % dan Pb-Asetat 5 % sebanyak 5 ml. lakukan pengocokan dengan kuat.
- Catat dan amati perubahan yang terjadi

- Ulangi percobaan dengan deterjen lalu bandingkan hasilnya

4) Uji Kolesterol (*Liebermann-Burchard*)

Prinsip Dasar :

Kelompok lipid, seperti fosfolipid dan sterol merupakan komponen penting yang terdapat dalam membrane semua sel hidup. Kolesterol adalah sterol utama yang banyak terdapat di alam. Sterol dan kolesterol dapat diidentifikasi dengan reaksi warna. Salha satunya adalah reaksi Liebermann-Burcahrd. Hasil uji positif mengandung sterol/kolesterol apabila terjadi perubahan warna dari merah menjadi biru dan hijau. Warna hijau yang terjadi sebanding dengan konsentrasi kolesterol dalam bahan.

- Siapkan 4 buah tabung reaksi bersih
- Isi masing- masing tabung reaksi secara berurutan dengan 1 mL minyak kelapa, 0,1 gram mentega, 5 tetes minyak ikan, 5 tetes minyak kemasan 5 tetes minyak bekas, 5 tetes minyak kemasan
- Masukkan 2 mL klorofom ke dalam masing- masing tabung
- Tambahkan 10 tetes CH₃COOH (asam asetat anhidrat) dan 3 tetes H₂SO₄
- Amati perubahan warna yang terjadi

IV. LAPORAN KERJA MAHASISWA

NAMA :

NIM :

DATA PENGAMATAN

4.1. Hasil

a. Uji Kelarutan Lipid

No	Larutan Uji	Hasil Pengamatan (Larut/ Tidak Larut/ Emulsi)				
		Aquades	Alkohol 96% panas	Alkohol dingin	Eter	Kloroform
1	Minyak kelapa (lemak cair)					
2	Minyak kelapa sawit (lemak cair)					
3	Palmitat					
4	Zaitun					
5	Gliserol					
3	Mentega (lemak padat)					

b. Uji Keasaman

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

c. Uji Penyabunan Minyak

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

d. Uji Kolesterol

Larutan Uji	Pengamatan	Kolesterol (+/-)
Minyak kelapa		
Minyak ikan		
Mentega		
Minyak bekas		
Minyak kemasan		

PRAKTIKUM VIII BENDA KETON

I. Tujuan

- 1.1. Mahasiswa mampu melakukan analisis benda keton pada urin dengan pereaksi *Gerhard*
- 1.2. Mahasiswa mampu melakukan analisis benda keton pada urin dengan metode *dipstick*

II. Tinjauan Pustaka

Benda keton merupakan hasil pemecahan lemak di dalam tubuh. Pemecahan lemak akan menghasilkan benda-benda keton yang bisa dideteksi dalam urine . Badan-badan keton dapat berupa asam asetoasetat, betahidroksibutirat, dan aseton yang muncul dalam urine pada saat asupan karbohidrat berkurang sehingga sumber energi diperoleh dari metabolisme lemak. Adanya badan keton dalam urin disebabkan metabolisme lemak dan asam lemak secara berlebihan serta kurangnya karbohidrat dalam tubuh sehingga simpanan asam lemak digunakan sebagai sumber energi.

Pada praktikum kali ini akan dilakukan pemeriksaan benda keton pada urin dengan metode *Gerhard* dan *dipstick*. Metode Gerhardt merupakan reaksi antara besi klorida dengan asam diasetat membentuk senyawa berwarna merah anggur. Hasil yang dilaporkan bersifat kualitatif. Berbeda dengan metode Gerhardt, penggunaan *dipstick ketostick* lebih akurat dan efisien dalam pengukuran benda keton pada urine dibandingkan dengan beberapa cara pengukuran benda keton lainnya. Pemeriksaan badan keton pada praktikum ini dilakukan secara langsung setelah pengoleksian urine untuk menghindari temuan hasil negatif palsu karena sifat benda keton yang mudah menguap pada udara bebas.

III. Metode Kerja

3.1. Alat dan Bahan

a. Alat

1. Tabung Reaksi
2. Pipet Ukur
3. Batang Pengaduk
4. Pipet Tetes
5. Alat *dipstick*
6. Pot Urin

B. Bahan

- 1. Urin
- 2. FeCl₃ 10 %
- 3. H₂O₂ 3%
- 4. Fenolftalein

3.2.Cara Kerja

a. Pemeriksaan Benda Keton Menggunakan Metode *Gerhard*

- 1. Tabung reaksi di isi 5 ml urin.
- 2. Ditambah beberapa tetes FeCl₃ 10 % dicampur, dimati perubahan warna yang terjadi.
- 3. Positif ditunjukkan dengan warna merah anggur

b. Pemeriksaan Benda Keton Menggunakan Metode *Dipstick*

- 2. Masukk urin ke dalam tempat urin (Tabung reaksi/pot urin)
- 3. Celupkan strip reagen (*dipstick*) ke dalam urin, tunggu selama 60 detik, amati perubahan warna yang terjadi dan cocokkan dengan bagan warna

IV. Hasil dan Pembahasan (Tulis sesuai di video)

4.1.Hasil

a. Pemeriksaan Benda Keton Menggunakan Metode *Gerhard*

No	Kode Sampel	Penilaian	Warna Endapan	Interprestasi

b. Pemeriksaan Benda Keton Menggunakan *Dipstick*

No	Kode Sampel	Penilaian	Warna	Interprestasi

PRAKTIKUM IX

HIDROLISIS MENTEGA DAN UJI AKROLEIN

I. Tujuan

- 1.1. Mahasiswa mampu melakukan uji hidrolisis mentega dan akrolein
- 1.2. Mahasiswa mampu memahami prinsip uji hidrolisis mentega dan akrolein

II. Tinjauan Pustaka

III. Metode Kerja

3.1. Alat dan Bahan

a. Alat

1. Spuit 5 ml tanpa jarum
2. Gelas piala
3. Rak tabung reaksi
4. Tabung reaksi
5. Gelas kimia
6. Pisau
7. Plastik

b. Bahan

1. Larutan ZnSO_4 0,1 %
2. Aquadest
3. AgNO_3 0,1 M
4. Apel

3.2. Cara Kerja

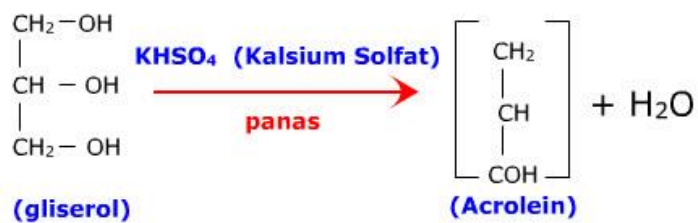
a. Hidrolisis Mentega

- Masukkan 5 gr mentega ke dalam beaker glass kecil lalu tambahkan 35 ml NaOH alkohol (20 % NaOH dalam 40 % etanol), tutup dengan kaca arloji dan panaskan di atas air mendidih sampai penyabunan sempurna. Kesempurnaan penyabunan dapat diuji dengan cara mengambil beberapa tetes hasil penyabunan, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi air. Bila penyabunan telah sempurna akan diperoleh larutan jernih tanpa tetes minyak pada permukaan.
- Setelah penyabunan sempurna tambahkan 10 mL air dan pindahkan ke dalam beaker glass 250 ml. Panaskan di atas penangas air mendidih sampai semua alkohol menguap (tidak tercium bau alkohol).
- Ambil 1 mL larutan hasil penyabunan pada tahap 2, masukkan ke dalam tabung reaksi, kocok dan perhatikan pembentukan busa. Lalu tambahkan 1 mL air dan 0,5 mL CaCl_2 0,1 N. Perhatikan apakah terjadi endapan ? Jelaskan !
- Ambil 1 mL larutan sabun pada tahap 2, masukkan pada tabung reaksi, lalu tambahkan 1 mL air dan NaCl padat hingga jenuh. Apa yang terjadi dan jelaskan peristiwa ini

- Ambil 5 mL larutan sabun pada tahap 2, tambahkan Asam Sulfat 2 N (periksa dengan lakmus) hingga asam. Perhatikan pembentukan bau asam butirat dan asam lemak lainnya yang mudah menguap. Tuliskan reaksi dalam percobaan ini. Lapisan lemak yang ada di permukaan dipindahkan dengan pipet ke dalam tabung reaksi, panaskan hingga asamnya hilang, lalu dinginkan. Periksa dengan uji Akrolein.

b. Uji Akrolein

Gliserol didehidratasi dengan KHSO_4 anhidrat (kalium bisulfat) membentuk suatu aldehyd tak jenuh yaitu akrolein. Akrolein mempunyai bau tak sedap yang khas.



1. Sediakan 3 tabung reaksi yang bersih dan kering, lalu ke dalam masing – masing tabung masukkan 10 tetes “olive oil” (minyak zaitun), gliserol, dan sedikit asam palmitat.
2. Ke dalam masing – masing tabung tersebut tambahkan bubuk asam Kalium hydrogen sulfat ke masing-masing tabung reaksi dengan jumlah volume yang sama, lalu dipanaskan pelan – pelan langsung di atas api. Perhatikan bau akrolein yang menusuk hidung. (Jangan dikacaukan antara bau akrolein dengan bau SO_2).

PRAKTIKUM X

ANALISIS BILIRUBIN, UROBILIN DAN UROBILINOGEN

I. Tujuan

- 1.1. Mahasiswa mampu melakukan analisis bilirubin pada urin dengan metode *Harrison*
- 1.2. Mahasiswa mampu melakukan analisis Urobilin pada urin dengan metode *Schlezing*
- 1.3. Mahasiswa mampu melakukan analisis urobilinogen dengan metode *Ehrlich*

II. Tinjauan Pustaka

Bilirubin merupakan produk pemecahan sel darah merah. Pemecahan pertama dimulai pada sistem RES (*reticuloendothelial system*). Di dalam plasma bilirubin diikat oleh albumin yang dikenal sebagai bilirubin indirek atau bilirubin I. Bilirubin yang masuk ke sel hati dalam keadaan bebas, berikatan dengan asam glukoronida dan disebut dengan bilirubin II atau bilirubin terkonjugasi atau bilirubin direk. Bilirubin II yang memasuki jalur empedu akan terkumpul dalam kantong empedu dan akhirnya akan masuk ke dalam usus, sampai di lumen usus, akibat pengaruh flora usus, bilirubin direk teroksidasi menjadi urobilinogen. Urobilin dalam urin merupakan hal yang normal karena setiap hari selalu terjadi penghancuran eritrosit yang telah habis masa pakainya. Pada penghancuran eritrosit yang berlebihan, jumlah urobilin akan meningkat (Panil, 2007).

Pemeriksaan bilirubin dalam urin menggunakan uji Harrison. Prinsip metode Harrison adalah bilirubin dapat mereduksi feri klorida menjadi senyawa yang berwarna hijau. Sebelumnya bilirubin diabsorpsikan pada endapan BaCl_2 dalam urin. Berbeda dengan bilirubin, pemeriksaan Urobilin pada urin dapat menggunakan metode Schlezing, dimana Urobilin ditambah Zinc Acetat dalam alkohol akan menghasilkan fluoresensi berwarna hijau. Berikutnya adalah pemeriksaan urobilinogen menggunakan metode Ehrlich yaitu Urobilinogen yang ditambah dengan paradimethyl aminobenzaldehyde dalam HCl akan menghasilkan warna merah.

III. Metode Kerja

3.1. Alat dan Bahan

a. Uji Bilirubin dengan metode Harrison

1. Tabung reaksi
2. Kertas saring
3. Pipet Pasteur

4. BaCl₂ 10%
5. Reagen Fouchet, dengan komposisi :

Trichloro acetic acid (TCA)	25g
Aquadest	100 ml
Larutan feri klorida	10 ml (10 g FeCl ₃ dalam 100 ml aquadest)

b. Uji Urobilin dengan metode Schlezinger

1. Tabung reaksi
2. Kertas saring
3. Reagen Schlezinger yang terdiri dari :
 - Suspensi jenuh zinc acetat dalam alkohol (Reagen Schlezinger)
 - Ammonia liquidum
 - Tinctura iodii sipirit 1%

c. Uji urobilinogen dengan metode Ehrlich

1. Tabung reaksi
2. Reagen Ehrlich (paradimethyl aminobenzaldehyde 2% dalam HCL 50%)

3.2.Cara Kerja

a. Pemeriksaan Bilirubin dengan metode Harrison

1. Ambil 3 ml urin dan campur dengan larutan BaCl₂ 10% dengan volume yang sama banyak
2. Saring
3. Filtratnya disimpan untuk percobaan urobilin.
4. Residunya yang berada pada kertas saring kemudian ditetesi dengan reagen Fouchet 1-2 tetes dan perhatikan perubahan warna yang terjadi
5. Interpretasi Hasil :
 - Negatif : tidak terjadi perubahan warna atau agak coklat
 - Positif : terbentuk warna hijau yang makin lama makin jelas

b. Pemeriksaan Urobilin dengan metode Schlezinger

1. Ambil filtrat dari reaksi Harrison sebanyak 3 ml.
2. Tambahkan reagen Schlezinger dalam jumlah yang sama
3. Kemudian tetesi dengan 1-2 tetes ammonia
4. Kocok, lalu saring sampai jernih.
5. Filtrat yang diperoleh amati dengan sinar tidak langsung dalam kotak urobilin.
6. Interpretasi : (+) fluorosensi warna hijau

c. Pemeriksaan urobilinogen dengan metode Ehrlich

1. Ambil sebanyak 5 ml urin, masukkan ke dalam sebuah tabung reaksi

2. Tambahkan ke dalamnya 10-12 tetes reagen Ehrlich
3. Kocok, tunggu selama 5 menit
4. Interpretasi Positif (+): terbentuk warna merah

IV. Hasil dan Pembahasan (tuliskan seperti yang ada di video)

4.1. Hasil

a. Hasil Pemeriksaan Bilirubin

No	Kode Sampel	Hasil Pengamatan	Interpretasi

b. Hasil Pemeriksaan Urobilin

No	Kode Sampel	Hasil Pengamatan	Interpretasi

c. Hasil Pemeriksaan Urobilinogen

No	Kode Sampel	Hasil Pengamatan	Interpretasi

V. Kesimpulan

Daftar Pustaka

PRAKTIKUM XI ANALISIS VITAMIN

I. Tujuan

- 1.1. Mahasiswa mampu melakukan uji kelarutan vitamin pada sampel makanan
- 1.2. Mahasiswa mampu melakukan identifikasi vitamin A, B6 dan C pada sampel makanan

II. Tinjauan Pustaka

Vitamin merupakan salah satu penunjang kesehatan tubuh khususnya dalam memperbaiki dan memperbarui sel-sel dalam tubuh. Meski bukan merupakan golongan senyawa primer yang menjadi kebutuhan pokok tubuh, vitamin mempunyai fungsi vital dalam metabolisme yang terjadi pada tubuh. Asupan akan vitamin juga harus tetap dipenuhi secara cukup karena masing-masing vitamin mempunyai fungsi khusus bagi tubuh dan tidak dapat dihasilkan oleh tubuh.

Terdapat 13 jenis vitamin yang dibutuhkan oleh tubuh untuk dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Vitamin tersebut antara lain vitamin A, C, D, E, K, dan B (tiamin, riboflavin, niasin, asam pantotenat, biotin, vitamin B6, vitamin B12, dan folat). Meski memiliki peranan yang sangat penting, tubuh hanya memproduksi vitamin D dan K dalam bentuk provitamin yang tidak aktif. Sumber berbagai vitamin ini dapat berasal dari makanan, seperti buah-buahan, sayuran, dan suplemen makanan.

Secara garis besar, vitamin dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok besar, yaitu vitamin yang larut dalam air dan vitamin yang larut dalam lemak. Hanya terdapat 2 vitamin yang larut dalam air, yaitu B dan C, sedangkan vitamin lainnya, yaitu vitamin A, D, E, dan K bersifat larut dalam lemak (Godam, 2006). Vitamin yang larut dalam lemak akan disimpan di dalam jaringan adiposa (lemak) dan di dalam hati. Vitamin ini kemudian akan dikeluarkan dan diedarkan ke seluruh tubuh saat dibutuhkan. Beberapa jenis vitamin hanya dapat disimpan beberapa hari saja di dalam tubuh, sedangkan jenis vitamin lain dapat bertahan hingga 6 bulan lamanya di dalam tubuh.

Berbeda dengan vitamin yang larut dalam lemak, jenis vitamin larut dalam air hanya dapat disimpan dalam jumlah sedikit dan biasanya akan segera hilang bersama aliran makanan. Saat suatu bahan pangan dicerna oleh tubuh, vitamin yang terlepas akan masuk ke dalam aliran darah dan beredar ke seluruh bagian tubuh. Apabila tidak dibutuhkan, vitamin ini akan segera dibuang tubuh bersama urin.

Dalam praktikum ini, akan dilakukan pengujian vitamin yang larut dan lemak dan vitamin yang larut dalam air. Selain itu akan dilakukan juga identifikasi untuk beberapa vitamin, seperti vitamin A, B6 dan C.

2.2. Vitamin A

Vitamin A adalah vitamin yang larut lemak, atau tidak larut air. Penentuan adanya vitamin A dapat dilakukan dengan pereaksi *Carr-Price* atau pereaksi trikloroasetat (TCA). Jika dengan pereaksi *Carr-Price* memberikan warna biru yang kemudian berubah menjadi warna merah coklat maka zat tersebut positif mengandung vitamin A. Intensitas warna biru sebanding dengan banyaknya vitamin A yang dikandung oleh suatu bahan sehingga dapat dijadikan dasar penentuan kuantitatif vitamin A secara kolometri.

2.3. Vitamin B-6

Vitamin B6 adalah vitamin yang larut air. Di alam Vitamin B6 terdiri atas tiga senyawa yaitu piridoksin, piridoksal dan piridoksamin. Ketiga bentuk Vitamin B6 terdapat dalam hewan maupun tumbuhan terutama beras dan gandum. Piridoksin stabil terhadap pemanasan, alkali, dan asam. Piridoksal dan piridoksamin mudah rusak oleh pemanasan, udara dan cahaya. Dari ketiga bentuk Vitamin B6 hanya piridoksin yang paling tahan terhadap pengaruh pengolahan dan penyimpanan.

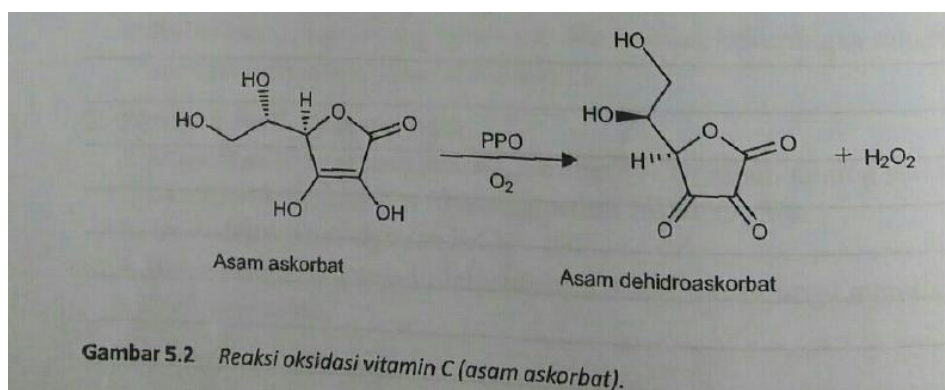
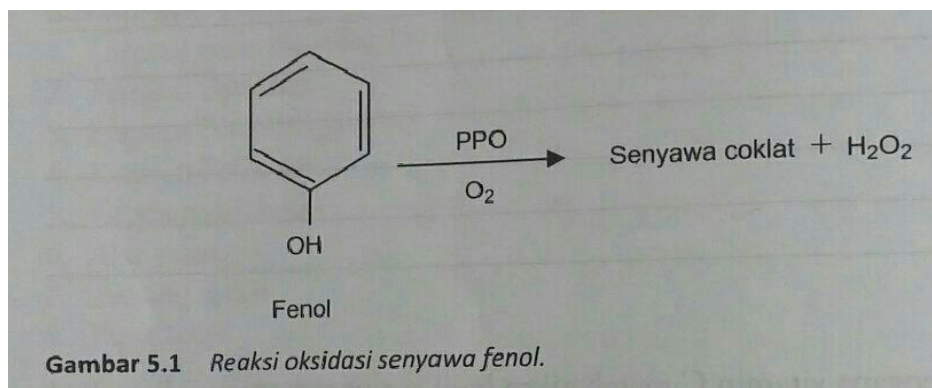
2.4. Vitamin C

Vitamin C di alam terdapat dalam dua bentuk yaitu bentuk teroksidasi (asam askorbat) dan tereduksi (asam dehidroaskorbat). Keduanya memiliki keaktifan sebagai Vitamin C. Vitamin C banyak ditemukan di sayuran yang berwarna hijau dan buah – buahan. Vitamin C larut dalam air dan agak stabil dalam larutan asam, tetapi mudah dioksidasi terutama bila dipanaskan. Proses oksidasi akan dipercepat dengan adanya tembaga, oksigen dan alkali.

2.5. Identifikasi Efek Antioksidan Vitamin C

Buah-buahan seperti pisang, salak, pir atau apel dan sayuran seperti kentang dapat mengalami proses pencokelatan (*browning*). Hal ini disebabkan oleh proses oksidasi senyawa fenolik (fenol) dalam buah atau sayuran oleh enzim polifenol oksidase (PPO) dengan oksigen di udara yang menghasilkan kuinol kemudian menjadi kuinon, dan selanjutnya mengalami kondensasi membentuk senyawa kompleks berwarna coklat dan H_2O_2 .

Penambahan vitamin C (asam Askorbat) dapat menghambat oksidasi fenol oleh PPO karena vitamin C akan dioksidasi terlebih dahulu menjadi asam dehidroaskorbat dan H_2O_2



Tinjauan pustaka meliputi :

- Pengertian vitamin
- Klasifikasi vitamin
 - Vitamin larut air
 - Vitamin larut lemak

III. Metode Kerja

3.1. Alat dan Bahan

a. Alat dan Bahan uji Kelarutan vitamin (dilakukan saat praktikum *on-site*)

1. Alat

- Tabung reaksi
- Botol Semprot
- Stumfer dan mortar
- Neraca Analitik
- Gelas Ukur
- Pengaduk

3. Bahan

- Vitamin yang dijual bebas
- Aquadest
- Eter

b. Alat dan Bahan Uji Identifikasi Vitamin A

1. Alat

- Pipet Tetes
- Tabung Reaksi
- Gelas Beker

2. Bahan

- Vitamin A yang dijual bebas
- Minyak Ikan
- Cabe Rawit dan Pepaya
- Asam Asetat Anhidrat
- SbCl_3
- Asam Trikloroasetat (TCA)
- Kloroform

c. Alat dan Bahan Uji Identifikasi Vitamin B6

1. Alat

- Pipet Tetes
- Tabung Reaksi
- Gelas Beker

2. Bahan

- Vitamin B6 yang dijual bebas
- Beras Merah
- Larutan Piridoksin –HCL 1%
- NaOH 3 N
- CuSO_4 2%
- FeCl_3 1%

d. Alat dan Bahan Uji Identifikasi Vitamin C (mini lab)

1. Alat

- Wadah
- Pipet tetes
- Blender
- Seperangkat gelas (yang tersedia di rumah)
- Sendok
- Pisau
- Telenan

2. Bahan

- Buah dan sayur (masing-masing 5 jenis)
- Vitamin yang dijual bebas (dalam bentuk sediaan)
- Larutan Betadine (pengganti iodine)

e. Identifikasi Efek Antioksidan Vitamin C (dikerjakan dalam praktikum onsite)

Alat dan Bahan

- Larutan asam askorbat
- Larutan Fenol
- Ekstrak Kentang
- Ekstrak Buah Apel
- Tabung Reaksi
- Pipet Ukur
- Pipet Tetes

3.2. Cara Kerja

a. Uji Kelarutan Vitamin

1. Sebanyak 1 mg sampel vitamin diisikan pada tabung A dan B.
2. Tambahkan 2 mL aquades dan eter pada masing – masing tabung A dan B.
3. Kerjakan langkah 1 dan 2 pada berbagai macam sampel vitamin.
4. Amati kelarutan pada tabung – tabung tersebut

b. Uji Identifikasi Vitamin A

1) *Pereaksi Carr-Price*

- Masukkan 10 tetes minyak ikan ke dalam dalam tabung reaksi
- Tambahkan dengan 15 tetes kloroform, kemudian dicampur dengan baik.
- Tambahkan dengan empat tetes asam asetat anhidrat dan sepucuk SbCl_3 kristal.
- Kocok hingga tercampur baik
- Amati perubahan warna apa yang terjadi. Terbentuknya warna biru yang tidak mantap akan berubah menjadi merah coklat yang berarti positif mengandung vitamin A.
- Lakukan hal yang sama pada sampel lainnya.

2) *Pereaksi TCA*

- Masukkan 5 tetes minyak ikan ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 1 ml pereaksi asam trikloroasetat dalam kloroform
- Kocok hingga tercampur baik.

- Amati warna yang terjadi. Terbentuknya warna biru kehijauan menandakan hasil positif vitamin A

c. Uji Identifikasi Vitamin B₆

1) Pereaksi Tembaga Sulfat

- Masukkan 5 tetes larutan yang diuji ke dalam tabung reaksi.
- Tambahkan 2 tetes larutan CuSO₄ 2% dan 10 tetes NaOH 3 N.
- Amati perubahan yang terjadi (hasil positif ditunjukkan dengan warna biru ungu).

2) Pereaksi Besi Klorida

- Masukkan 5 tetes larutan yang akan diuji ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1 %
- Amati perubahan warna yang terjadi. Terbentuknya warna jingga sampai merah tua menunjukkan vitamin B₆

d. Uji Identifikasi Vitamin C (mini lab)

- Cuci bersih buah dan sayur
- Potong tipis dan haluskan menggunakan blender
- Siapkan wadah dan masukkan hasil blendernya ke dalam wadah
- Buatlah larutan betadine dengan melarutkan air dengan betadine konsentrat
- Bagi sampel vitamin C sediaan : untuk tablet 20 butir tablet vit C 50 mg digerus dan dilarutkan dalam air 10 ml air
- Masing-masing sampel masukkan ke dalam gelas dan beri tanda
- Masukkan tetes per tetets larutan betadine ke dalam sampel
- Hitung berapa tetes betadine yang dibutuhkan untuk menjernihkan larutan betadine tersebut
- Buatlah dokumentasi video mulai dari persiapan sampai hasil

e. Identifikasi Efek Antioksidan Vitamin C

- Siapkan 4 tabung reaksi yang bersih dan kering
- Masukkan 3 ml ekstrak kentang dan 5 tetes larutan fenol 1 % ke dalam tabung 1
- Masukkan 3 ml ekstrak kentang dan 5 tetes larutan fenol 1 %, serta 10 tetes larutan asam askorbat ke dalam tabung 2
- Masukkan 3 ml ekstrak apel dan 5 tetes larutan fenol 1 % ke dalam tabung 3
- Masukkan 3 ml ekstrak apel dan 5 tetes larutan fenol 1 %, serta 10 tetes larutan asam askorbat ke dalam tabung 4
- Kocok semua tabung, kemudian biarkan beberapa saat.
- Amati perubahan warna yang terjadi

IV. Hasil dan Pembahasan (sesuaikan dg di video)

4.1.Hasil

a. Uji Kelarutan Vitamin

Vitamin	Aquades			Eter		
	Kelarutan	Endapan	Warna	kelarutan	Endapan	Warna
A						
B						
C						
D						
E						
K						

b. Uji Identifikasi Vitamin A

Sampel	Warna Akhir	+ / -	Foto
Vitamin A IPI			
Minyak Ikan			
Pepaya			
Cabe Rawit			
Jeruk			

c. Uji Identifikasi Vitamin B6

Sampel	Warna Akhir	+ / -	Foto
Vitamin B6 IPI			
Beras Merah			

d. Uji Identifikasi Vitamin C

Sampel	Hasil setelah ditambah Peraksi		Jumlah tetes larutan betadine	+/-
	Warna	Endapan		

e. Identifikasi Efek Antioksidan Vitamin C

Sampel	Warna Akhir	Foto
Tabung I		
Tabung II		
Tabung III		
Tabung IV		