

BIOKIMIA

Kode Mata Kuliah : **IKD 215**

Disusun Oleh

Ariyo Prabowo Hidayanto, M.Si.

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
FAKULTAS ILMU-ILMU KESEHATAN**

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

JAKARTA 2017

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga buku **Modul Praktikum Biokimia** ini dapat hadir ke hadapan pembaca. Modul ini disusun sebagai salah satu pedoman pelaksanaan praktikum yang berisi teori dan konsep disertai dengan langkah langkah percobaan dari suatu materi praktikum.

Modul ini diharapkan praktis dan representatif untuk pedoman belajar dan praktikum biokimia. Perbaikan secara terus menerus dilakukan demi kesempurnaan modul ini untuk penyesuaian dengan silabus mata kuliah Biokimia.

Semoga modul ini dapat memberikan manfaat bagi mahasiswa, khususnya mahasiswa Bioteknologi, Universitas Esa Unggul.

Jakarta, Agustus 2017

Penyusun

Ariyo Prabowo Hidayanto, M.Si.

Dosen Mata Kuliah Biokimia

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
TATA TERTIB PRAKTIKUM	iv
Percobaan 1 Uji kualitatif karbohidrat	1
Percobaan 2 Uji lipid.....	6
Percobaan 3 Reaksi penyabunan	10
Percobaan 4 Uji kualitatif protein	13
Percobaan 5 Enzim.....	17
DAFTAR PUSTAKA	19

TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Mahasiswa yang boleh mengikuti praktikum biokimia adalah mahasiswa yang telah mengambil atau sedang menempuh mata kuliah biokimia serta telah mengisi rencana studi untuk mata kuliah praktikum biokimia
2. Setiap peserta harus hadir tepat waktu pada waktu yang telah ditentukan. Apabila peserta terlambat lebih dari 15 menit dari waktu yang ditentukan, maka tidak diperkenankan mengikuti praktikum
3. Selama mengikuti praktikum, peserta harus memakai jas praktikum serta diwajibkan memakai sepatu tertutup (dilarang mengenakan sandal atau sepatu sandal)
4. Setiap peserta wajib membuat laporan akhir praktikum yang dibuat sesuai dengan format yang sudah ditentukan dengan melampirkan data hasil praktikum. Pengumpulan laporan resmi praktikum maksimal 1 minggu setelah kegiatan praktikum yang bersangkutan
5. Setiap peserta harus memeriksa alat praktikum sebelum dan sesudah praktikum kemudian mengembalikan alat yang telah dipakai dalam keadaan bersih dan kering. Botol bahan kimia yang telah selesai digunakan harus ditutup rapat dan dikembalikan ke tempat semula
6. Peserta praktikum yang memecahkan alat kaca wajib untuk mengganti
7. Peserta praktikum dilarang membawa makanan / minuman ke dalam laboratorium
8. Setiap peserta harus menjaga kebersihan laboratorium, bekerja dengan tertib, tenang dan teratur. Selama praktikum, peserta harus bersikap sopan
9. Setiap peserta harus melaksanakan semua mata praktikum dan mematuhi budaya Kesehatan dan Keselamatan Kerja (K3), seperti memakai Alat Pelindung Diri (jas praktikum, sepatu, sarung tangan, masker, gogle) dan membuang limbah praktikum sesuai dengan kategorinya pada wadah tertentu yang sudah disediakan
10. Apabila peserta praktikum melanggar hal yang telah diatur pada butir diatas, maka peserta akan dikenakan sanksi berupa teguran lisan sebanyak dua kali. Jika masih melanggar maka yang bersangkutan akan dikeluarkan dari laboratorium dan tidak diperkenankan melanjutkan praktikum pada hari itu
11. Hal yang belum disebutkan di atas dan diperlukan untuk kelancaran praktikum akan diatur kemudian

Jakarta, Mei 2017

Disusun oleh
Ariyo Prabowo Hidayanto, M.Si.
Dosen Mata Kuliah Biokimia

PERCOBAAN 1

UJI KUALITATIF KARBOHIDRAT

A. Tujuan Percobaan

1. Mampu melakukan uji kualitatif karbohidrat melalui uji Iodin, uji Benedict, uji Molisch, uji Barfoed, uji Seliwanoff, serta uji Osazon
2. Mampu menerapkan metode eksperimen untuk mendeteksi adanya kandungan karbohidrat
3. Mampu menganalisis secara kritis perubahan fisik yang terjadi jika suatu sampel mengandung karbohidrat

B. Alat dan Bahan

- | | |
|-------------------------|--|
| 1. Tabung reaksi | 14. Larutan Iodin 0,1 N |
| 2. Labu erlenmeyer | 15. Larutan Benedict yang terdiri dari $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Natrium Sitrat serta Akuades |
| 3. Pipet tetes | 16. Reagen Molisch (5% α -naftol didalam etanol) |
| 4. Rak tabung | 17. Reagen Barfoed |
| 5. Penjepit tabung | 18. Reagen Seliwanoff |
| 6. Beaker glass | 19. Larutan Asam Sulfat pekat |
| 7. Pembakar spritus | 20. Larutan Asam Asetat |
| 8. Mikroskop | 21. Fenil Hidrasin |
| 9. Larutan Amilum | 22. Akuades |
| 10. Larutan Dekstrin | |
| 11. Larutan Sukrosa | |
| 12. Larutan Laktosa | |
| 13. Larutan Karbohidrat | |

C. Teori Dasar

Pada dasarnya senyawa karbohidrat tersusun atas unsur C, H, dan O. Jumlah atom hidrogen dan oksigen mengikuti perbandingan 2:1. Karbohidrat dapat dibedakan berdasarkan penyusunnya menjadi: monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida.

Monosakarida ialah karbohidrat yang paling sederhana yang tidak dapat dihidrolisis menjadi karbohidrat lain. Sebagian besar monosakarida dikenal sebagai heksosa, karena terdiri atas 6-rantai atau cincin karbon. Ada tiga jenis heksosa yang penting yaitu

glukosa, fruktosa, dan galaktosa. Ketiga macam monosakarida ini mengandung jenis dan jumlah atom yang sama, yaitu 6 atom karbon, 12 atom hidrogen, dan 6 atom oksigen. Perbedaannya hanya terletak pada cara penyusunan atom-atom hidrogen dan oksigen di sekitar atom-atom karbon.

Sedangkan oligosakarida adalah karbohidrat yang terdiri dari 3-10 unit monosakarida. Contohnya ialah rafinosa trisakarida (Gal-Glc-Fuc) dan stasiosa tetrasakarida (Gal-Gal-Glc-Fuc). Keduanya terdapat pada biji-bijian. Karena tidak dapat dicerna pada usus halus, keduanya menyediakan substrat untuk fermentasi bakteri di usus besar dan khususnya pembentukan gas (gas lambung).

Terakhir adalah jenis polisakarida yaitu karbohidrat yang memiliki lebih dari sepuluh satuan monosakarida serta dapat berantai lurus atau bercabang. Kebanyakan dari gula tersebut mengandung beberapa ratus atau bahkan ribuan gula sederhana. Polisakarida dirombak dalam saluran pencernaan menjadi karbohidrat yang sederhana dengan kelengkapan tingkatan yang beragam.

Polisakarida dibuat oleh tumbuhan dari karbondioksida dan air (karbohidrat nabati) serta sedikit dari hewan (karbohidrat hewani). Di dalam tumbuhan, karbohidrat mempunyai dua fungsi utama yaitu sebagai penyimpan energi serta sebagai penguat struktur tumbuhan tersebut. Sumber energi tersebut terdapat dalam bentuk zat tepung (amilum) dan zat gula (mono dan disakarida).

Begitu banyak manfaat karbohidrat, namun konsumsi karbohidrat tidak boleh melebihi kadar yang dibutuhkan oleh tubuh. Bila jumlah karbohidrat meningkat terus menerus, maka akan terjadi pembentukan lemak sebagai akibat penyimpanan pada jaringan adiposa di bawah kulit. Jika kekurangan asupan karbohidrat, maka dapat menimbulkan kehilangan energi, mudah lelah, terjadi pemecahan protein yang berlebihan dan akan mengalami gangguan keseimbangan air sehingga mengganggu pencernaan. Sebaliknya jika seseorang kelebihan mengkonsumsi karbohidrat akan menyebabkan berat badan meningkat dan terjadi obesitas serta penyakit Diabetes mellitus.

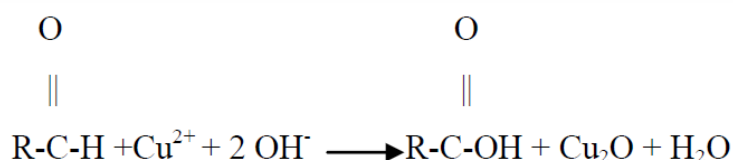
Secara umum, kandungan karbohidrat dalam makanan dapat diidentifikasi secara kualitatif maupun kuantitatif. Uji kualitatif karbohidrat yang didasarkan pada pembentukan warna dapat dilakukan dengan beberapa uji sebagai berikut :

1. Uji Iodin : Uji ini berguna untuk menentukan adanya gugus polisakarida.

Dimana jika suatu senyawa mengandung polisakarida dan ditambah dengan iodium, maka akan membentuk kompleks adsorpsi berwarna yang spesifik.

Amilum atau pati akan menghasilkan warna biru, dekstrin menghasilkan warna merah anggur, sedangkan glikogen dan sebagian pati yang terhidrolisis akan membentuk warna merah

2. Uji Benedict : Uji ini akan menghasilkan nilai positif untuk senyawa yang mengandung gula pereduksi atau gula inversi seperti glukosa dan fruktosa. Caranya adalah dengan menambahkan gula reduksi dengan campuran CuSO_4 (tembaga sulfat), natrium sitrat (NaSO_3) dan natrium karbonat (Na_2CO_3). Jika dipanaskan, maka akan terbentuk endapan kupro oksida (Cu_2O) yang berwarna merah coklat. Uji ini terjadi dalam suasana basa karena pada suasana ini gula dapat tereduksi. Natrium sitrat berfungsi sebagai senyawa kelat (pengikat) Cu dengan membentuk kompleks Cu-sitrat. Natrium karbonat berfungsi untuk menciptakan suasana basa dengan bentuk reaksi sebagai berikut :



3. Uji Molisch : Uji ini bertujuan untuk mendeteksi adanya gugus aldosa maupun ketosa. Caranya adalah dengan menambahkan karbohidrat dengan H_2SO_4 melalui dinding-dinding tabung. Asam sulfat itu kemudian akan menyerap air dan membentuk furfural yang selanjutnya dikopling dengan α -naphthol membentuk senyawa gabungan berwarna ungu. Jika yang dideteksi senyawa pentosa, maka akan terbentuk furfural, sementara jika yang dideteksi senyawa aldosa, maka akan terbentuk hidroksimetilfurfural
4. Uji Barfoed : Uji barfoed atau tes barfoed digunakan untuk membedakan antara monosakarida dan disakarida. Monosakarida akan teroksidasi oleh ion Cu^{2+} membentuk gugus karboksilat dan endapan tembaga (I) oksida yang berwarna merah bata serta mengendap. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya endapan berwarna merah. Reaksi ini terjadi dalam suasana asam (sekitar pH 4,6). Oleh karena itu, digunakan asam asetat dalam pembuatan reagen barfoed. Hasil negatif ditandai dengan tidak munculnya endapan merah dan larutan akan tetap berwarna biru
5. Uji Seliwanoff : Uji ini bernilai positif terhadap monosakarida yang memiliki gugus ketosa, misal fruktosa. Akan tetapi, uji ini menghasilkan

nilai negatif terhadap aldosa. Pereaksinya dapat dibuat dengan mencampurkan resorsinol dengan HCl pekat kemudian diencerkan dengan akuades. Uji ini dilakukan dengan menambahkan larutan sampel ke dalam pereaksi lalu dipanaskan dalam air mendidih. Adanya warna merah menunjukkan bahan makanan itu mengandung gugus ketosa

6. Uji Osazon : merupakan uji karbohidrat yang bertujuan untuk membedakan bermacam-macam karbohidrat dari bentuk struktur kristalnya. Secara umum, semua karbohidrat yang mempunyai gugus aldehida atau keton bebas akan membentuk hidrazon atau osazon bila dipanaskan dengan fenilhidrazin berlebih. Osazon yang terjadi mempunyai bentuk kristal dan titik lebur yang spesifik. Osazon dari disakarida akan larut dalam air mendidih dan akan terbentuk kembali bila didinginkan. Namun, sukrosa tidak membentuk osazon karena gugus aldehida atau keton yang terikat pada monomernya sudah tidak bebas. Sebaliknya, osazon dari monosakarida tidak larut dalam air mendidih

D. Prosedur Percobaan

Prosedur percobaan dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Uji Iodin : masukkan 1 mL larutan uji (berupa amilum, dekstrin, sukrosa, dan laktosa) ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya tambahkan 2 tetes dengan pipet tetes larutan iodin. Selanjutnya amati serta catat perubahan warna yang terjadi
2. Uji Benedict : dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, masukkan 1 ml larutan uji lalu campur dengan 2 ml larutan benedict dan kocok. Didihkan selama 2 menit sampai 5 menit diatas pembakar spiritus. Amati dan catat perubahan warna yang terjadi
3. Uji Molisch : dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, masukkan 2 ml larutan karbohidrat dan 3 tetes reagen Molisch. Lalu tambah secara perlahan-lahan dan hati-hati larutan asam sulfat pekat hingga terbentuk cincin coklat. Ulangi percobaan di atas dengan menggunakan 2 ml air sebagai pengganti 2 ml larutan karbohidrat (sebagai blanko) dan amati serta catat yang terjadi
4. Uji Barfoed : tambahkan 2 mL reagen barfoed ke dalam 2 mL larutan yang diperiksa. Panaskan selama 3 menit di dalam air mendidih dan dinginkan di

bawah air yang mengalir. Amati serta catat perubahan warna yang terjadi di dasar tabung

5. Uji Seliwanoff : masukkan 3 mL reagen Seliwanoff ke dalam 1 mL larutan yang akan diuji. Didihkan selama 30 detik, kemudian dinginkan. Amati dan catat perubahan yang terjadi
6. Uji Osazon : masukkan 5 mL larutan uji ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 10 tetes asam asetat dan 3 tetes fenil hidrasin. Panaskan selama 10 menit di dalam air mendidih. Pindahkan setengah dari tabung ke tabung reaksi yang lain. Panaskan dengan api langsung hingga terbentuk endapan kristal. Amati dan catat perubahan yang terjadi menggunakan mikroskop

E. Tugas :

1. Apa perbedaan monosakarida dengan polisakarida?
2. Apa kegunaan penambahan larutan asam sulfat pekat pada uji Molisch
3. Bagaimana hasil pengamatan saudara? Jelaskan!

PERCOBAAN 2

UJI LIPID

A. Tujuan Percobaan

1. Mampu mendeteksi keberadaan lipid dalam suatu bahan pangan
2. Mampu menguji daya larut suatu lipid
3. Mampu menguji sifat ketidakjenuhan lipid
4. Mampu menerapkan metode eksperimen untuk mendeteksi adanya kandungan lipid
5. Mampu menganalisis secara kritis perubahan fisik yang terjadi pada pengujian lipid

B. Alat dan Bahan

- | | |
|----------------------------|----------------------|
| 1. Tabung reaksi | 10. Minyak goreng |
| 2. Rak tabung | 11. Reagen sudan |
| 3. Pipet ukur | 12. Alkohol |
| 4. Kertas cakram | 13. Bensin |
| 5. Mentega | 14. Eter |
| 6. Beberapa macam jus buah | 15. Larutan NaOH 1 N |
| 7. Minyak zaitun | 16. Kloroform |
| 8. Minyak kelapa | 17. Larutan Bromin |
| 9. Mentega dan margarine | 18. Akuades |

C. Teori Dasar

Lipid adalah golongan senyawa organik kompleks yang menyusun jaringan tumbuhan dan hewan. Lipid merupakan golongan senyawa organik kedua yang menjadi sumber makanan, terkandung dalam kira-kira 40% dari makanan yang dimakan setiap hari. Lipid mempunyai sifat umum sebagai berikut:

- tidak larut dalam air
- larut dalam pelarut organik seperti benzena, eter, aseton, kloroform, dan karbontetraklorida
- mengandung unsur-unsur karbon, hidrogen, dan oksigen, kadang-kadang juga mengandung nitrogen dan fosfor
- bila dihidrolisis akan menghasilkan asam lemak
- berperan pada metabolisme tumbuhan dan hewan

Selain itu, lipid berfungsi sebagai :

1. Penyimpan energi
2. Transportasi metabolik sumber energi
3. Sumber zat untuk sintesis hormon, kelenjar empedu serta menunjang proses pemberian sinyal transducing
4. Struktur dasar atau komponen utama membran semua jenis sel
5. Pelindung organ tubuh dan alat angkut vitamin larut lemak
6. Pembentukan sel dan sumber asam lemak esensial

Untuk menguji sifat dan komposisi lipid, ada beberapa uji yang dapat dilakukan. Beberapa uji kualitatif pada lipid dibedakan menjadi uji kandungan lipid, uji kelarutan lipid, uji ketidakjenuhan lipid.

A. Uji deteksi kandungan lemak

Untuk menguji bahwa makanan tersebut mengandung lemak atau tidak membutuhkan bantuan kertas minyak atau kertas cakram serta bantuan larutan Sudan. Pada saat bahan makanan ditempelkan pada kertas minyak, jika ia mengandung lemak, maka ia akan berwarna transparan atau tembus pandang. Larutan sudan yang digunakan berfungsi sebagai indikator dimana ia dapat menunjukkan bahwa suatu makanan mengandung lemak atau tidak (secara kualitatif). Lapisan berwarna merah pada permukaan larutan minyak akan menunjukkan adanya kandungan lemak dalam bahan makanan.

B. Uji kelarutan lipid

Uji ini dilakukan untuk melihat sifat lipid, yaitu molekul non-polar yang hanya dapat larut dalam pelarut non-polar (kloroform, eter, metilen, alkohol) sehingga bila dilarutkan dalam pelarut polar lipid tidak akan homogen dengan larutan tersebut.

Derajat kelarutan merupakan kemampuan suatu zat terlarut untuk dapat larut dalam sejumlah pelarut pada suhu tertentu. Tingkat polaritas berkaitan dengan polaritas dari pelarut tersebut. Senyawa yang memiliki kepolaran yang sama akan lebih mudah tertarik / terlarut dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama. Hal ini sesuai dengan prinsip uji kelarutan yaitu berdasarkan pada kaidah “*like dissolves like*” yang mana senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan sebaliknya. Kelarutan lipid baik lemak maupun minyak dapat diuji dengan berbagai jenis pelarut untuk mengetahui derajat kelarutannya.

C. Uji ketidakjenuhan lipid

Asam-asam lemak yang ada di dalam lemak hewan selalu jenuh, sedangkan asam-asam lemak di dalam minyak tumbuhan mengandung satu atau beberapa ikatan rangkap. Uji ini dapat dilakukan untuk identifikasi larutan yang tergolong ke dalam asam lemak jenuh atau tidak jenuh. Bila larutan kloroform yang ditambah asam lemak dicampur dengan unsur halogen, ia akan mengubah warna larutan unsur halogen (bromin atau iodin) dimana kondisi tersebut sangat ideal jika dijadikan indikator adanya ikatan rangkap dalam suatu larutan asam lemak.

Ikatan rangkap menunjukkan bahwa senyawa itu memiliki lemak yang tidak jenuh, sebaliknya jika suatu larutan tak mengalami perubahan warna, maka ia tidak memiliki ikatan rangkap yang menunjukkan bahwa lemak yang dikandungnya merupakan lemak jenuh. Pada uji sifat ini, reaksi yang terjadi adalah reaksi adisi oleh unsur halogen (bromin atau iodin). Spesi halogen akan memutuskan ikatan rangkap yang terdapat pada molekul zat, kemudian spesi tersebut akan menggantikan posisi dari ikatan rangkap tersebut melalui reaksi adisi sehingga jumlah ikatan rangkap dalam molekul zat akan berkurang atau menjadi tidak ada sama sekali (jika semuanya teradisi oleh unsur halogen).

D. Prosedur Percobaan

1. Uji deteksi lipid

Untuk uji deteksi lipid, langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Siapkan kertas cakram dan tetesi masing-masing kertas cakram dengan bahan bahan uji lalu biarkan sampai mengering
2. Tetesi kertas cakram yang sudah mengering tersebut dengan 2 tetes reagen sudan dan diamkan selama 3 menit
3. Amati dan catat yang terjadi

2. Uji kelarutan lipid

Untuk menguji kelarutan lipid, langkah yang dilakukan adalah :

1. Siapkan 5 buah tabung reaksi yang bersih dan kering
2. Tambahkan pada masing-masing tabung reaksi 1 ml minyak goreng, kemudian campurkan dengan bahan bahan :
 - Tabung I : ditambah 1 ml air
 - Tabung II : ditambah 1 ml bensin
 - Tabung III : ditambah 1 ml alkohol 96%

- Tabung IV : ditambah 1 ml eter
 - Tabung V : ditambah 1 ml NaOH 1N
3. Aduk bahan-bahan sampai homogen
 4. Diamkan beberapa menit, amati serta catat perubahan yang terjadi
 5. Lakukan untuk sampel lainnya

3. Uji ketidakjenuhan lipid

Untuk menguji ketidakjenuhan lipid, langkah yang dilakukan :

1. Masukkan bahan uji ke dalam tabung reaksi
2. Larutkan dengan 1 mL kloroform
3. Tambahkan sedikit demi sedikit larutan bromine hingga terbentuk warna kuning
4. Catat berapa tetes yang diperlukan larutan Bromine tadi
5. Lakukan cara yang sama untuk bahan bahan uji lainnya

E. Tugas :

1. Sebutkan contoh kategori yang termasuk ke dalam golongan pelarut polar dan pelarut non polar !
2. Apa perbedaan lemak jenuh dengan lemak tak jenuh ?
3. Sebutkan bahan makanan yang memiliki lemak jenuh dan tidak jenuh ?

PERCOBAAN 3

REAKSI PENYABUNAN

A. Tujuan Percobaan

1. Menguji reaksi penyabunan
2. Mampu menerapkan metode eksperimen untuk membuat sabun

B. Alat dan Bahan

1. Beaker glass
2. Waterbath
3. Termometer
4. Labu erlenmeyer
5. Larutan NaOH 1N
6. Larutan HCl 1N
7. Etanol 96 %
8. Minyak goreng kelapa sawit
9. Bensin

C. Teori Dasar

Dalam pembuatan sabun, sering digunakan bermacam-macam lemak ataupun minyak sebagai bahan baku. Jenis-jenis minyak ataupun lemak yang digunakan dalam pembuatan sabun ini akan mempengaruhi sifat-sifat sabun tersebut, baik dari segi kekerasan, banyaknya busa yang dihasilkan, maupun pengaruhnya bagi kulit. Untuk itu dalam pembuatan sabun perlu dipilih jenis minyak atau lemak yang sesuai dengan tujuan penggunaan sabun itu sendiri.

Sabun adalah surfaktan yang digunakan dengan air dengan fungsi untuk mencuci dan membersihkan. Berdasarkan bentuknya, sabun yang dikenal pada saat ini ada bermacam-macam diantaranya berupa sabun cair (liquid soap), sabun padat opaque (sabun padat biasa), dan juga sabun padat transparan. Di pasaran, sabun padat lebih sering digunakan oleh masyarakat pada umumnya, selain harganya lebih ekonomis dibandingkan dengan sabun mandi jenis lain, kandungan gliserinnya pun tidak banyak hilang. Kadar gliserin pada sabun umumnya berkisar antara 4-20 %. Biasanya sabun yang beredar dipasaran kandungan gliserinnya telah banyak diambil untuk

dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan biodiesel, bahan kosmetik, obat-obatan, dan pasta gigi. Gliserin atau gliserol ($C_3H_5(OH)_3$) merupakan hasil samping reaksi saponifikasi yaitu reaksi pembentukan sabun.

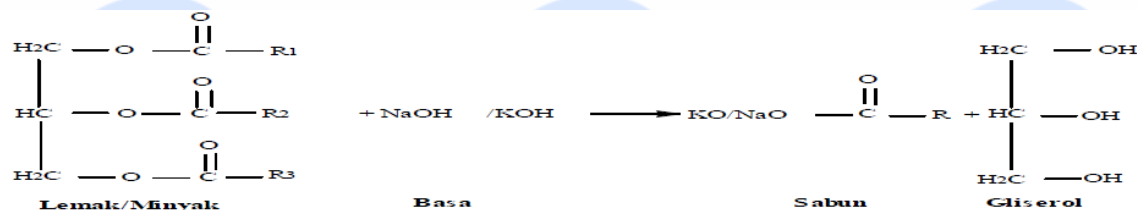
Sabun berfungsi untuk mengemulsi kotoran-kotoran berupa minyak ataupun zat pengotor lainnya. Sabun dibuat melalui proses saponifikasi lemak atau minyak menggunakan larutan alkali dengan produk samping berupa gliserol. Lemak atau minyak yang digunakan dapat berupa lemak hewani, minyak nabati, lilin, ataupun minyak ikan laut.

Sabun dengan jenis dan bentuk yang bervariasi dapat diperoleh dengan mudah di pasaran seperti sabun mandi, sabun cuci baik untuk pakaian maupun untuk perkakas rumah tangga, hingga sabun yang digunakan dalam industri. Semua minyak atau lemak pada dasarnya dapat digunakan untuk membuat sabun. Sifat-sifat sabun yang dihasilkan, ditentukan oleh jumlah dan komposisi dari komponen asam lemak yang digunakan.

Komposisi asam lemak yang sesuai dalam pembuatan sabun dibatasi panjang rantai dan tingkat kejenuhan. Pada umumnya, panjang rantai yang kurang dari 12 atom karbon dihindari penggunaannya karena dapat membuat iritasi pada kulit, sebaliknya panjang rantai yang lebih dari 18 atom karbon membentuk sabun yang sukar larut dan sulit menimbulkan busa. Jika bagian asam lemak tak jenuh lebih besar, maka akan menghasilkan sabun yang mudah teroksidasi bila terkena udara.

Alkali yang digunakan untuk proses penyabunan adalah kaustik ($NaOH$) dan soda kalium (KOH). Soda kaustik digunakan untuk membuat sabun keras sedangkan soda kalium untuk membuat sabun lunak sampai cair seperti sampo. Soda Q yang mengandung senyawa K_2CO_3 , Na_2CO_3 dan $NaOH$ dapat dimanfaatkan sebagai sumber alkali. Oleh karena kadar K_2CO_3 soda Q cukup tinggi sehingga soda Q potensial untuk digunakan membuat sabun cair.

Proses pembentukan sabun dikenal sebagai reaksi penyabunan atau saponifikasi, yaitu reaksi antara lemak / gliserida dengan basa seperti berikut:



Mula-mula reaksi penyabunan berjalan lambat karena minyak dan larutan alkali merupakan larutan yang tidak saling larut. Setelah terbentuk sabun maka kecepatan reaksi akan meningkat, sehingga reaksi penyabunan bersifat sebagai reaksi autokatalitik, di mana pada akhirnya kecepatan reaksi akan menurun lagi karena jumlah minyak yang sudah berkurang.

Reaksi penyabunan merupakan reaksi eksotermis sehingga harus diperhatikan pada saat penambahan minyak dan alkali agar tidak terjadi panas yang berlebihan. Pada proses penyabunan, penambahan larutan alkali (KOH atau NaOH) dilakukan sedikit demi sedikit sambil diaduk dan dipanasi untuk menghasilkan sabun cair. Untuk membuat proses yang lebih sempurna dan merata maka pengadukan harus lebih baik.

D. Prosedur Percobaan

Prosedur percobaan dilakukan dengan langkah kerja sebagai berikut :

1. Sebanyak 5 gram minyak goreng kelapa sawit dimasukkan ke dalam beaker glass lalu ditambahkan larutan NaOH 1 N sedikit demi sedikit sambil dipanaskan pada suhu 70 °C oleh 1,71 gr NaOH (yang terkandung di dalam 42 ml larutan NaOH sebanyak 1N) dalam waterbath. Pemanasan ini dilakukan sampai terbentuk sabun. Lalu ke dalam larutan sabun yang telah terbentuk tadi, tambahkan larutan HCl 1N hingga terjadi perubahan. Amati dan catat apa yang terjadi
2. Dalam campuran tadi, tambahkan juga bensin dan etanol 96 %. Amati kembali dan catat yang terjadi

E. Tugas :

1. Apa fungsi larutan etanol 96 % ?
2. Apa perbedaan produk sabun setelah ditambahkan oleh NaOH dengan ditambahkan oleh KOH ?

PERCOBAAN 4

UJI KUALITATIF PROTEIN

A. Tujuan Percobaan

1. Mampu melakukan uji kualitatif protein melalui uji Biuret, uji Xantoproteat, uji Sulfur, uji Ninhidrin, dan uji Neuman
2. Mampu menerapkan metode eksperimen untuk mendeteksi adanya kandungan protein
3. Mampu menganalisis secara kritis perubahan fisik yang terjadi jika suatu sampel mengandung protein

B. Alat dan Bahan

1. Tabung reaksi
2. Rak tabung
3. Penjepit tabung
4. Pipet tetes
5. Micropipet
6. Pembakar spiritus
7. Kaca arloji
8. Mortar
9. Beberapa bahan pangan uji
10. Larutan NaOH 10%
11. Larutan CuSO₄
12. Larutan NaOH 40%
13. Larutan Pb asetat
14. Larutan ninhidrin
15. Larutan HNO₃ pekat
16. Larutan asam sulfat pekat
17. Larutan amonium molibdate
18. Akuades

C. Teori Dasar

Protein adalah salah satu bio-makromolekul yang penting peranannya dalam makhluk hidup. Fungsi dari protein itu sendiri secara garis besar dapat dibagi ke dalam dua kelompok besar, yaitu sebagai bahan struktural dan sebagai mesin yang bekerja pada tingkat molekular. Apabila tulang dan kitin adalah beton, maka protein struktural adalah dinding batu-batanya. Beberapa protein struktural, *fibrous protein*, berfungsi sebagai pelindung, sebagai contoh α dan β keratin yang terdapat pada kulit, rambut, dan kuku. Sedangkan protein struktural lain ada juga yang berfungsi sebagai perekat, seperti kolagen.

Protein dapat memerankan fungsi sebagai bahan struktural karena seperti halnya polimer lain, protein memiliki rantai yang panjang dan juga dapat mengalami *cross-linking* dan lain-lain. Selain itu protein juga dapat berperan sebagai biokatalis untuk reaksi-reaksi kimia dalam sistem makhluk hidup. Makromolekul ini mengendalikan jalur dan waktu metabolisme yang kompleks untuk menjaga kelangsungan hidup suatu organisme. Suatu sistem metabolisme akan terganggu apabila biokatalis yaitu protein yang berperan di dalamnya mengalami kerusakan. Selain itu, protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian dari sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, komponen utama dari sistem komunikasi antar sel serta sebagai katalis berbagai reaksi biokimia di dalam sel. Karena itulah sebagian besar aktivitas penelitian biokimia tertuju pada protein.

Protein lengkap yang mengandung semua jenis asam amino esensial, ditemukan dalam daging, ikan, unggas, keju, telur, susu, produk sejenis Quark, tumbuhan berbiji, tumbuhan polong-polongan, dan kentang. Sedangkan, protein tidak lengkap yang hanya mengandung sebagian jenis asam amino esensial ditemukan dalam sayuran, padi-padian, dan polong-polongan.

Uji analisis protein :

1. Uji Biuret : Larutan sampel sebelumnya dibuat dalam suasana basa menggunakan NaOH kemudian ditambahkan larutan CuSO_4 encer. Uji ini berguna untuk menunjukkan adanya senyawa senyawa yang mengandung gugus amida asam yang berada bersama gugus amida yang lain. Uji ini memberikan reaksi positif yaitu ditandai dengan timbulnya warna merah violet atau biru violet
2. Uji Xantoproteat : Melalui uji ini larutan asam nitrat pekat ditambahkan dengan hati-hati ke dalam larutan sampel yang diperkirakan mengandung

protein. Setelah dicampur, terjadi endapan putih yang dapat berubah menjadi kuning apabila dipanaskan. Reaksi yang terjadi ialah nitrasi pada inti benzena yang terdapat pada molekul protein. Reaksi ini positif untuk protein yang mengandung tirosin, fenilalanin dan triptofan

3. Uji Sulfur : Protein yang mengandung asam amino berinti benzena. Jika ditambahkan asam nitrat pekat, maka akan mengendap dengan endapan berwarna putih yang dapat berubah menjadi kuning sewaktu dipanaskan. Senyawa nitro yang terbentuk dalam suasana basa juga akan terionisasi dan warnanya akan berubah menjadi lebih tua atau jingga. Reaksi ini dapat dilakukan dengan penambahan Pb-asetat dan basa. Reaksi Pb-asetat dengan asam-asam amino tersebut akan membentuk endapan berwarna kelabu, yaitu garam PbS. Penambahan NaOH dalam hal ini adalah untuk mendenaturasikan protein sehingga ikatan yang menghubungkan atom S dapat terputus oleh Pb-asetat membentuk PbS. Dari data yang diperoleh, dapat diketahui bahwa kasein dan sistein mengandung unsur S dalam molekulnya. Hal ini ditunjukkan oleh perubahan warna pada sistein yang menjadi hitam bening dan terbentuk endapan hitam serta pada kasein yang berwarna putih keruh kehitaman yang mengindikasikan adanya senyawa PbS
4. Uji Ninhidrin : Ninhidrin bereaksi dengan asam amino bebas pada protein yang akan menghasilkan warna biru. Reaksi ini termasuk yang paling umum dilakukan untuk analisis kualitatif protein serta pada produk hasil hidrolisisnya. Kadang kadang, reaksi ninhidrin dapat pula dilakukan terhadap urin untuk mengetahui adanya asam amino atau untuk mengetahui adanya pelepasan protein oleh cairan tubuh
5. Uji Neuman : Uji neuman merupakan uji spesifik untuk mendeteksi keberadaan kasein pada sampel. Ketika memanaskan asam nitrat pekat serta asam sulfat pekat, kasein selanjutnya akan dipecah dan menghasilkan fosfor. NH_3 yang ditambahkan bertujuan untuk mengkondisikan suasana basa. Ammonium molibdat akan bereaksi dengan NH_3 pada media tersebut serta membentuk endapan fosfo-amonium molibdate berwarna kuning

D. Prosedur Percobaan

Prosedur percobaan dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Uji Biuret : sebanyak 2 mL larutan uji, direaksikan dengan 1 mL NaOH 10%. Selanjutnya tambahkan 2-3 tetes larutan CuSO_4 sampai terbentuk warna ungu atau merah bila positif dan warna biru yang berarti negatif. Catat perubahan warnanya
2. Uji Xantoproteat : sebanyak 2 ml larutan uji direaksikan dengan 1 ml larutan HNO_3 pekat lalu dipanaskan selama 1 menit dan didinginkan melalui air yang mengalir. Berikutnya tetesi larutan NaOH 40% dalam tabung secara perlahan-lahan sampai terjadi perubahan warna. Warna oranye atau kuning tua pada bidang pembatasan menunjukkan reaksi positif. Catat perubahan warnanya
3. Uji Sulfur : 1 ml larutan yang diperkirakan mengandung protein, direaksikan dengan 1 ml larutan NaOH 40% serta dipanaskan selama 1 menit. Setelah itu ditambahkan dengan 1 tetes larutan Pb asetat yang akan menyebabkan perubahan warna coklat atau hitam karena terbentuknya senyawa PbS . Catat perubahan warnanya serta lakukan dengan prosedur yang sama untuk sampel lain
4. Uji Ninhidrin : 3 mL larutan protein ditambahkan dengan 10 tetes larutan ninhidrin. Selanjutnya panaskan selama 1-2 menit, diamkan sampai dingin dan catat perubahan yang terbentuk
5. Uji Neuman : Masukkan 200 μl larutan protein ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 2 ml asam nitrat pekat serta 200 μl asam sulfat pekat. Didihkan hingga volumenya berkurang sampai sebanyak 0,5 ml. Biarkan sampai dingin pada suhu ruang serta tambahkan dengan larutan ammonium molibdate. Amati serta catat perubahan yang terbentuk

E. Tugas :

1. Apakah uji Biuret dapat dilakukan untuk menguji semua jenis protein ?
Jelaskan jawaban anda
2. Apa saja bahan bahan makanan yang mengandung protein ?
3. Apa saja sumber bahan pangan berbasis protein nabati ? Sebutkan juga sumber bahan pangan berbasis protein hewani ?

PERCOBAAN 5

ENZIM

A. Tujuan Percobaan

1. Mampu menguji pengaruh perubahan suhu terhadap aktivitas enzim
2. Mampu menguji pengaruh perubahan pH terhadap aktivitas enzim
3. Mampu menerapkan metode eksperimen untuk untuk menganalisis pengaruh dari perubahan suhu dan pH terhadap kinerja enzim yang menunjukkan aktivitas enzimatis

B. Alat dan Bahan

1. pH meter
2. Tabung reaksi
3. Cawan petri
4. Penggaris
5. Waterbath
6. Termometer
7. Pipet tetes
8. Kentang
9. Larutan Hidrogen Peroksida 80 %
10. Buffer basa (NaOH)
11. Buffer asam (HCl)
12. Akuades

C. Teori Dasar

Enzim adalah senyawa yang dibentuk oleh sel tubuh organisme. Di dalam sel, enzim diproduksi oleh organel badan mikro peroksisom. Kegunaan enzim katalase adalah menguraikan H_2O_2 yang merupakan senyawa racun dalam tubuh yang terbentuk pada proses pencernaan makanan. H_2O_2 adalah bahan kimia organik yang memiliki sifat oksidator kuat serta bersifat racun dalam tubuh. Senyawa H_2O_2 harus diuraikan menjadi H_2O dan O_2 dengan timbulnya gelembung

D. Prosedur Percobaan

1. Uji pengaruh suhu terhadap aktivitas enzimatis

Pada uji pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim, prosedurnya meliputi :

1. Siapkan potongan silinder kentang dengan tebal sekitar 1 mm. Kemudian letakkan pada cawan petri yang berisi air
2. Siapkan 3 buah tabung reaksi yang sudah dilabeli. Tabung 1 dan 2 berisi hidrogen peroksida 20% (encerkan dengan akuades), tabung 3 berisi aquades murni
3. Jaga kondisi seluruh tabung menggunakan buffer pH dan cek dengan pH meter hingga kondisi pH 7 dan suhunya 25 °C (suhu ruang), cek suhunya dengan menggunakan termometer
4. Masukkan potongan silinder kentang tadi pada tabung 1 dan 3 dan masukkan potongan kertas pada tabung ke dua. Amati dan catat perubahan yang terjadi
5. Lakukan langkah 1-4 pada pH yang sama dengan suhu yang berbeda. Suhu yang digunakan adalah 40, 60, dan 80 °C
6. Amati tinggi dan jumlah gelembung udara yang terbentuk. Semakin tinggi dan banyak gelembung udara yang terbentuk, menunjukkan semakin cepat laju aktivitas enzimatis
7. Buat grafik hasil uji dengan variasi suhu sebagai sumbu x

2. Uji pengaruh pH terhadap aktivitas enzimatis

Pada uji pengaruh pH terhadap aktivitas enzim, prosedurnya :

1. Ulangi prosedur pada langkah 1-4 diatas dengan pH yang berbeda tetapi suhu tetap yaitu pada 25 °C. pH yang digunakan adalah 4, 7 dan 10
2. Amati tinggi dan jumlah gelembung udara yang terbentuk. Semakin tinggi dan banyak gelembung udara yang terbentuk menandakan semakin cepat laju aktivitas enzimatis
3. Buat grafik hasil uji dengan variasi pH sebagai sumbu x

E. Tugas :

1. Mengapa (Hidrogen Peroksida) H_2O_2 dipakai sebagai bahan percobaan untuk mengamati kerja enzim katalase ?
2. Apa kegunaan buffer asam (HCl) dan buffer basa (NaOH) ?
3. Apa peran enzim katalase dalam tubuh ?
4. Bagaimana hasil pengamatan saudara? Jelaskan!

DAFTAR PUSTAKA

Adisendjaja, Y. et al., (2014). *Penuntun Kegiatan Laboratorium Biokimia*. Jurusan Pendidikan Biologi, FPMIPA UPI, Bandung

Campbell, N. A. et al., (2010). *Biologi*. Erlangga, Jakarta

Fessenden, R. J., (1990). *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Erlangga, Jakarta

Hadiyati, L., *Modul Praktikum Biokimia*, Jurusan Keperawatan, STIKes Dharma Husada, Bandung

Lehninger. (1982). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid 1. Erlangga, Jakarta

Murray, Granner, Mayes, Rodwell., (1997). *Biokimia*, Harper, EGC, Jakarta

Poedjiadi, S., (2005). *Dasar-Dasar Biokimia*, 2005, UI Press, Jakarta

Sudarmaji, S. et al., (1989). *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta

Sukmawaty, E., (2015). *Petunjuk Praktikum Biokimia*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.