

Bahan Ajar Praktikum Biokimia

1

by Made Sukaryawan

Submission date: 11-Oct-2022 01:32PM (UTC+0700)

Submission ID: 1922363275

File name: full_naskah_biokimia_1.pdf (9.24M)

Word count: 20536

Character count: 125005

BAHAN AJAR

PRAKTIKUM BOKIMIA 1 BERBASIS KONSTRUKTIVISME 5

FHASE NEEDHAM

BIODATA PENULIS



Drs. Made Sukaryawan, M.Si., Ph.D. merupakan dosen Pendidikan Kimia FKIP UNSRI yang lahir di Karang Asem pada tanggal 5 Agustus 1965. Beliau menyelesaikan studi S1 Pendidikan Kimia di Universitas Sriwijaya tahun 1990, S2 Kimia-Biokimia di Institut Teknologi Bandung tahun 1998 dan melanjutkan kuliah S3 pada Program Doktor Pendidikan Kimia di Universitas Sultan Idris yang selesai pada tahun 2019.



Diah Kartika Sari merupakan dosen Pendidikan Kimia FKIP UNSRI yang lahir di Palembang pada tanggal 20 Mei 1984. Beliau menyelesaikan studi S1 Pendidikan Kimia di Universitas Sriwijaya tahun 2006, S2 Kimia-Biokimia di Institut Teknologi Bandung tahun 2010 dan melanjutkan kuliah S3 pada Program Doktor Pendidikan IPA Universitas Pendidikan Indonesia yang selesai pada tahun 2017.



Bahan Ajar

PRAKTIKUM BIODIVERSITAS 1 BERBASIS KONSTRUKTIVISME 5 FASE NEEDHAM

Drs. Made Sukaryawan, M.Si., Ph.D

Dr. Diah Kartika Sari, M.Si

Bahan Ajar Praktikum Biokimia 1

Berbasis Konstruktivisme 5 Fase Needham

copyright © Agustus 2021

Penulis : Drs. Made Sukaryawan, M.Si., Ph.D
Dr. Diah Kartika Sari, M.Si
Setting Dan Layout : Armitha Mukhromah
Desain Cover : Nur Sharfina Aprilianti

Hak Penerbitan ada pada © Bening media Publishing 2021
Hakcipta © 2021 pada penulis

Ukuran 21 cm x 29.7 cm
Halaman : iv + 206 hlm

Hak cipta dilindungi Undang-undang
Dilarang mengutip, memperbanyak dan menerjemahkan sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari Bening media Publishing

Cetakan I, Agustus 2021



Jl. Padat Karya
Palembang – Indonesia
Telp. 0823 7200 8910
E-mail : bening.mediapublishing@gmail.com
Website: www.bening-mediapublishing.com

ISBN : 978-623-6991-63-3 (EPUB)

1 **DAFTAR ISI**

1. Judul	1
2. Kata Pengantar	2
3. Daftar Isi	4
4. Pendahuluan	5
5. Reaksi Uji Asam Amino	7
6. Reaksi Uji Protein	36
7. Kurva titrasi asam amino	61
8. Titrasi formal asam amino	74
9. Penentuan Kadar Protein Secara Biuret	80
10. Penentuan Kadar Protein Secara Lowry	88
11. Kromatografi lapis tipis asam amino	98
12. Isolasi kasein dari susu	112
13. Uji Karbohidrat	121
14. Penentuan Kadar Glukosa	146
15. Uji Lipid	156
16. Penentuan Kadar Lipid Metode Safonifikasi	174
17. Pengaruh pH dan suhu terhadap reaksi enzimatik	183
18. Lampiran Rencana Pembelajaran Semester Praktikum Biokimia 1	191

1

A. Pendahuluan

Peningkatan akses pendidikan tinggi, *link and match* antara lulusan dengan serapan tenaga kerja di era industri 4.0 telah dicanakan oleh pemerintah, melalui Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia. Dalam rangka mendukung program tersebut, perlunya melakukan strategi inovasi yang tepat dalam proses pembelajaran agar dapat diakses secara luas. Strategi pembelajaran yang dapat dilakukan salah satunya yaitu mengembangkan inovasi pembelajaran dengan media digital, sehingga interaksi antara pendidik dengan peserta didik berlangsung melalui pembelajaran digital.

Pembelajaran digital memerlukan pendidik dan peserta didik berkomunikasi secara interaktif dengan memanfaatkan teknologi informasi dan komunikasi, seperti media komputer dengan internetnya, *handphone* dengan berbagai aplikasinya, video, telepon atau *fax*. Pemanfaatan media ini bergantung pada struktur materi pembelajaran dan tipe-tipe komunikasi yang diperlukan. Transkrip percakapan, contoh-contoh informasi, dan dokumen-dokumen tertulis yang terhubung secara digital atau pembelajaran melalui Web yang menunjukkan contoh-contoh penuh teks, adalah cara-cara tipikal bahwa pentingnya materi pembelajaran didokumentasi secara digital. Komunikasi yang lebih banyak visual meliputi gambaran papan tulis, kadang-kadang digabungkan dengan sesi percakapan, dan konferensi video, yang memperbolehkan pembelajar yang suka menggunakan media yang berbeda untuk bekerja dengan pesan-pesan yang tidak dicetak.

Pelaksanaan praktikum Biokimia 1 mahasiswa pendidikan kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sriwijaya dapat dilakukan secara luring maupun daring melalui pembelajaran digital. Mahasiswa dapat melakukan

percobaannya di laboratorium ataupun kediamannya masing-masing, dari merancang sampai melaporkan hasil percobaannya. Pelaksanaan secara daring komunikasi dapat dilakukan melalui media digital seperti elearning unsri, google classroom, WhatsApp, Zoom meeting. Pelaksanaan praktikum disesuaikan dengan Rencana Pembelajaran Semester (RPS) yang telah dibuat (dapat di lihat pada lampiran) dengan inovasi pada bahan dan alat yang digunakan dan mudah di peroleh di kediamannya masing-masing. Capaian Pembelajaran Lulusan (CPL) program studi yang dibebankan kepada mata kuliah ini dapat di lihat pada RPS terdiri dari CPL-S9, CPL-P4, dan CPL KU8. Proses pembelajaran ini tentunya perlu di refleksi untuk perbaikan di masa yang akan datang, saran membangun sangat kami harapkan. Terimakasih kepada kolega, mahasiswa dan semua yang terlibat dalam proses penyusunan bahan ajar praktikum Biokimia 1.

B. Pelaksanaan Praktikum

Pelaksanaan praktikum ini mengikuti prosedur pada bahan ajar praktikum Biokimia 1 dan standar operasional prosedur yang telah ditetapkan Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sriwijaya. Selain itu mahasiswa juga menggunakan Lembar Kerja Mahasiswa (LKM) yang telah disediakan pada elearning Unsri (<https://elearning.unsri.ac.id>) agar mereka bekerja pada lingkup yang telah ditentukan.

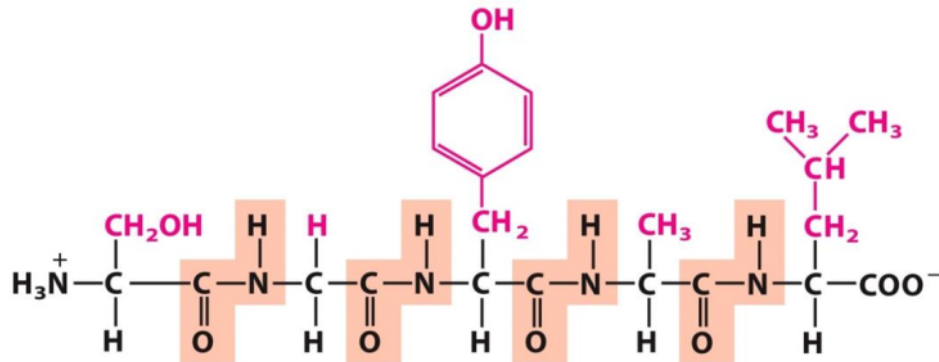
1. Reaksi Uji Asam Amino

Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri (CPMK1), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah mahasiswa mampu bertanggungjawab mengelola (mendesain, melaksanakan dan melaporkan) eksperimen Uji Asam Amino (Sub-CPMK1). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

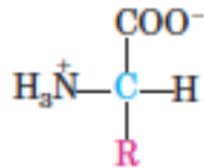
a. Orientasi

Protein adalah polimer yang dibentuk dari monomer asam amino melalui ikatan kovalen. Protein dapat dihidrolisis menjadi asam amino penyusunnya dengan berbagai metode, dan studi paling awal tentang protein secara alami

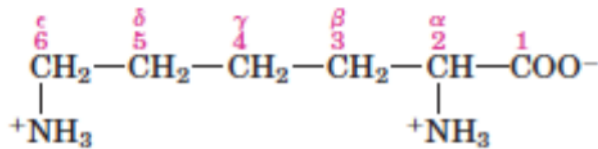
berfokus pada asam amino bebasnya. Protein alam terbentuk dari 20 jenis asam amino melalui ikatan kovalen yaitu ikatan peptida.



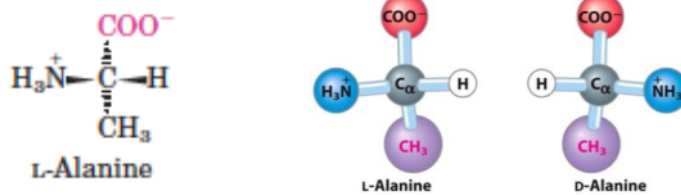
Semua 20 asam amino umumnya memiliki gugus karboksil dan gugus amino yang terikat ke atom karbon yang sama yaitu pada atom karbon ($\text{C } \alpha$).



Semua asam amino kecuali glisin mempunyai atom karbon asimetrik, dengan demikian bersifat optik aktif yaitu dapat memutar sinar bidang polarisasi menuju ke suatu arah atau kebalikannya.



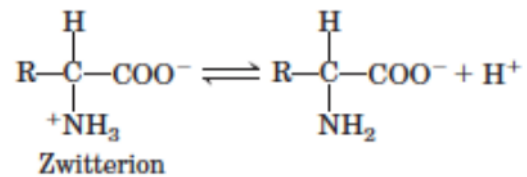
Semua asam amino yang bersifat optik aktif yang menyusun protein alam berada dalam bentuk stereoisomer L.



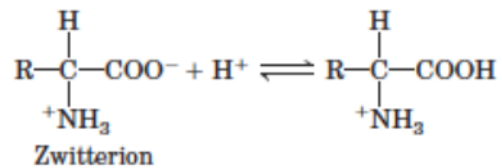
14

Semua asam amino bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan dapat bereaksi dengan basa.

Bersifat asam sebagai donor proton:



Bersifat basa aseptor proton:



Semua asam amino dapat membentuk ion dipolar atau disebut *Zwitterion*.

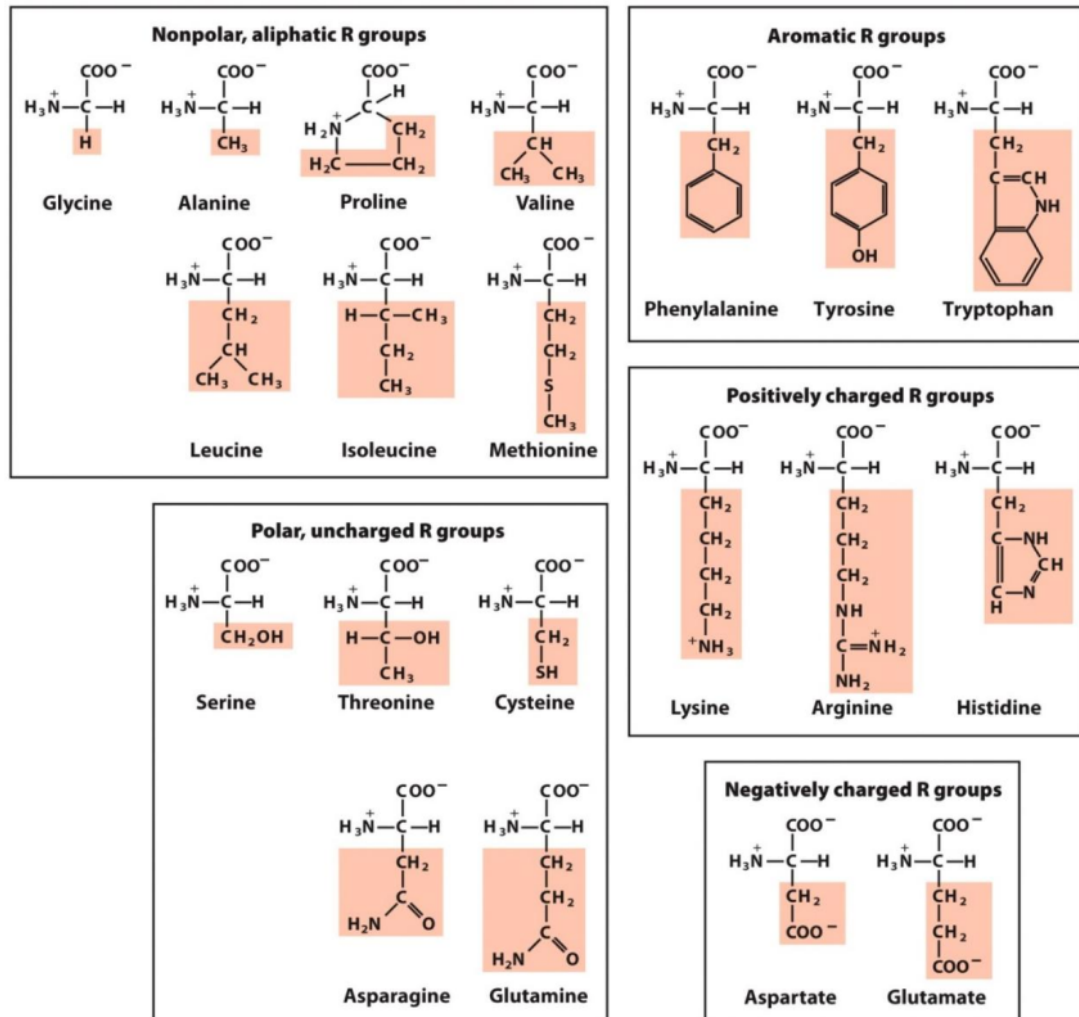


Asam amino tersebut berbeda satu sama lain dalam rantai samping atau gugus alkilnya (-R) yang bervariasi dalam struktur, ukuran, dan muatan listrik, dan yang mempengaruhi kelarutan asam amino dalam air. Asam amino yang umum dari protein dalam penulisannya telah diberi simbol tiga huruf dan simbol satu huruf yang digunakan sebagai singkatan untuk menunjukkan komposisi dan urutan asam amino terpolimerisasi dalam protein dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.

Amino acid	Abbreviation/ symbol	M_r^*	pK_a values			pI	Hydropathy index [†]	Occurrence in proteins (%) [†]
			pK_1 (-COOH)	pK_2 (-NH ₃ ⁺)	pK_R (R group)			
Nonpolar, aliphatic R groups								
Glycine	Gly G	75	2.34	9.60		5.97	-0.4	7.2
Alanine	Ala A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8
Proline	Pro P	115	1.99	10.96		6.48	-1.6	5.2
Valine	Val V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6
Leucine	Leu L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1
Isoleucine	Ile I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3
Methionine	Met M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3
Aromatic R groups								
Phenylalanine	Phe F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9
Tyrosine	Tyr Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	-1.3	3.2
Tryptophan	Trp W	204	2.38	9.39		5.89	-0.9	1.4
Serine	Ser S	105	2.21	9.15		5.68	-0.8	6.8
Threonine	Thr T	119	2.11	9.62		5.87	-0.7	5.9
Cysteine [‡]	Cys C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9
Asparagine	Asn N	132	2.02	8.80		5.41	-3.5	4.3
Glutamine	Gln Q	146	2.17	9.13		5.65	-3.5	4.2
Positively charged R groups								
Lysine	Lys K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	-3.9	5.9
Histidine	His H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	-3.2	2.3
Arginine	Arg R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	-4.5	5.1
Negatively charged R groups								
Aspartate	Asp D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	-3.5	5.3
Glutamate	Glu E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	-3.5	6.3

Gambar 1. Karakteristik 20 Asam amino
Sumber: Lehninger (2013)

Berdasarkan sifat kepolaran gugus alkilnya (-R) asam amino dapat dikelompokkan menjadi lima kelas utama yaitu: asam amino non polar, asam amino polar tidak bermuatan, asam amino dengan gugus aromatic, asam amino bermuatan negative dan asam amino bermuatan positif.



Sumber: Lehninger (2013)

Protein berdasarkan sumbernya, dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu protein nabati dan protein hewani. Protein nabati adalah protein yang berasal dari bahan nabati, seperti kacang-kacangan, kedelai, dan sereal lainnya. Protein hewani adalah protein yang berasal dari produk hewani seperti susu, telur, daging, dan hasil perikanan. Protein hewani memiliki protein yang lengkap dan bermutu tinggi karena mengandung asam amino esensial, terutama asam amino yang mengandung belerang. Untuk mengetahui kandungan protein dan asam amino pada pangan dan hasil pertanian lainnya, perlu dilakukan analisis kuantitatif atau kualitatif. Oleh karena itu, diperlukan metode analisis yang tepat untuk mengidentifikasi kadar protein dan asam amino dalam bahan pangan. Percobaan ini membahas berbagai metode analisis untuk menentukan kandungan asam amino, melalui analisis kualitatif. Analisis kualitatif meliputi beberapa reaksi, antara lain reaksi Ninhidrin, reaksi Xanthoprotein, reaksi Hopkins-Cole, reaksi Millon, reaksi Nitroprusside, dan reaksi Sakaguchi.



Gambar 2. Sumber pangan yang mengandung protein.

Sumber: https://res.cloudinary.com/dk0z4ums3/image/upload/v1591066888/attached_image/ketahui-makanan-berprotein-tinggi-dan-manfaatnya-di-sini-0-alodokter.jpg

b. Pencetusan Ide

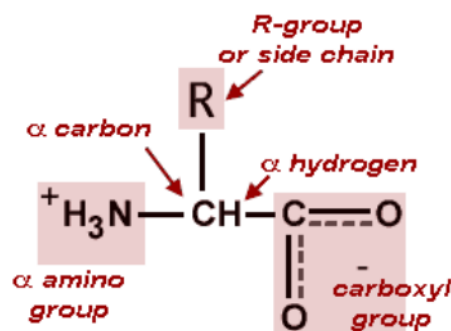
Pahami orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah bahan pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara tentang kandungan protein dan asam amino masing-masing bahan pangan tersebut sesuai dengan Lembar Kerja Mahasiswa (LKM) yang telah disediakan. Bahaslah manfaat asam amino yang dikandung bahan pangan tersebut pada organisme hidup.

c. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan secara kualitatif terhadap asam amino.

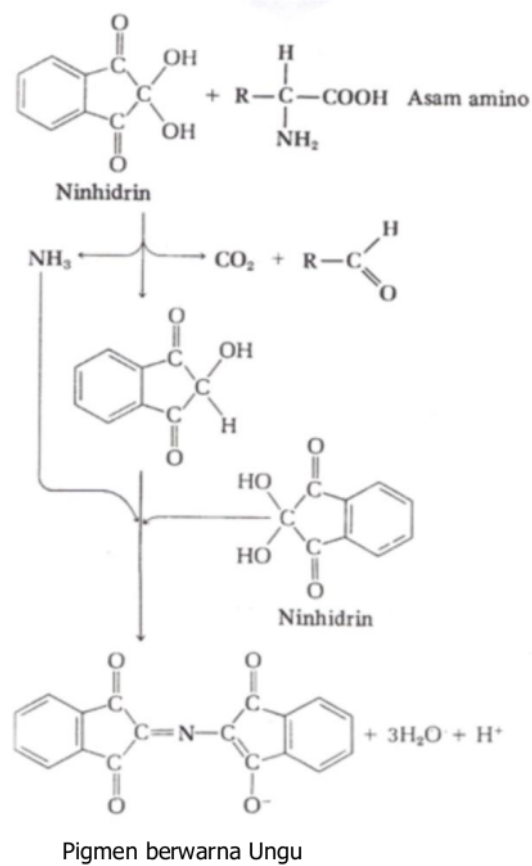
1. Uji Ninhidrin

Apabila Ninhidrin (triketohidridene hidrat) dipanaskan dengan asam amino, maka akan terbentuk kompleks berwarna. Untuk itulah suatu asam amino dapat ditentukan secara kualitatif dengan jalan mengamati warna yang terbentuk. Uji Ninhidrin mendeteksi gugus alfa (α) amino bebas dan asam karboksilat bebas pada protein dan peptida. Semua asam amino yang memiliki gugus alfa amino bebas akan memberikan hasil positif kompleks berwarna ungu, sedangkan gugus amino tidak bebas seperti asam amino prolin, akan memberikan hasil kompleks berwarna kuning.

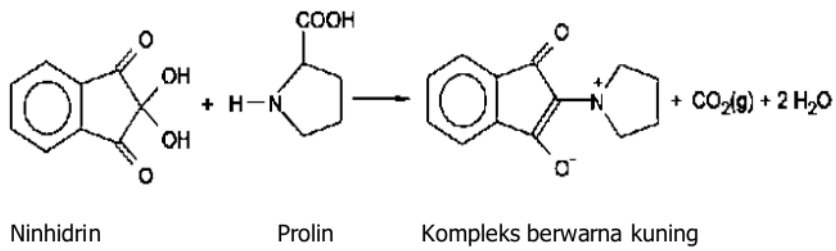


Ninhidrin mendegradasi asam amino menjadi aldehida, amonia dan CO₂ (pada kisaran pH 4-8) melalui serangkaian reaksi. Hasil akhirnya adalah ninhidrin yang sebagian tereduksi dari hidrindantin. Ninhidrin kemudian mengembun dengan amonia dan hidrindantin untuk menghasilkan pigmen berwarna biru atau ungu, kadang-kadang disebut ungu ruhemann.

Reaksi Ninhidrin dengan asam amino yang memiliki gugus alfa amino bebas Seperti : alanin, valin, leusin, isoleusin, fenilalanin, metionin dan lain-lain dapat di lihat sebagai berikut.



Reaksi Ninhidrin dengan asam amino yang tidak memiliki gugus alfa amino bebas
Seperti prolin.



Positif Uji Ninhidrin
(warna ungu)



Negatif Uji Ninhidrin

Gambar 3. Reaksi Ninhidrin dengan asam amino yang memiliki gugus alfa amino bebas

Bahan :

- Larutan ninhidrin 0,1%
- Larutan protein

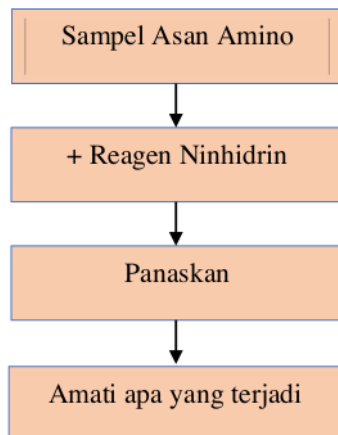
Prosedur :

Tambahkan 5 tetes larutan Ninhidrin 0,1% ke dalam 3 ml larutan Asam Amino 1%. Panaskan hingga mendidih. Ulangi percobaan dengan menggunakan glisin.

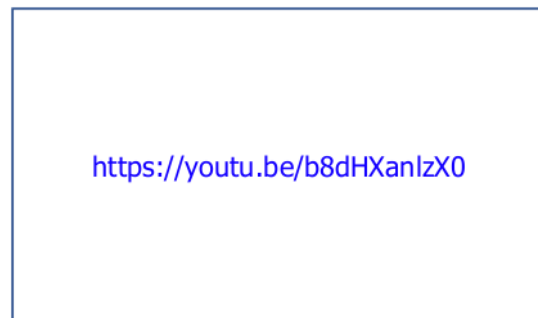
- a. Warna apa yang terbentuk?
- b. Gugus apa yang memberikan uji positif?

Perhatian: Ninhidrin adalah oksidator kuat, harus ditangani dengan hati-hati, dan hindari kontak dengan kulit atau mata, pakailah sarung tangan dan masker adalah suatu keharusan, menggunakan tudung diperlukan, jika tidak sengaja menyentuh kulit, noda yang dihasilkan adalah sementara akan hilang dalam waktu 24 jam.

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



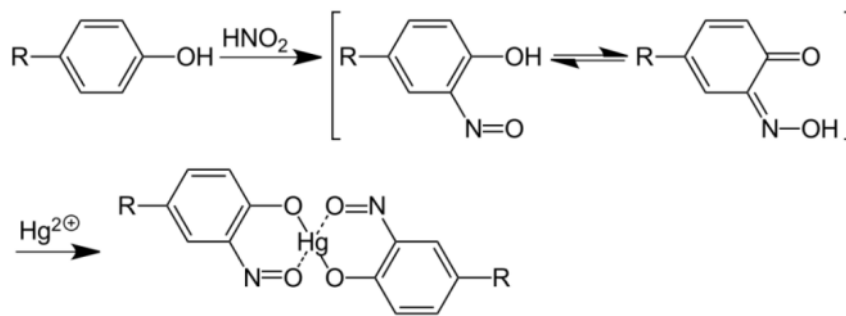
Contoh Uji Ninhidrin



Gambar 4. Video Uji Ninhidrin
Sumber: <https://youtu.be/b8dHXanlzX0>

2. Uji Millon

Uji asam amino ini khusus untuk tirosin, satu-satunya asam amino yang mengandung gugus fenol, gugus hidroksil terikat pada cincin benzena. Semua fenol (senyawa yang memiliki cincin benzena dan OH yang terikat padanya) memberikan hasil positif pada uji Millon. Gugus fenol pada asam amino tirosin pertama kali dinitrasi oleh asam nitrat dalam larutan. Kemudian tirosin nitrat membentuk kompleks dengan ion merkuri dalam larutan untuk membentuk larutan merah bata atau endapan tirosin nitrat, dalam semua kasus, munculnya warna merah bata adalah tes positif. Adapun reaksi asam amino dengan pereaksi Millon adalah sebagai berikut.



Komplek berwarna merah bata



Positif Uji Millon
(warna merah bata)



Negatif Uji Millon

Gambar5. Reaksi asam amino dengan pereaksi Millon

Bahan :

- Reagen Millon : Larutkan 10 gr merkuri dalam 20 ml asam nitrat pekat. Apabila telah melarut semua dan uap coklat tak kelihatan lagi, encerkan dengan 60 ml air. Kemudian simpan.
- Larutan Asam Amino: Buat Larutan Asam Amino 1%
- Larutan protein : Buat larutan albumin telur (1 : 5)

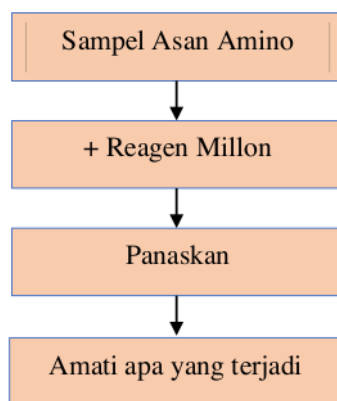
Prosedur :

Tambahkan 5 tetes reagen Millon ke dalam 3 ml larutan asam amino 1%, panaskan campuran baik-baik. Jika reagen yang digunakan terlalu banyak, maka warna akan hilang pada pemanasan.

Pertanyaan :

- a. Apa yang terjadi jika garam merkuri ditambahkan ke dalam asam amino?
- b. Mengapa larutan albumin terkoagulasi?
- c. Larutan asam amino yang mana yang memberikan uji negatif? Mengapa?

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



Contoh Uji Millon

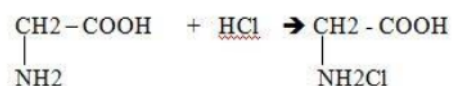
<https://youtu.be/WaSCcl7SdaM>

Gambar 6 Video Uji Millon
Sumber: <https://youtu.be/WaSCcl7SdaM>

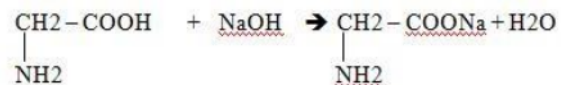
3. Uji Kelarutan

Sifat fisik asam amino terutama disebabkan oleh strukturnya, baik dalam bentuk padat maupun dalam berbagai larutan. Tujuannya adalah menyelidiki kelarutan asam amino, asam amino polar lebih larut dalam air daripada non polar, karena adanya gugus amino dan karboksil yang memungkinkan asam amino menerima dan menyumbangkan proton ke larutan berair.

Reaksi dengan asam (HCl)



Reaksi dengan basa (NaOH)



Gambar 7. Uji Kelarutan Asam Amino

Bahan:

Larutan asam amino yang berbeda: glisin, lisin, glutamin.

Pelarut: H₂O, HCl, NaOH, chloroform, Tabung reaksi, penangas air

Metode:

Tempatkan 0,5 ml sampel asam amino dalam 4 tabung reaksi bersih, kering yang mengandung 4 ml pelarut yang berbeda dalam penangas air, Kocok tabung secara menyeluruh, kemudian biarkan larutan selama sekitar satu menit, catatlah hasilnya.

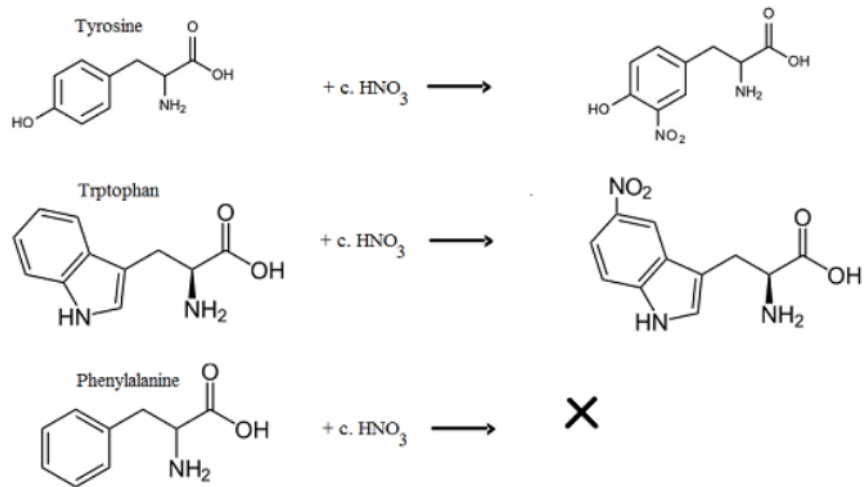
Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



4. Uji Xanto Protein

Tujuan Uji asam amino ini digunakan untuk membedakan antara asam amino aromatik yang memberikan hasil positif dengan asam amino lainnya. Asam amino yang mengandung bentuk inti aromatik memberikan warna kuning setelah pemanasan dengan HNO₃ pekat. Garam dari turunan ini berwarna oranye. Larutan HNO₃ bereaksi dengan cincin aromatik yang merupakan turunan dari benzena memberikan karakteristik reaksi nitrasi. Asam amino tirosin, dan triptofan mengandung cincin

benzena aktif yang mudah di nitrasi menjadi senyawa berwarna kuning. Cincin aromatik fenil alanin tidak bereaksi dengan asam nitrat meskipun mengandung cincin benzena, tetapi tidak diaktifkan sehingga tidak akan bereaksi.



n

Gambar 7. Uji Xanto Protein

HNO_3 pekat adalah zat beracun dan korosif yang dapat menyebabkan luka bakar parah dan menghitamkan kulit Anda. Cegah kontak mata, kulit dan kain. Hindari menghirup uap dan menelan senyawa. Sarung tangan dan kaca mata pengaman adalah suatu keharusan; pengujian harus dilakukan di lemari asam.

Labelkan lima tabung (1 - 5), kemudian tambahkan 0,5 ml masing-masing larutan asam amino dan larutan fenol ke masing-masing tabung reaksi tersebut. Tambahkan beberapa tetes HNO_3 pekat. Bandingkan warna dengan yang diberikan oleh blangko menggunakan air sebagai gantinya. Sekarang dinginkan di bawah keran dan dengan hati-hati tambahkan 5 tetes 10M NaOH untuk membuat larutan menjadi sangat basa.

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



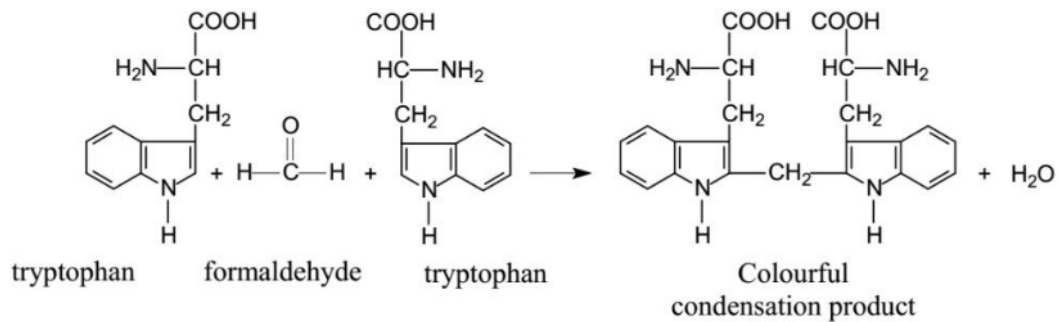
Contoh Uji Xanto Protein

<https://youtu.be/s2Qq2F54wr4>

Gambar. 8 Video Uji Xanto Protein
Sumber: <https://youtu.be/s2Qq2F54wr4>

5. Uji Hopkins-Cole

Reagen yang digunakan dalam uji Hopkins-Cole mengandung asam gliksilat (CHO.COOH). Karena triptofan berkondensasi dengan aldehyd dalam suasana asam sulfat dan membentuk kompleks berwarna seperti :





Gambar 9. Positif Uji Hopkins-Cole (Kiri positif, Kanan Negatif)
(Positif ada cincin berwarna coklat)

Bahan :

- Reagen Hopkins-Cole
- Larutan protein
- H_2SO_4 pekat

Alat :

- Pipet tetes
- Tabung reaksi

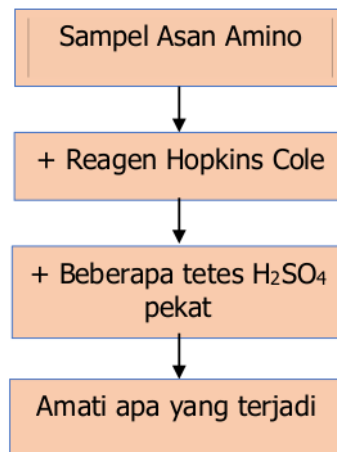
Prosedur :

Ke dalam 2 ml larutan protein tambahkan 5 tetes reagen Hopkins-Cole. Tambahkan sedikit demi sedikit kira-kira sebanyak 5 ml H_2SO_4 pekat melalui sisi tabung. Amati warna yang terbentuk pada pertemuan kedua cairan. Jika perlu putar perlahan-lahan tabung tersebut, sampai terbentuk cincin berwarna.

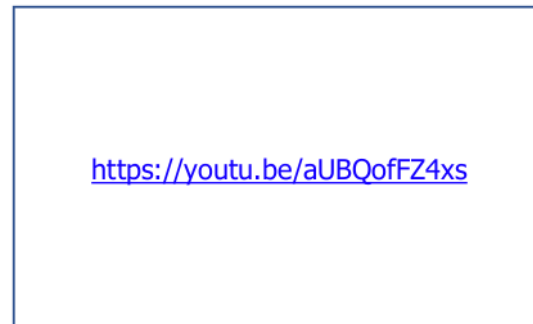
Pertanyaan :

Protein apakah yang tidak memberikan uji positif ?

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



Contoh Uji Hopkins-Cole



Gambar 10 Video Hopkins-Cole
Sumber: <https://youtu.be/aUBQofFZ4xs>

6. Reaksi Sistin Dan Reaksi Sistein

a. Sistin

Bahan :

- Sistin
- NaOH 1 N
- Timbal asetat

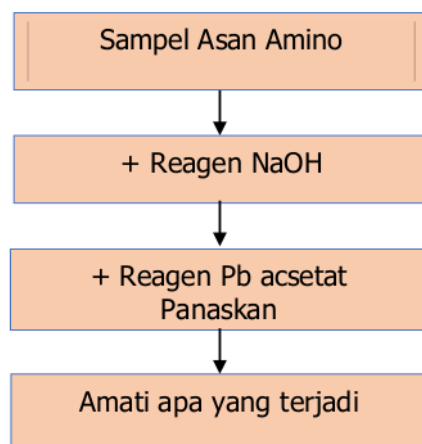
Prosedur :

Larutkan sedikit sistin ke dalam 5 ml NaOH 1 N. Tambahkan beberapa kristal Pb asetat. Panaskan hingga mendidih.

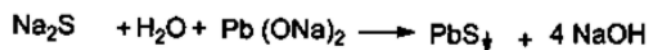
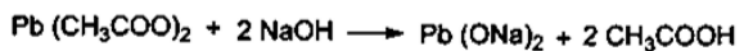
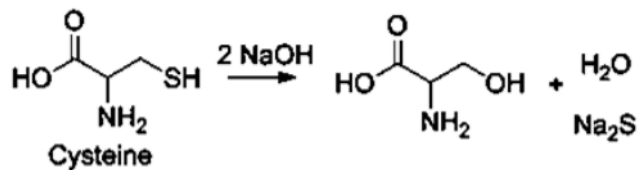
Pertanyaan :

1. Warna endapan?
2. Apa yang mengendap?

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



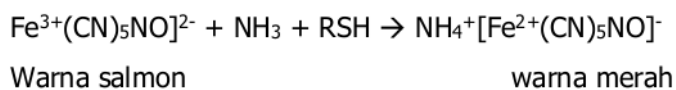
Reaksi yang terjadi sebagai berikut.



Gambar 11. Reaksi Sistin Dan Reaksi Sistein

b. Sistein

Reaksi antara gugus sulfhidril dari asam amino (sistein), peptida atau protein dengan nitroprussida dalam suasana amoniak berlebih dapat diterangkan sebagai berikut :



Bahan :

- Kristal sistein hidroklorida
- Larutan natrium nitroprussida
- NH₄OH
- H₂O

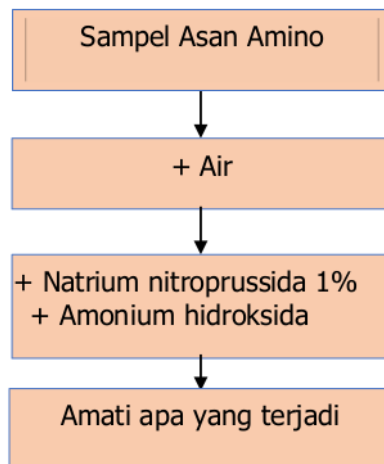
Prosedur :

Larutkan beberapa kristal sistein hidroklorida dalam 5 ml air. Tambahkan 0,5 ml larutan natrium nitroprussida 1%. Tambahkan 0,5 ml amonium hidroksida.

Pertanyaan :

1. Apakah warnanya, apakah warna stabil?
2. Apakah sistin akan memberikan uji positif?
3. Peptida dari sistein yang mana akan memberikan uji nitroprussida yang positif?

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



7. Konversi Sistin Ke Sistein Dan Kebalikannya

a. Konversi Sistin Ke Sistein

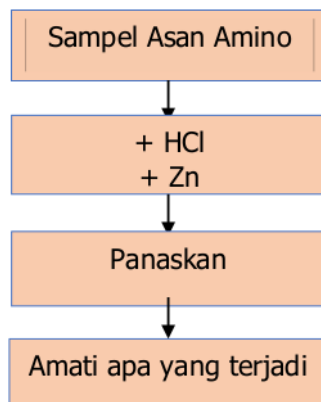
Bahan :

- Sistin
- HCl 0,5 N
- Seng
- Larutan Natrium Nitroprussida 1%
- NH₄OH
- H₂O

Prosedur :

Larutkan sedikit sistin ke dalam HCl 0,5 N pada tabung. Tambahkan sekeping seng dan biarkan bereaksi selama 5 menit. Panaskan perlahan-lahan jika perlu. Saring dan selidiki seperti reaksi uji untuk sistein (dengan nitroprussida)

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



b. Konversi Sistein Ke Sistin

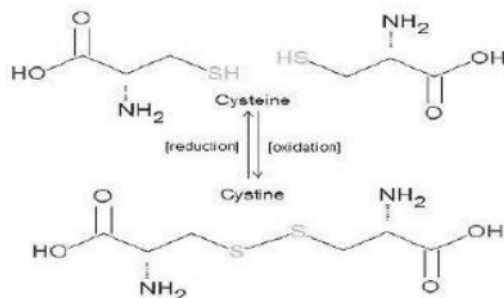
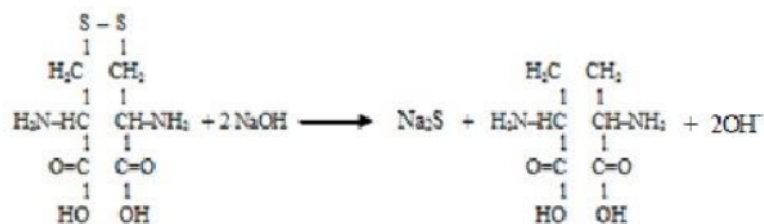
Bahan :

- Sistein hidroklorida
- Larutan ferriklorida
- Air
- Larutan natrium nitroprusida 1%
- NH₄OH

Prosedur :

Larutkan sedikit sistein hidroklorida dalam 5 ml air. Tambahkan beberapa tetes larutan ferri. Selidiki perubahan warna. Tambahkan berlebih larutan ferri sehingga selanjutnya tidak berubah.

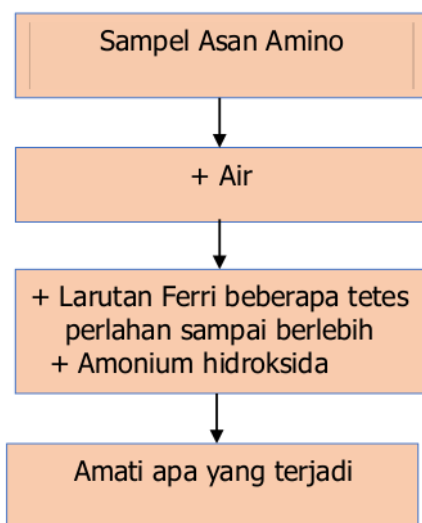
Reaksi yang terjadi:



Pertanyaan :

1. Tulis reaksi konversi sistin dan sistein!
2. Apakah gunanya kemampuan garam-garam ferri untuk mengoksidasi gugus-gugus sulfhidril dari sistein?

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



c. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan kualitatif asam amino. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 1 Uji Kualitatif Asam Amino

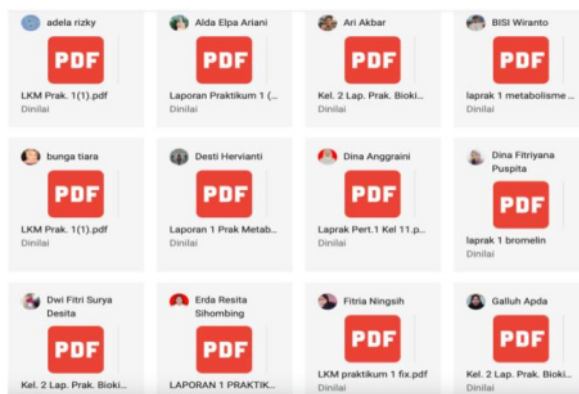
No	Uji Asam Amino	Sampel Asam Amino
1	Uji Millon	Triptofan, Tyrosin, Arginin
2	Uji Hopkins-Cole	Triptofan, Tyrosin, Lysin
3	Uji Ninhidrin	Alanin, Valin, Leusin, Fhenilalanin, Serin, Treonin, Asparagin, Prolin.
4	Uji Kelarutan	Metionin, Alanin, Valin, Leusin, Fhenilalanin, Serin, Treonin, Asparagin, Prolin, Arginin.
5	Uji Xanto Protein	Triptofan, Tyrosin, Arginin
6	Reaksi Sistin dan reaksi Sistein	Sistin, Cystein

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchronous WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau synchronous daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

a. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 1 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 1.



Gambar 11. Submit Laporan 1 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

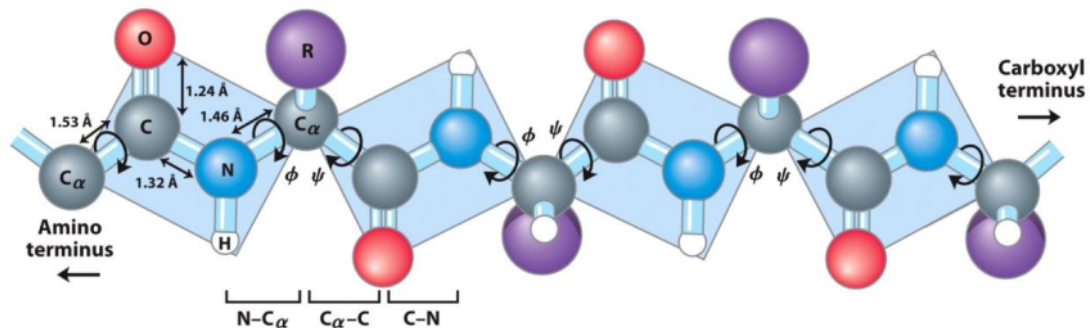
- 13
Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- BCM202. 2019. *Hopkins-Cole Test*. <https://youtu.be/aUBQoffZ4xs>. diakses pada tanggal 21 september 2020.
- Kareem. M.A. 2020. *Qualitative Tests For Amino Acids And Proteins*. <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwihh9rN9qfxAhVNOisKHUa0DZwQFjAEegQICRAF&url=http%3A%2F%2Fwww.egyankosh.ac.in%2Fbitstream%2F123456789%2F68528%2F1%2FExperiment-6.pdf&usq=AOvVaw0GN0PEGCwPacDQtqLj2UUU>. Diakses pada tanggal 15 september 2020.
- 7
Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Pharma Digest Channel. 2018. *Ninhydrin Test*. <https://youtu.be/b8dHXanlzX0>. diakses pada tanggal 21 september 2020.
- Pharma Digest Channel. 2018. *Millon's Test*. <https://youtu.be/WaSCcl7SdaM>. diakses pada tanggal 21 september 2020.
- Pharma Digest Channel. 2018. *Xanthoproteic Test*. <https://youtu.be/s2Qq2F54wr4>. diakses pada tanggal 21 september 2020.
- Ramus, V. 2020. *Qualitative Tests for Proteins*. <https://www.youtube.com/watch?v=6YPWipP-Qe8&feature=youtu.be> (diakses pada tanggal 15 Oktober 2020).
- Subroto, E., dkk. 2020. The Analysis Techniques Of Amino Acid And Protein In Food And Agricultural Products. *International Journal Of Scientific & Technology Research*, 9(10).
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. *Modul Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: ITB

2. Reaksi Uji Protein

1
Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri (CPMK1), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah mahasiswa mampu bertanggungjawab mengelola (mendesain, melaksanakan dan melaporkan) eksperimen Uji Protein (Sub-CPMK2). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

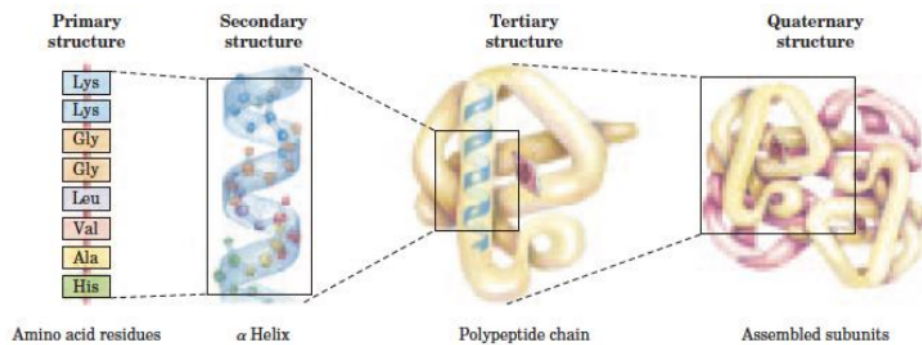
c. Orientasi

Protein adalah instrument yang mengekspresikan genetik, melalui proses transkripsi dan translasi di dalam sel. Inti sel mengandung ribuan gen, masing-masing mencirikan jenis protein yang terbentuk. Protein setiap organisme berbeda-beda satu sama lain, karena masing-masing mempunyai deret unit asam amino sendiri-sendiri. Protein mahluk hidup umumnya dibentuk oleh 20 jenis asam amino melalui ikatan kovalen.



Gambar 12. Ikatan Peptida

Protein memiliki ratusan bahkan ribuan berat molekul, oleh karenanya protein merupakan makro molekul. Pada umumnya protein sangat reaktif, karena gugus sampinya atau residu asam aminonya. Protein sangat sensitif terhadap perubahan pH, suhu, dan pelarut organik. Protein dapat dipisahkan dan di murnikan.

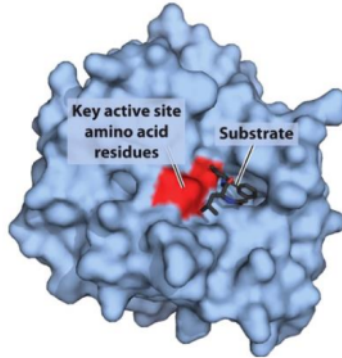


Gambar 13 Struktur Protein
Sumber: Lehninger (2013).

Struktur tiga dimensi protein adalah bagian penting untuk memahami bagaimana fungsi protein. Protein adalah molekul dinamis yang fungsinya hampir selalu bergantung pada interaksi dengan molekul lain. Protein ditinjau dari fungsi biologinya dapat digolongkan menjadi beberapa golongan yaitu:

a. Enzim

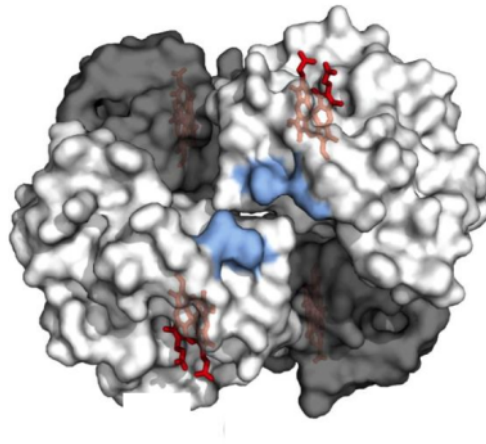
Protein sebagai enzim berfungsi sebagai biokatalisator, yaitu mengkatalisis reaksi-reaksi yang terjadi pada makhluk hidup. Semua enzim merupakan protein, tetapi sebaliknya semua protein belum tentu sebagai enzim. Hampir semua reaksi kimia biomolekul di dalam sel dikatalisis oleh enzim. Contoh enzim antara lain: Ribonuklease, Tripsin, amilase, lipase dan lain-lain.



Gambar 14. Enzim

b. Protein Transport

Protein transport berfungsi sebagai pengangkut membawa molekul atau ion spesifik dari satu organ ke organ yang lain. Contohnya protein hemoglobin yang berfungsi mengikat oksigen Ketika darah melalui paru-paru, dan membawanya ke jaringan periferi. Dalam jaringan tersebut oksigen dilepaskan untuk melangsungkan oksidasi nutrient yang menghasilkan energi.



Gambar15. Hemoglobin

c. Protein Nutrien dan Penyimpanan

Protein Nutrien berfungsi untuk menyimpan protein yang dibutuhkan seperti biji tumbuh-tumbuhan menyimpan protein untuk pertumbuhan embrio tanaman. Contoh Ovalbumin protein utama putih telur, kasein protein utama pada susu, ferritin jaringan hewan merupakan protein penyimpan zat besi.

d. Protein Kontraktil atau Motil

Protein kontraktil berfungsi memberikan kemampuan kepada sel dan organisme untuk berkontraksi, mengubah bentuk atau bergerak. Contohnya protein aktin dan myosin merupakan protein filamen yang berfungsi di dalam kontraksi otot kerangka. Protein tubulin pembentuk mikrotubul pada aflagella dan silia yang dapat menggerakkan sel.

e. Protein Struktural

Protein struktural berfungsi sebagai penyanggah untuk memberikan struktur kekuatan atau proteksi. Contohnya kolagen protein serabut yang mempunyai daya tegang yang amat tinggi. Hampir semua komponen kulit merupakan kolagen murni. Protein elastin pada persendian merupakan protein struktural yang mampu meregang ke dua dimensi. Protein keratin pada rambut, protein fibroin pada serat sutra merupakan protein struktural.

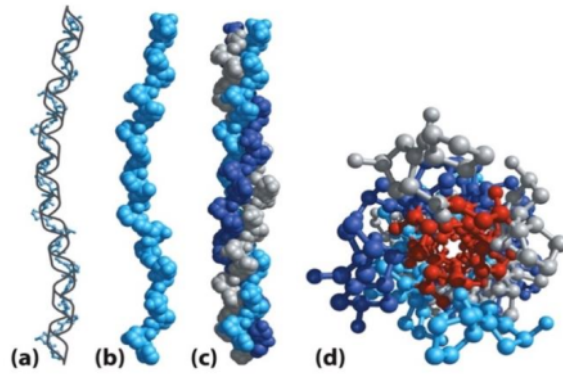
f. Protein Pertahanan

Protein pertahanan berfungsi untuk mempertahankan organisme dari serangan oleh spesies lain atau melindungi organisme tersebut dari luka. Contohnya protein antibody yang digunakan untuk mengenali dan mengendapkan atau menetralkan serangan bakteri, virus, atau protein asing dari spesies lain. Protein Fibrinogen dan thrombin merupakan protein penggumpal darah untuk menjaga kehilangan darah jika system pembuluh terluka.

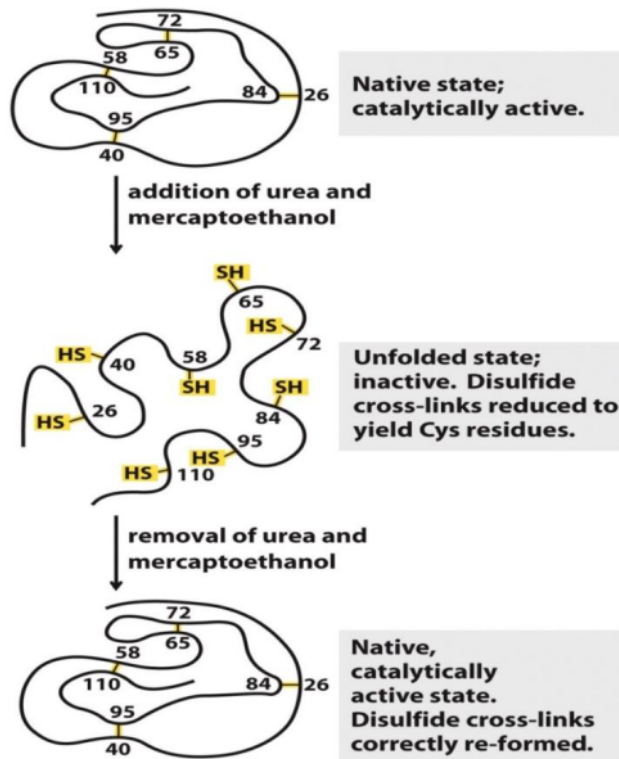
g. Protein Pengatur

Protein pengatur berfungsi untuk mengatur aktivitas selular atau fisiologi. Contohnya sejumlah hormon seperti insulin, berfungsi mengatur metabolisme gula. Hormon pertumbuhan dan hormon paratiroid mengatur transport Ca^{2+} , dan fosfat. Protein pengatur lain seperti reseptor berfungsi mengatur biosintesis enzim oleh bakteri.

Ditinjau dari bentuk protein digolongkan menjadi 2 golongan yaitu protein globular dan protein serabut. Protein globular memiliki rantai polipeptida yang berlipat-lipat berbentuk globular atau bulat yang padat. Protein globular umumnya larut dalam air, hampir semua enzim merupakan protein globular. Sedangkan protein serabut tidak larut dalam air, merupakan molekul serabut Panjang dengan rantai polipeptida yang memanjang pada satu sumbu dan tidak berlipat menjadi bentuk globular. Hampir semua protein serabut memberikan peranan struktural atau pelindung. Contoh protein serabut adalah keratin pada rambut, fibroin pada wol dan kolagen pada urat.



Gambar 16. Struktur Kolagen



Gambar 17. bentuk folding dan unfolding protein

Untuk mengetahui kandungan protein pada suatu sampel dapat dilakukan analisis kandungan protein baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Pada bagian ini akan dibicarakan uji kualitatif protein.

h. Pencetusan Ide

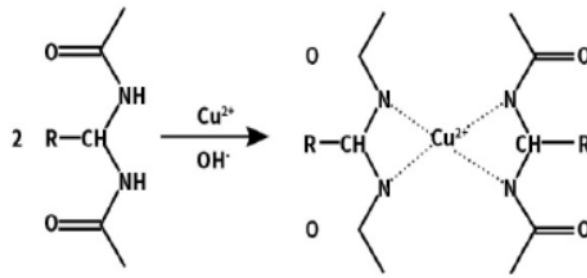
Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah bahan pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara tentang kandungan protein masing-masing bahan pangan tersebut. Bahaslah manfaat protein yang dikandung bahan pangan tersebut pada organisme hidup.

i. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan analisis kualitatif terhadap protein.

1. Uji Biuret

Uji biuret untuk protein secara kualitatif mendeteksi keberadaan protein dalam larutan dengan indikator warna, yaitu berwarna ungu tua. Dalam kondisi basa, Biuret ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$) bereaksi dengan senyawa yang mengandung dua atau lebih peptida berikatan membentuk kompleks berwarna ungu. Reaksinya adalah sebagai berikut:



Kompleks berwarna Ungu

Bahan :

- NaOH 2,5 N
- Larutan protein
- CuSO₄ 0,01 N

Prosedur :

Tambahkan 1 ml NaOH 2,5 N ke dalam 3 ml larutan protein dan aduk. Tambahkan setetes CuSO₄ 0,01 M. Aduk, jika tidak timbul warna tambahkan lagi setetes atau 2 tetes CuSO₄.

Pertanyaan :

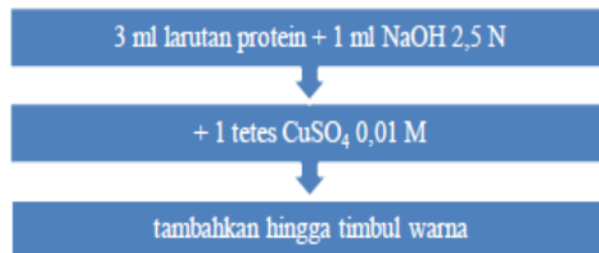
1. Warna apa yang terjadi?
2. Mengapa harus dihindarkan kelebihan CuSO₄?
3. Mengapa garam ammonium mengganggu ?
4. Sebutkan dua macam zat lain selain protein yang memberikan uji biuret positif!



Gambar 18. Positif Uji Biuret (berwarna Ungu)

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.

Uji Biuret



Contoh Uji biuret



Gambar 19. Video Uji Biuret
Sumber: <https://youtu.be/L4Rjpp8x9-A>

2. Pengendapan Dengan Logam

Bahan :

- Larutan protein
- HgCl_2 0,2 M
- Timbal asetat 0,2 M

Prosedur :

Ke dalam 3 ml larutan protein tambahkan 5 tetes HgCl_2 0,2 M. Ulangi percobaan dengan menggunakan Pb asetat 0,2 M.

Pertanyaan :

1. Apa hasilnya?
2. Terangkan mengapa putih telur digunakan sebagai antidote pada keracunan Pb dan Hg!

3. Pengendapan Dengan Garam

Apabila terdapat garam-garam anorganik dalam presentasi tinggi dalam larutan protein maka kelarutan protein berkurang sehingga mengakibatkan pengendapan. Teori menyebutkan bahwa sifat itu terjadi karena kemampuan ion garam untuk terhidrasi sehingga berkompetisi dengan molekul protein untuk mengikat air.

Bahan :

- Larutan protein
- Larutan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- Reagen millon
- Reagen untuk uji biuret

Prosedur :

17
Jenuhkan 10 ml larutan protein dengan amonium sulfat. Untuk pekerjaan ini dilakukan : pertama, tambahkan sedikit garam tersebut, aduk hingga melarut. Tambahkan lagi sedikit amonium sulfat dan aduk lagi, kontinu sehingga sedikit garam tertinggal tidak terlarut. Apabila larutan jenuh, kemudian disaring. Uji kelarutan dari endapan di dalam air. Uji endapan dengan reagen Millon dan filtrat dengan uji Biuret.

Pertanyaan :

1. Bahaslah hasil-hasilnya!



Gambar 20. Pengendapan dengan garam

4. Uji Koagulasi

Bahan :

- Asam asetat 1 M
- Larutan protein
- Reagen Millon
- H₂O

Prosedur :

Tambahkan 2 tetes HOAc 1 M ke dalam 5 ml larutan protein. Letakkan tabung dalam air mendidih selama 5 menit. Ambil endapan dengan batang pengaduk. Uji kelarutan endapan di dalam air. Uji endapan dengan reagen Millon.

Pertanyaan :

1. Mengapa ditambahkan asam?
2. Protein apa yang menggumpal pada pendidihan?



Gambar 21. Koagulasi Protein

5. Pengendapan Dengan Alkohol

Lakukanlah prosedur pada tabel berikut ini

Tabung	1	2	3
Sampel (lihat di aplikasi)	5 ml	5 ml	5 ml
HCl 0,1 M	1 ml	-	-
NaOH 0,1 M	-	1 ml	-
Buffer asetat, pH 4,7	-	-	1 ml
Etil alkohol 95%	6 ml	6 ml	6 ml

Tabung-tabung mana yang menunjukkan protein yang tidak larut. Apakah kelarutan sampel protein pada titik isoelektriknya?



Gambar 22. Pengendapan dengan Alkohol

6. Denaturasi Protein

Bahan :

- Larutan albumin
- Buffer asetat pH 4,7 (1 M)
- HCl 0,1 M
- NaOH 0,1 M

Prosedur :

Tabung	1	2	3
Sampel (lihat di aplikasi)	9 ml	9 ml	9 ml
Buffer asetat pH 4,7 (1 M)	-	-	1 ml
HCl 0,1 M	1 ml	-	-
NaOH 0,1 M	-	1 ml	-

Tempatkan ketiga tabung dalam air mendidih selama 15 menit dan dinginkan pada temperatur kamar. Dalam tabung mana yang kelihatan mengendap?. Untuk tabung (1) dan (2) tambahkan 10 ml buffer asetat pH 4,7. Tulislah hasilnya.

Pertanyaan :

1. Sifat fisik apa dari protein yang mempengaruhi kelarutan dari protein dalam percobaan
2. Metode lain apakah yang digunakan untuk denaturasi protein ?
3. Perubahan kimia apa yang berhubungan dengan denaturasi telur?



Gambar 23. Denaturasi Protein

7. Uji Sulfur Dalam Protein

Bahan :

- "Fusion mixture" (3 bagian natrium karbonat anhidris dengan 2 bagian kalium nitrat).
- Albumin telur
- HCl
- Larutan BaCl₂

Prosedur :

Campur 0,5 gram serbuk albumin dengan dua kali berat dari fusion mixture. Panaskan dalam cawan porselin sampai tak berwarna. Dinginkan dan dilarutkan dalam air panas. Saring jika perlu. Asamkan filtrat dengan HCl. Panaskan hingga mendidih dan tambahkan beberapa tetes larutan BaCl₂.

Pertanyaan :

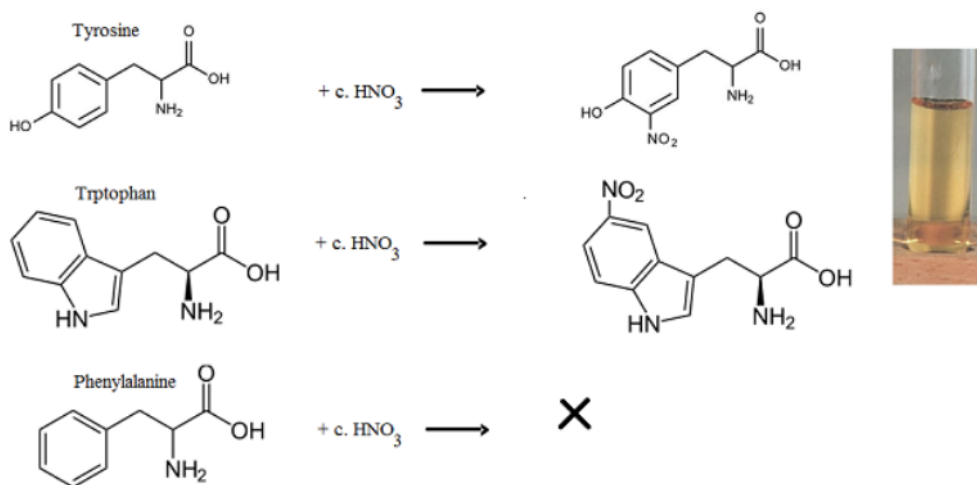
1. Mengapa protein memberikan uji positif untuk sulfur?
2. Unsur-unsur apa yang biasa ada dalam protein tetapi tidak ada dalam lipid dan karbohidrat?



Gambar 24. Uji Sulfur positif (endapan hitam)

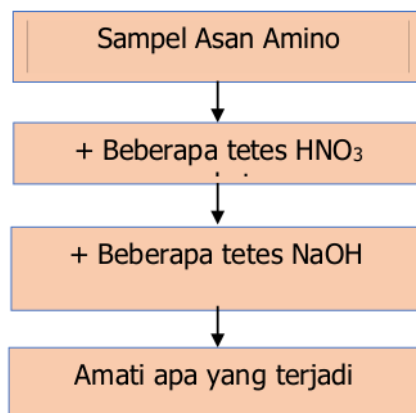
8. Uji Xanto Protein

Protein yang mengandung asam amino inti aromatik memberikan warna kuning setelah pemanasan dengan HNO_3 pekat. Garam dari turunan ini berwarna oranye. Larutan HNO_3 bereaksi dengan cincin aromatik yang merupakan turunan dari benzena memberikan karakteristik reaksi nitrasi. Asam amino tirosin, dan triptofan mengandung cincin benzena aktif yang mudah di nitrasi menjadi senyawa berwarna kuning. Cincin aromatik fenil alanin tidak bereaksi dengan asam nitrat meskipun mengandung cincin benzena, tetapi tidak diaktifkan sehingga tidak akan bereaksi.

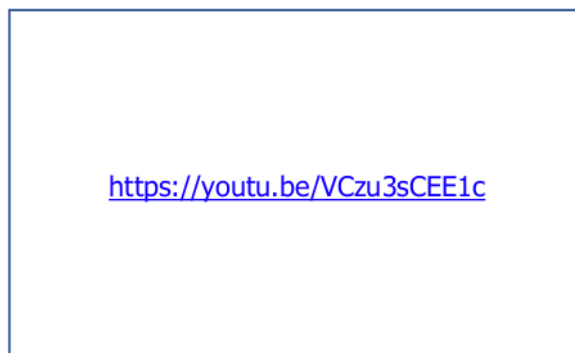


Kedalam beberapa tabung tabung reaksi (sesuai dengan sampel percobaan), tambahkan 0,5 ml masing-masing larutan protein kemudian tambahkan beberapa tetes HNO_3 pekat. Bandingkan warna dengan yang diberikan oleh blangko

menggunakan air sebagai gantinya. Sekarang dinginkan di bawah keran dan dengan hati-hati tambahkan 5 tetes 10M NaOH untuk membuat larutan menjadi sangat basa. Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.









Contoh Uji Xanto Protein



Gambar 25. Video Uji Xanto Protein
Sumber: <https://youtu.be/VCzu3sCEE1c>





Berikut hasil pengamatan beberapa sampel dari uji protein dapat di lihat dibawah ini.

No.	Uji Protein	Sampel Protein	Pengamatan
1.	Uji biuret	Susu	Sampel susu (putih) + larutan NaOH (TB) + larutan CuSO ₄ (biru) → larutan berwarna ungu muda Menunjukkan reaksi positif 
		Putih telur	Sampel putih telur (putih) + larutan NaOH (TB) + larutan CuSO ₄ (biru) → larutan berwarna ungu (pekat) Menunjukkan reaksi positif 
		Tepung kacang	Sampel tepung kacang (putih) + larutan NaOH (TB) + larutan CuSO ₄ (biru) → larutan berwarna ungu muda Menunjukkan reaksi positif 
		Ikan	Sampel ikan (putih) + larutan NaOH (TB) + larutan CuSO ₄ (biru) → larutan berwarna ungu (pekat) Menunjukkan reaksi positif

			
2.	Uji xantoprotein	Susu	Susu + HNO ₃ → Larutan Berwarna Kuning dan terbentuk cincin (Positif) 
		Gelatin	Gelatin + HNO ₃ → Larutan berwarna kuning (Negatif) 
		Putih telur	Putih telur + HNO ₃ → Larutan berwarna kuning jingga dan terbentuk cincin (Positif) 
3.	Uji koagulasi	Susu	Sampel susu (Putih) + 2 tetes larutan CH ₃ COOH (Tidak Berwarna) <u>dipanaskan</u> , Endapan Putih

			 <p>Endapan putih +air(Tidak Berwarna) Hasil Endapan putih tidak larut</p>  <p>Endapan Putih + Reagen millon (Tidak Berwarna) → Endapan berwarna merah bata</p> 
		Putih telur	<p>Sampel putih telur (Tidak Berwarna) +2 tetes larutan CH_3COOH (Tidak Berwarna) dipanaskan Endapan Putih</p>  <p>Endapan putih + air (TB) → Endapan Putih tidak larut</p>

			 <p>Endapan Putih + Reagen millon (TB) → Endapan berwarna merah bata</p> 
		Ikan	<p>Sampel larutan ikan (TB) + 2 tetes CH₃COOH (TB) <u>dipanaskan</u> → Endapan Putih</p>  <p>Endapan putih + air (TB) → Endapan Putih tidak larut</p>  <p>Endapan Putih + Reagen millon (TB) → Endapan berwarna merah bata</p>

			
		Gelatin	<p>Gelatin (TB) + 2 tetes CH_3COOH (TB) dipanaskan \rightarrow terbentuk endapan</p>  <p>Endapan + air \rightarrow endapan putih tak larut</p>  <p>Endapan + reagen millon \neq tidak terdapat endapan merah bata</p> 

a. Aplikasi¹

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan kualitatif protein. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 2 Uji Kualitatif Protein

No	Uji Protein	Sampel Protein
1	Uji Biuret	Susu, Putih telur, Tepung kacang, Ikan
2	Uji Xantoprotein	Susu, Gelatin, Putih telur
3	Uji Pengendapan dengan Alkohol	Susu, Putih telur, Ikan, Gelatin
4	Uji Pengendapan dengan Garam	Susu, Gelatin, Putih telur
5	Uji Koagulasi	Susu, Gelatin, Putih telur

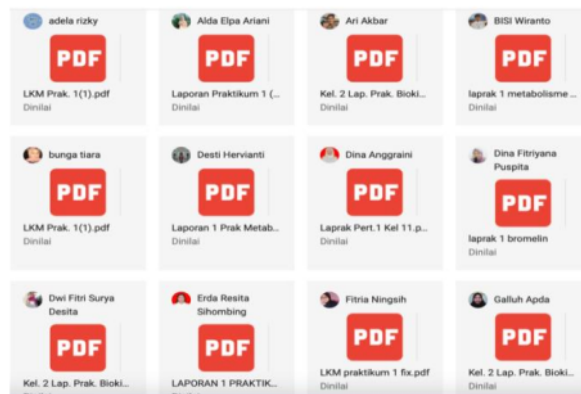
Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchronus WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom

metting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

a. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 2 dan 3 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 2 dan 3.



Gambar 26. Submit Laporan 2 dan 3 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹³ Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- Jane, S. 2014. *Biurets test proteins*. <https://youtu.be/L4Rjpp8x9-A>. di akses pada tanggal 7 Oktober 2020
- Koffuor, G. 2012. *Xanthoproteic Test - Colour Reaction of Proteins*. <https://youtu.be/VCzu3sCEE1c>. di akses pada tanggal 7 Oktober 2020
- ⁷ Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Pharma Digest Channel. 2018. *Ninhydrin Test*. <https://youtu.be/b8dHXanlzX0>. diakses pada tanggal 21 september 2020.
- Pharma Digest Channel. 2018. *Millon's Test*. <https://youtu.be/WaSCcl7SdaM>. diakses pada tanggal 21 september 2020.
- Pharma Digest Channel. 2018. *Xanthoproteic Test*. <https://youtu.be/s2Qq2F54wr4>. diakses pada tanggal 21 september 2020.
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- ⁵ Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

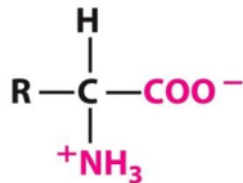
3. Kurva titrasi Asam Amino

1 Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah Mahasiswa menguasai prinsip-prinsip K3 (Keselamatan dan Keamanan Kerja), pengelolaan laboratorium dan teknologi penggunaan peralatan dan instrumen kimia serta penanganan terhadap isu lingkungan, sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah Mahasiswa menguasai prinsip-prinsip K3 pengelolaan laboratorium dan teknologi penggunaan peralatan dan instrument kimia (Sub-CPMK3). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

Titrasi atau titrimetri mengacu pada analisa kimia kuantitatif yang dilakukan dengan menetapkan volume suatu larutan yang konsentrasinya diketahui dengan tepat, yang diperlukan untuk bereaksi secara kuantitatif dengan larutan dari zat yang akan dianalisis. Larutan dengan konsentrasi yang diketahui tersebut disebut larutan standar. Kurva titrasi diperoleh ketika pH dari volume tertentu dari larutan sampel yang bervariasi setelah penambahan asam atau alkali. Asam amino adalah senyawa organik yang memiliki gugus fungsional karboksil (COOH) dan amina (NH₂). Gugus karboksil memberikan sifat asam dan gugus amina memberikan sifat basa. Dalam bentuk larutan asam amino bersifat amfoter atau cenderung menjadi asam pada larutan basa dan menjadi basa pada larutan asam. Perilaku ini terjadi karena asam amino mampu menjadi zwitter ion. Asam amino termasuk golongan

senyawa yang paling banyak dipelajari karena salah satu fungsinya sangat penting dalam organisme yaitu sebagai penyusun protein. Kurva titrasi memberikan gambaran akan muatan listrik asam amino dimana terdapat hubungan total muatan listrik dengan pH larutan, misalnya asam amino alanin pada pH 6,02 yaitu titik balik diantara kedua tahap titrasi, Alanin terdapat sebagai bentuk dipolar atau zwitterion yang bersifat mengion dengan medan listrik, pH yang sifatnya khas inilah yang disebut dengan pH isoelektrik yaitu rata-rata dari nilai Pk' . Pada setiap pH di atas isoelektrik alanin mempunyai muatan negatif dan karenanya akan bergerak ke arah elektroda positif (anoda) jika ditempatkan pada suatu medan listrik. Pada setiap pH dibawah titik isoelektrik Alanin mempunyai muatan positif dan akan bergerak menuju elektroda negatif katoda. Semakin jauh pH larutan Alanin dari titik isoelektriknya semakin besar muatan listrik total molekul Alanin. Berikut ini struktur zwitterion asam amino, dan harga pK asam amino.

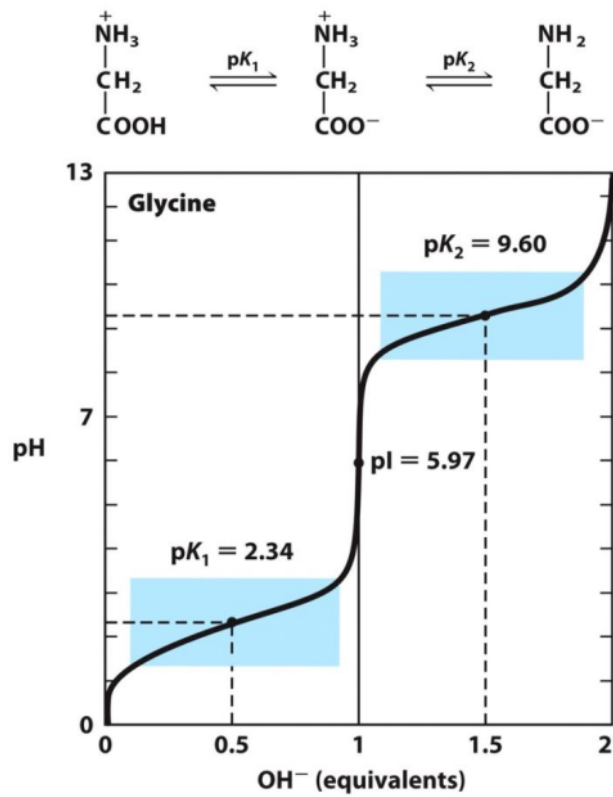


Gambar 27. Zwitterion

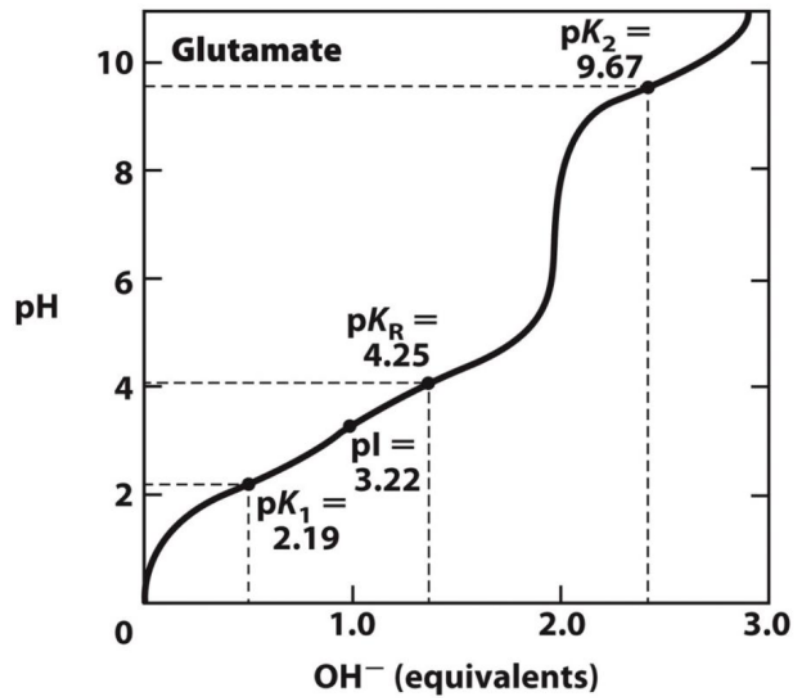
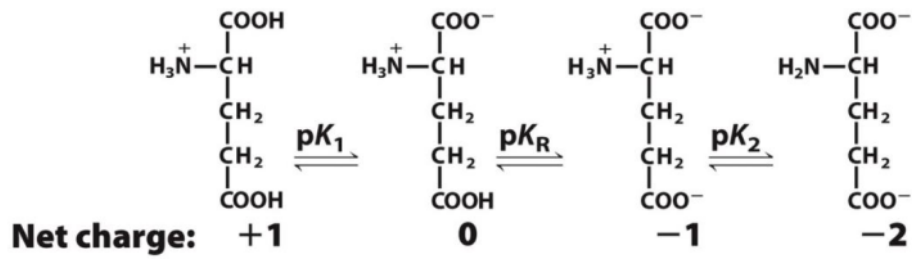
Amino acid	Abbreviation/ symbol	M_r^*	pK_a values			pI	Hydropathy index [†]	Occurrence in proteins (%) [‡]
			pK_1 (-COOH)	pK_2 (-NH ₃ ⁺)	pK_R (R group)			
Nonpolar, aliphatic R groups								
Glycine	Gly G	75	2.34	9.60		5.97	-0.4	7.2
Alanine	Ala A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8
Proline	Pro P	115	1.99	10.96		6.48	-1.6	5.2
Valine	Val V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6
Leucine	Leu L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1
Isoleucine	Ile I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3
Methionine	Met M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3
Aromatic R groups								
Phenylalanine	Phe F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9
Tyrosine	Tyr Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	-1.3	3.2
Tryptophan	Trp W	204	2.38	9.39		5.89	-0.9	1.4
R groups								
Serine	Ser S	105	2.21	9.15		5.68	-0.8	6.8
Threonine	Thr T	119	2.11	9.62		5.87	-0.7	5.9
Cysteine [†]	Cys C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9
Asparagine	Asn N	132	2.02	8.80		5.41	-3.5	4.3
Glutamine	Gln Q	146	2.17	9.13		5.65	-3.5	4.2
Positively charged R groups								
Lysine	Lys K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	-3.9	5.9
Histidine	His H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	-3.2	2.3
Arginine	Arg R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	-4.5	5.1
Negatively charged R groups								
Aspartate	Asp D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	-3.5	5.3
Glutamate	Glu E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	-3.5	6.3

Sumber: Lehninger (2013)

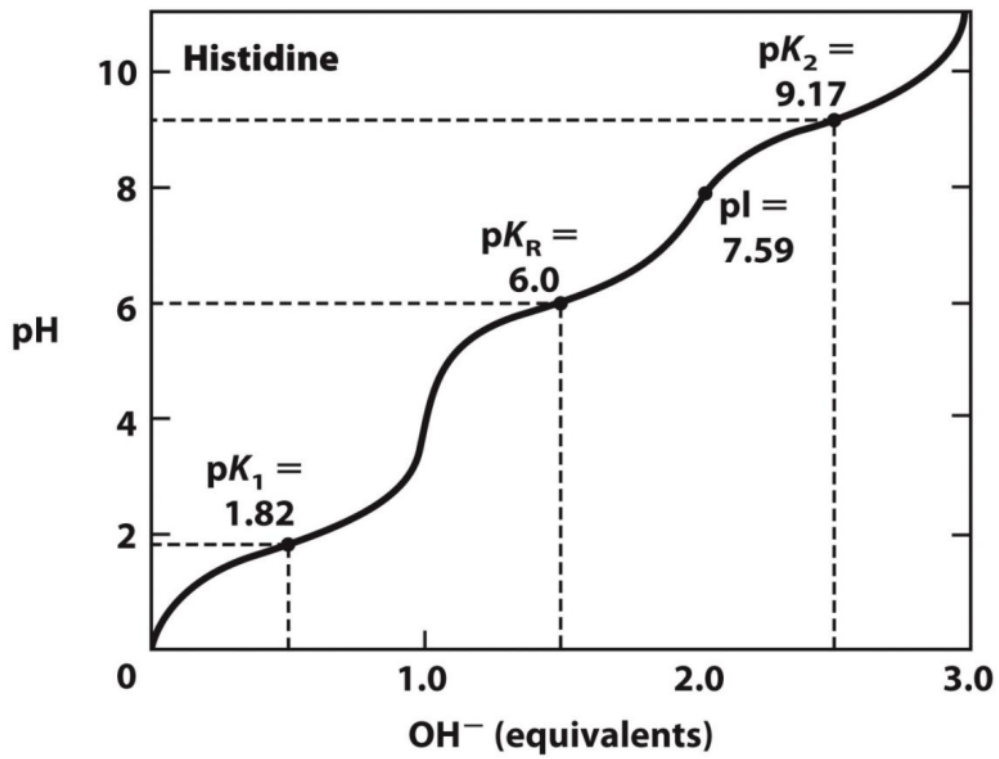
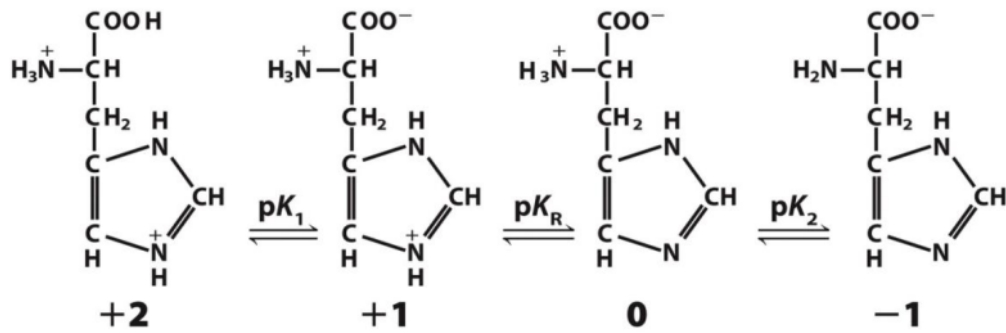
Kurva titrasi asam amino glisin dengan NaOH dapat di lihat pada garfik berikut.



Sedangkan kurva titrasi asam amino asam glutamat dengan NaOH dapat di lihat pada garfik berikut.



Selanjutnya kurva titrasi asam amino asam histidin dengan NaOH dapat di lihat pada garfik berikut.



b. Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian analisislah kurva titrasi asam amino bersama kelompok saudara bagaimana perubahan muatan asam amino terjadi pada saat titrasi dilakukan, kapan zwitter ion dapat terbentuk.

1

c. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan titrasi asam amino glisin.

Prosedur Percobaan

- 1) Kalibrasi pH meter menggunakan larutan standar buffer
- 2) Lepaskan tutup elektroda dan cuci elektroda dengan aquades
- 3) Letakkan elektroda kembali pada penyangga pH meter dan bersihkan bohlam pada elektroda menggunakan tissue untuk menghilangkan air yang berlebih
- 4) Kalibrasi pH meter dengan menekan tombol 'cal' pada alat dan celupkan elektroda ke dalam larutan standar buffer dengan pH 4
- 5) Catat angka yang ditampilkan pada pH meter yang seharusnya sekitar 4,05
- 6) Lepaskan elektroda dari larutan standar buffer dengan pH 4 dan cuci elektroda dengan menggunakan aquades dan bersihkan elektroda menggunakan tissue setelah diletakkan kembali pada penyangga
- 7) Lakukan langkah yang sama sambil mencelupkan elektroda ke dalam larutan standar buffer dengan pH 7 dan pH 10
- 8) Catat angka yang ditampilkan pada pH meter yaitu 7,00 dan 10,02
- 9) Pipet 20 ml larutan glisin 0,1 M dan pindahkan ke dalam gelas beker 100 ml
- 10) Letakkan gelas beker yang berisi glisin 0,1 M di atas magnetic stirrer lalu
Celupkan pengaduk magnet batangan dan elektroda pH meter

- 11) Saat pengadukan, tekan tombol 'enter' pada pH meter dan catat pH nya
- 12) Tambahkan HCl 0,1 M ke dalam buret lalu jepit buret tersebut
- 13) Tambahkan alikuot 0,3 ml HCl ke dalam gelas beker yang mengandung gylisin 0,1 M
- 14) Pembacaan pH dicatat setelah tiap penambahan HCl hingga nilai pH menjadi 1,6
- 15) Hentikan pengadukan dan lepas elektroda dari larutan penyangga lalu cuci dengan aquades
- 16) Pipet 20 ml larutan gylisin 0,1 M dan pindahkan ke dalam gelas beker 100 ml
- 17) Letakkan gelas beker diatas magnetic stirrer dan catat pH nya
- 18) Jepit buret yang mengandung NaOH 0,1 M pada statif dan secara perlahan tambahkan alikuot 0,3 ml NaOH ke dalam gelas beker yang mengandung gylisin 0,1 M
- 19) Pembacaan pH dicatat setelah tiap penambahan NaOH hingga nilai pH menjadi sehingga 12
- 20) Gambar kurva titrasi menggunakan nilai yang diperoleh dari percobaan

Adapun diagram alirnya adalah sebagai berikut.



Alat dan Bahan:

a. Alat yang digunakan

- 1) pH meter
- 2) Buret
- 3) Statif
- 4) Magnetic stirrer
- 5) Gelas beker
- 6) Gelas ukur
- 7) Batang pengaduk

b. Bahan yang digunakan:

- 1) 0,1 M HCl
- 2) 0,1 M NaOH
- 3) 01 M Glysin
- 4) Larutan standar buffer dan diberi label pH=4; pH=7; pH=10
- 5) Aquades
- 6) Tissue

Contoh titrasi glisin dengan NaOH



<https://youtu.be/2vInVzyXluo>

Gambar 27. Video Uji Kurva Titrasi
Sumber: <https://youtu.be/2vInVzyXluo>

d. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan titrasi asam amino glisin. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 3 Uji Kualitatif Protein

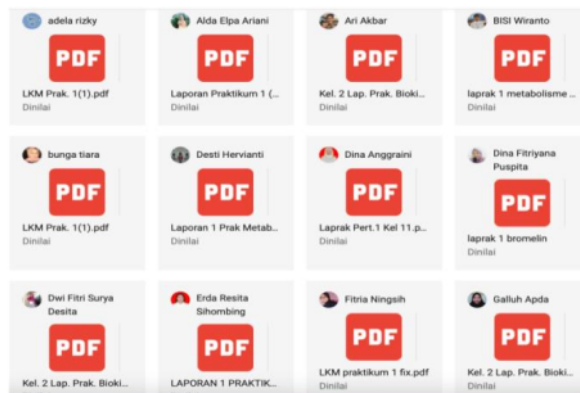
No.	Percobaan	Sampel
1.	Titration	Glysin Titrasilah 0,1M Glysin 20 mL dengan larutan NaOH 0,1M hingga pHnya lebih dari 12. Catatlah Volume titran setiap perubahan pH. Gambarkan curva titrasinya.

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchronous WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau synchronous daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

1 e. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 4 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 4.



Gambar 28. Submit Laporan 4 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹³ Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- Amrita University. 2013. *Titration Curves of Aminoacids*. <https://youtu.be/2vInVzyXluo>. di akses pada tanggal 7 Oktober 2020
- Permana, S. *Titration Potensiometri*. <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwivLH57LPxAhUEIbcAHYRYD8AQFjABegQIAxAD&url=https://repository.ut.ac.id/2F4682%2F2%2FPEKI4420-M1.pdf&usg=AOvVaw0No5xSYXPAwBzCqXxZ9MI>. di akses pada tanggal 2 Juni 2021
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- ⁷ Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- ⁵ Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

4. Titrasi Formal Asam Amino

1 Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah Mahasiswa menguasai prinsip-prinsip K3 (Keselamatan dan Keamanan Kerja), pengelolaan laboratorium dan teknologi penggunaan peralatan dan instrumen kimia serta penanganan terhadap isu lingkungan (CPMK2), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah mahasiswa menguasai prinsip-prinsip K3 pengelolaan laboratorium dan teknologi penggunaan peralatan dan instrumen kimia (Sub-CPMK3). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

Selama hidrolisa suatu protein, sejumlah gugus karboksil dan amino bertambah terus. Penentuan kuantitatif salah satu gugus tersebut akan merupakan petunjuk yang baik untuk mengetahui derajat hidrolisanya. Menurut teori "zwitterion", kalau satu asam amino dalam larutan dititrasi dengan basa, ini berarti ion hidrogen dari gugusan ammonium yang dititrasi. Karena gugus ammonium dari asam amino adalah buffer pada daerah pH tinggi di atas pH 11, karenanya tak mungkin untuk mentitrasinya pada titik akhir suatu indikator. Hal yang sama terjadi, karena gugus karboksil adalah buffer pada daerah pH rendah, tidak mungkin juga untuk mentitrasinya dengan asam. Oleh karena itu ditambahkan formaldehid pada larutan asam amino tersebut agar bereaksi dengan gugus amino yang tak bermuatan hingga memungkinkan gugus ammonium

membuffer di daerah pH yang lebih rendah dan dapat dititrasi pada titik akhir suatu indikator secara kuantitatif.

b. Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian bahaslah titrasi formal asam amino bersama kelompok saudara. Bahaslah dengan berbagai jurnal berbagai jenis titrasi asam amino, apa kelebihan dan kekurangannya.

1 c. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan titrasi formal asam amino.

Prosedur Percobaan

5 Siapkan 100 ml larutan gelatin 5%. Atur temperatur 38°C. Tambahkan ke dalamnya 1 ml phenolphthalein dan 0,2 M NaOH tetes demi tetes sampai warna merah muda timbul. Tambahkan 0,1 M HCl tetes demi tetes sampai tepat warna merah muda tadi hilang (pH = 8,0). Hati-hati jangan terlalu asam. Masukkan gelatin yang telah dinetralisir tadi ke dalam inkubator 38°C. Pada 25 ml larutan tripsin tambahkan beberapa tetes phenolphthalein. Tambahkan tetes demi tetes 0,2 M NaOH sampai warna merah muda. Kemudian teteskan 0,1 M HCl sampai warna tersebut tepat hilang (pH = 8,0). Tepat pada jam "NOL" tambahkan larutan tripsin tersebut ke dalam gelatin. Aduk! Setelah tercampur rata, ambil 10 ml campuran, masukkan ke dalam 100 ml beaker gelas. Didihkan untuk merusak enzim.

Catat waktunya! Dinginkan. Tambahkan 15 ml formalin netral dan 3 tetes phenolphthalein. Pada interval 15 menit lakukan hal yang sama seperti di atas (seperti Kontrol). Semua ini dilakukan duplo. Pada masing-masing hasil reaksi di atas (interval 0, 15, 30, 60, 90, dan 120 menit) lakukan titrasi dengan 0,02 M NaOH dengan titik akhir warna merah muda.

Alat dan Bahan:

Alat yang digunakan

1. Incubator
2. pH Meter
3. Erlemeyer
4. Gelas ukur
5. Stopwatch

Bahan Yang digunakan

1. Larutan gelatin 5%
2. NaOH 0,2 M
3. Phenolphthalein
4. HCl 0,1 M
5. Formaldehid 40%, netralkan dengan alkali!
6. Larutan trypsin atau pcreatin 1%

b. Aplikasi¹

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan titrasi asam amino glisin. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 4 Titrasi Formal Asam Amino

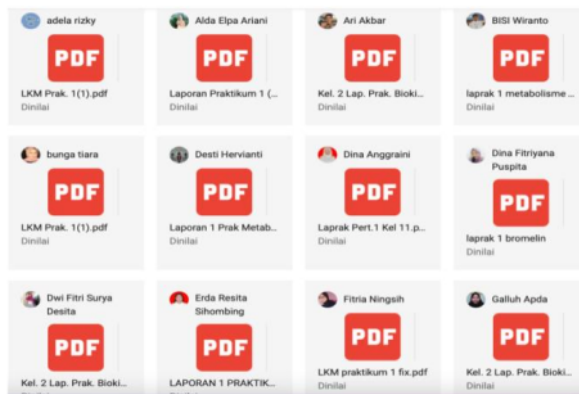
No.	Percobaan	Sampel
1.	Titrasi Formal Asam Amino	Larutan Gelatin 5%

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchrone WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

c. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 5 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 5.



Gambar 29. Submit Laporan 5 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹³ Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- ⁷ Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- ⁵ Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

5. Penentuan Kadar Protein Secara Biuret

6 Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah Mahasiswa Mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah Mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

11 Pengukuran kadar protein dapat dilakukan dengan metode biuret karena metode ini didasarkan pada pengukuran serapan cahaya berwarna ungu dari protein yang bereaksi dengan pereaksi biuret dimana yang membentuk kompleks adalah protein dengan ion Cu^{2+} yang terdapat dalam pereaksi biuret dalam suasana basa. Semakin tinggi intensitas cahaya yang diserap oleh spektrofotometer maka semakin tinggi pula kandungan protein yang terdapat dalam zat tersebut. Keuntungan dari metode biuret ini adalah bahan yang digunakan relatif murah akan tetapi kelemahan dari metode ini adalah sensitivitas terhadap bahan yang diidentifikasi rendah sehingga diperlukan bahan dalam jumlah yang tidak sedikit. Protein standar yang digunakan adalah BSA (Bovine Serum Albumin) atau albumin serum sapi. Albumin merupakan salah satu jenis

protein globuler yang larut dalam air dan terkoagulasi oleh panas. BSA berfungsi untuk membuat kurva standar. BSA digunakan karena stabilitas untuk meningkatkan sinyal dalam tes, kurangnya efek dalam reaksi biokimia, dan biaya rendah, karena jumlah besar maka dapat segera dimurnikan dari darah sapi, produk sampingan dari industri ternak. Uji biuret merupakan suatu metode pengujian untuk mengidentifikasi keberadaan ikatan peptida. Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya berwarna ungu pucat atau ungu muda. Reaksi positif diperoleh jika sampel yang digunakan mengandung lebih dari dua ikatan peptida seperti protein. Warna ungu muncul karena Cu^{2+} dengan nitrogen pada ikatan peptida protein sehingga membentuk senyawa kompleks. Pengukuran nilai absorbansi larutan standar dan larutan sampel menggunakan spektrofotometer. Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Prinsipnya adalah pengukuran serapan cahaya oleh ikatan kompleks berwarna ungu yang terjadi bila protein bereaksi dengan ion Cu^{2+} dalam suasana basa. Penyerapan cahaya oleh protein terutama disebabkan oleh ikatan peptida residu tirosin, triptofan dan fenilalanin. Penyerapan maksimum albumin serum manusia terlihat pada panjang gelombang kira-kira 230 nm/peptida dan dengan puncak lebar pada 280 nm karena serapan residu-residu asam amino aromatik.

b. Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah bahan pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara bagaimana menentukan kandungan protein bahan pangan tersebut. Bahaslah berdasarkan

refrensi jurnal metode yang dapat digunakan untuk menentukan kandungan protein bahan pangan tersebut pada organisme hidup.

1 **c. Penstrukturan Ide**

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan penentuan kadar protein secara biuret.

Prosedur percobaan

1) Pembuatan larutan standar protein (BSA)

Larutan BSA dibuat dengan melarutkan 200 mg BSA ke dalam 50 ml aquades.

Konsentrasi hasil larutan BSA adalah 5mg/ml

2) Pembuatan reagen biuret

0,75 gram tembaga sulfat dan 2,25 gram natrium kalium tartarat dilarutkan dalam 125 ml NaOH 0,2 N. lalu tambahkan 1,25 gram kalium iodida dan volume larutan akhirnya naik menjadi 200mL dengan 0,2 N NaOH.

3) Prosedur percobaan

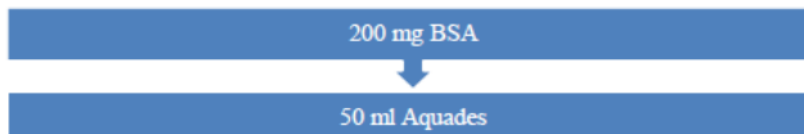
Ke dalam 6 tabung reaksi tambahkan larutan standar BSA 0 ml; 0,4 ml; 0,8 ml; 1,2 ml; 1,6 ml dan 2 ml. Selanjutnya, tambahkan 2 ml; 1,6 ml; 1,2 ml; 0,8 ml; 0,4 ml dan 0 ml aquades ke dalam tabung reaksi. Lalu ke dalam semua tabung reaksi, tambahkan 3 ml reagen biuret. Diamkan tabung reaksi selama 10 menit dalam temperatur ruangan. Kemudian absorbansi untuk masing-masing larutan

pada 520 nm. Campuran reaksi yang mengandung 0 ml BSA digunakan sebagai blanko. Kemudian catat absorbansi dan gambar grafik absorbansi terhadap jumlah atau konsentrasi masing-masing protein.

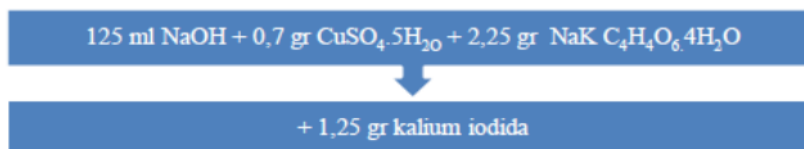
Adapun diagram alirnya adalah sebagai berikut.

Diagram alir percobaan

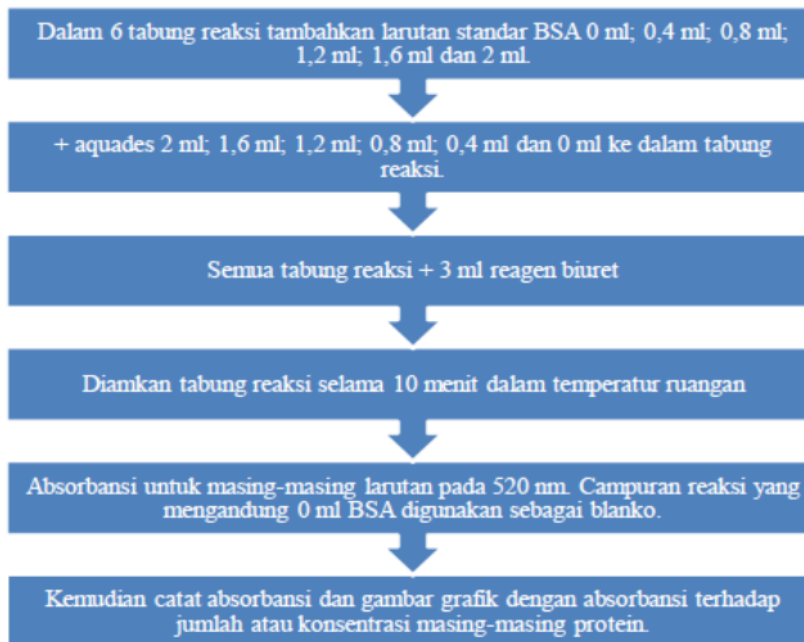
1) Persiapan larutan standar protein (BSA)



2) Persiapan reagen biuret



3) Prosedur percobaan



Alat dan Bahan

a. Alat yang digunakan

- 1) Gelas beker
- 2) Gelas ukur
- 3) Pipet tetes
- 4) Spektrofotometer

b. Bahan yang digunakan

- 1) Larutan protein standar (Bovine Serum Albumin)
- 2) Reagen biuret (tembaga sulfat, natrium kalium tartarat, natrium hidroksida, kalium iodida)
- 3) Aquades

Contoh Penentuan kadar protein secara Biuret



<https://youtu.be/PkcYEzPbxNk>

Gambar 30. Video Uji protein secara Biuret
Sumber: <https://youtu.be/PkcYEzPbxNk>

d. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan penentuan kadar protein secara Biuret. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 5 Percobaan Penentuan Kadar Protein secara Biuret

No	Volume BSA	Volume dH ₂ O	Volume Biuret	Volume Total
1	0	2	3	5
2	0,4	1,6	3	5
3	0,8	1,2	3	5
4	1,2	0,8	3	5
5	1,6	0,4	3	5
6	2	0	3	5

Perhatikan:

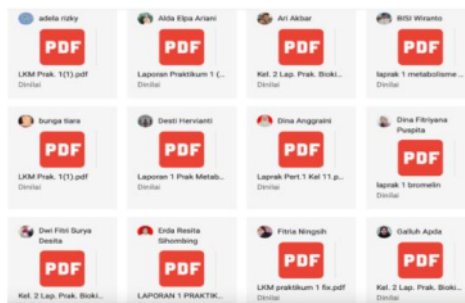
Jika sampel protein A yang belum diketahui konsentrasinya, di ukur pada panjang gelombang 520 nm diperoleh absorban = 0,400. Berapakah Konsentrasi Protein A tersebut?

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynronus WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting

adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

1 e. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 6 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*. Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 6.



Gambar 31. Submit Laporan 6 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹³ Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- EMRC Manipur University. 2018. *Protein estimation by Biuret method and lowry method*. <https://youtu.be/PkcYEzPbxNk>. di akses pada tanggal 15 Oktober 2020.
- Jubaidah, S., Nurhasnawati, H., Wijaya, H. 2016. Penetapan Kadar Protein Tempe Jagung (*Zea Mays L.*) Dengan Kombinasi Kedelai (*Glycine Max (L.) Merrill*) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(1), 111-119.
- ⁷ Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- ⁵ Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

6. Penentuan Kadar Protein Secara Lowry

Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

Metode Lowry dikembangkan pada tahun 1951 dengan menggunakan reagen pendeteksi Folin-ciocalteu. Reagen ini biasa digunakan untuk mendeteksi gugus-gugus fenolik. Dalam keadaan basa, ion tembaga divalen (Cu^{2+}) dengan ikatan peptida yang mereduksi Cu^{2+} menjadi tembaga monovalen (Cu^{+}). Dalam Analisa protein reagen Folin-Ciocalteu dapat mendeteksi residu oksidasi dimana gugus fenolik tirosin akan mereduksi fosfotungstat dan fosmolibdat yang terdapat pada reagen tersebut menjadi tungsten dan molibden yang berwarna biru. Hasil reduksi ini dapat dianalisa lebih lanjut dengan melihat puncak absorpsi yang lebar pada daerah panjang gelombang sinar tampak (600-800nm). Keuntungan metode lowry adalah lebih sensitif (100 kali) daripada metode biuret sehingga memerlukan sampel protein yang lebih sedikit. Batas deteksinya berkisar pada konsentrasi 0,01 mg/L. Namun metode Lowry lebih banyak interferensinya akibat kesensitifannya. Metoda ini dapat mengukur kandungan protein sampel yang rendah. Warna biru

yang terjadi oleh pereaksi Folin Ciocalteu disebabkan reaksi antara protein dengan ion kupri (Cu^{2+}) dalam larutan alkalis dan terjadi reduksi garam fosfomolibdat fosfotungstat oleh tirosin dan triptopan yang ada pada protein. Karena kandungan kedua macam asam amino tersebut bervariasi pada berbagai macam protein, maka intensitas warna yang ditimbulkan permiligram protein pun berbeda. Beberapa zat yang bisa mengganggu penetapan kadar protein dengan metode Lowry ini, diantaranya buffer, asam nuklet, gula atau karbohidrat, deterjen, gliserol, Tricine, EDTA, Tris, senyawa-senyawa kalium, sulfhidril, disulfida, fenolat, asam urat, guanin, xanthine, magnesium, dan kalsium. Interferensi agen-agen ini dapat diminimalkan dengan menghilangkan interferens tersebut. Sangat dianjurkan untuk menggunakan blanko untuk mengoreksi absorbansi. Interferensi yang disebabkan oleh deterjen, sukrosa dan EDTA dapat dieliminasi dengan penambahan SDS atau melakukan preparasi sampel dengan pengendapan protein.

b. Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah bahan pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara bagaimana menentukan kandungan protein bahan pangan tersebut. Bahaslah berdasarkan referensi jurnal metode yang dapat digunakan untuk menentukan kandungan protein bahan pangan tersebut.

c. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan penentuan kadar protein secara lawry.

Prosedur percobaan

a. Prosedur percobaan

Pembuatan Larutan A

Sebanyak 5 gram natrium karbonat (Na_2CO_3) dan 1 gram natrium hidroksida (NaOH) dilarutkan ke dalam 250 mL aquades untuk membuat larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) 2% dan larutan natrium hidroksida (NaOH) 0,4%.

Pembuatan Larutan B

1. Untuk menghasilkan 0,5% tembaga sulfat (CuSO_4) dibuat dengan melarutkan dengan 1 gram tembaga sulfat (CuSO_4) kedalam 200mL aquades.
2. Untuk membuat 1% natrium kalium tartarat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) dengan melarutkan dengan 2 gram natrium kalium tartarat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) kedalam 200mL aquades.
3. Larutan B dibuat dengan mencampurkan 0,5% tembaga sulfat (CuSO_4) dan 1% natrium kalium tartarat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) dengan perbandingan 1:1

Pembuatan Larutan C

Larutan C dibuat dengan mencampurkan 50 ml larutan A dan 1 ml larutan B. Larutan A dan larutan B dicampurkan dengan perbandingan 50:1. Larutan C harus disiapkan sebelum akan digunakan

Pembuatan Reagen Folin Cioclateu

Reagen folin cioclateu 1N diencerkan terlebih dahulu sebelum digunakan, yaitu dengan menambahkan 5 ml aquades ke dalam 5 ml reagen folin cioclateu

Pembuatan Larutan Standar BSA

Larutan standar BSA dibuat dengan melarutkan 100 mg BSA ke dalam aquades 100 ml. Larutan standar BSA memiliki konsentrasi 1 mg/ml

Pembuatan Larutan Standar BSA (250 µg/ml) :

2,5ml larutan standar BSA dengan konsentrasi 1mg/mL ditambahkan ke dalam 7,5 ml aquades. Konsentrasi Larutan BSA menjadi 250 µg/mL.

Prosedur Percobaan :

1. Kedalam 6 tabung reaksi tambahkan larutan standar BSA 0 ml; 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8ml dan 1 ml
2. Tambahkan 1 ml aquades kedalam masing-masing 6 tabung reaksi.
3. Tambahkan sebanyak 5 ml larutan C ke setiap tabung reaksi.
4. Tambahkan sebanyak 0,5mL reagen folin cioclateu ke setiap tabung reaksi.
5. Setiap tabung reaksi di diamkan pada suhu kamar selama 30 menit.
6. Ukurlah absorban pada panjang gelombang 660nm. Untuk campuran reaksi yang tidak mengandung protein digunakan sebagai blanko.
7. Catat absorbansinya dan buatlah grafik kurva standar antara absorban dan konsentrasi protein

Adapun diagram alirnya adalah sebagai berikut.

Diagram alir percobaan

- Pembuatan Larutan A

5 gr Na_2CO_3 dan 1 gr NaOH dilarutkan ke dalam 250 ml aquades

Na_2CO_3 2% dan NaOH 0,4%.

- Pembuatan Larutan B

1 gr CuSO_4 + 200 ml aquades

0,5% CuSO_4

2 gr $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + 200 ml aquades

1% $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

0,5% CuSO_4 + 1% $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (perbandingan 1:1)

Larutan B

- Pembuatan Larutan C

50 ml larutan A + 1 ml larutan B (Perbandingan 50:1)

- Pembuatan Reagen Folin Cioclateu

Encerkan 1N reagen folin cioclateu

5 mL reagen folin cioclateu + 5 ml aquades

- **Pembuatan Larutan Standar BSA**

100 mg BSA + aquades 100 ml

Konsentrasi Larutan Standar BSA yang dihasilkan sebesar 1 mg/ml

- **Pembuatan Larutan Standar BSA (250 µg/ml)**

2,5ml larutan standar BSA 1mg/ml + 7,5 ml aquades

Konsentrasi Larutan BSA menjadi 250 µg/mL.

- **Prosedur percobaan**

Kedalam 6 tabung reaksi tambahkan larutan standar BSA 0mL, 0,2mL, 0,4mL, 0,6mL, 0,8mL dan 1mL

+ 1 mL aquades kedalam masing-masing 6 tabung reaksi

+ 5 mL larutan C ke setiap tabung reaksi

+ 0,5 mL reagen folin cioclateu ke setiap tabung reaksi

Setiap tabung reaksi di diamkan pada suhu kamar selama 30 menit

Ukurlah absorbansi pada panjang gelombang 660 nm.

Catat absorbansinya dan buatlah grafik kurva standar antara absorbansi dan konsentrasi protein

Alat dan Bahan

a. Alat yang digunakan

1. Tabung Reaksi
2. Rak Tabung Reaksi
3. Pipet Tetes
4. Gelas Ukur
5. Beaker Gelas
6. Spektrofotometer

b. Bahan yang digunakan

1. CuSO_4 (Tembaga Sulfat)
2. NaOH (Natrium Hidroksida)
3. Na_2CO_3 (Natrium Karbonat)
4. Natrium Kalium Tartarat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) atau Garam Rochelle
5. Bovine Serum Albumin (BSA) : Albumin Serum Sapi
6. Reagen Folin Ciocalteu
7. Aquades

Contoh Penentuan kadar protein secara Lawry



<https://youtu.be/PkcYEzPbxNk>

Gambar 32 Video kadar protein secara Lawry
Sumber: <https://youtu.be/PkcYEzPbxNk>

d. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan penentuan kadar protein secara Lowry. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 6. Percobaan Penentuan Kadar Protein secara Lowry

No	Volume BSA	Volume dH ₂ O	Volume Larutan C	Volume Folin' Cio calteau	Volume Total
1	0	1	5	0,5	6,5
2	0,2	0,8	5	0,5	6,5
3	0,4	0,6	5	0,5	6,5
4	0,6	0,4	5	0,5	6,5
5	0,8	0,2	5	0,5	6,5
6	1,0	0	5	0,5	6,5

Perhatikan:

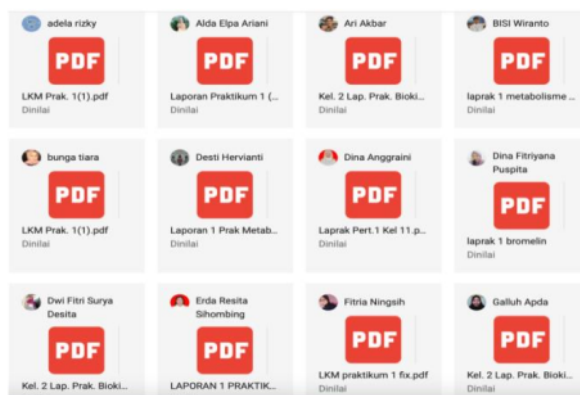
Jika sampel protein B yang belum diketahui konsentrasinya, di ukur pada panjang gelombang 660 nm diperoleh absorban = 0,170. Berapakah Konsentrasi Protein B tersebut?

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchronous WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

1 e. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 7 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 7.



Gambar 33. Submit Laporan 7 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹³ Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- EMRC Manipur University. 2018. *Protein estimation by Biuret method and lowry method*. <https://youtu.be/PkcYEzPbxNk>. di akses pada tanggal 15 Oktober 2020.
- ⁷ Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- ⁵ Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

7. Kromatografi lapis tipis asam amino

Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

Asam amino merupakan monomer yang menyusun polimer-polimer pada protein. Secara umum ada tiga gugus yang reaktif pada asam amino yaitu gugus karboksil, gugus amino dan gugus rantai samping. Ketiga gugus ini dapat diidentifikasi menjadi uji spesifik diantaranya adalah dengan melalui tes Ninhydrin dan sebagainya. Akan tetapi selain uji spesifik berdasarkan ciri khas reaksi kimianya asam amino dapat pula diidentifikasi atau dipisahkan dengan beberapa metode salah satunya adalah melalui kromatografi lapis tipis (KLT). Pemisahan asam amino dengan metode ini didasari oleh kemampuan suatu jenis asam amino yang terlarut dalam suatu campuran pelarut tertentu pada fasa stasioner atau yang lazim disebut sebagai fasa diam, dimana bila suatu zat terlarut yang terdistribusi dalam dua pelarut dengan volume yang sama dan tidak saling bercampur sehingga perbandingan konsentrasi zat terlarut di dalam kedua pelarut seimbang. Pada kromatografi lapis tipis, yang digunakan sebagai fasa stasioner adalah suatu

lembaran tipis silika gel. Untuk memperoleh pemisahan asam amino yang baik, dapat digunakan dua fase pelarut, dimana setiap jenis asam amino mempunyai koefisien partisi tertentu untuk pasangan pelarut tertentu. Perbandingan kecepatan perpindahan komponen dengan permukaan fasa mobile merupakan dasar untuk mengidentifikasi komponen-komponen yang dipisahkan. Oleh karena itu melalui percobaan ini akan dilakukan pengidentifikasian asam amino dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis mempunyai beberapa keuntungan jika dibandingkan dengan kromatografi kertas, diantaranya noda zat yang timbul sesudah di kromatografi tidak banyak melebar, jika dibandingkan dengan noda semula oleh sebab itu maka hanya sedikit zat saja yang diperlukan, juga tidak memerlukan waktu banyak.

Kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kertas tergolong ²metode kromatografi paling sederhana yang banyak digunakan. Peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel dengan metode KLT cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (chamber) yang berisi pelarut dan lempeng KLT. Dengan optimasi metode dan menggunakan instrumen komersial yang tersedia, pemisahan yang efisien dan kuantifikasi yang akurat dapat dicapai. Kromatografi planar juga dapat digunakan untuk pemisahan skala preparatif yaitu dengan menggunakan lempeng, peralatan, dan teknik khusus.

Pelaksanaan analisis dengan KLT diawali dengan menotolkan noda kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni) di dalam chamber. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen-komponen sampel bermigrasi dengan

kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan pengembangan kromatogram. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil, fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan, dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung (visual) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok.

Perbedaan migrasi merupakan hasil dari perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan fase gerak. Berbagai mekanisme pemisahan terlibat dalam penentuan kecepatan migrasi. Kecepatan migrasi komponen sampel tergantung pada sifat fisika kimia dari fase diam, fase gerak dan komponen sampel. Retensi dan selektivitas kromatografi juga ditentukan oleh interaksi antara fase diam, fase gerak dan komponen sampel yang berupa ikatan hidrogen, pasangan elektron donor atau pasangan elektron akseptor (transfer karge), ikatan ion-ion, ikatan ion-dipol, dan ikatan van der Waals.

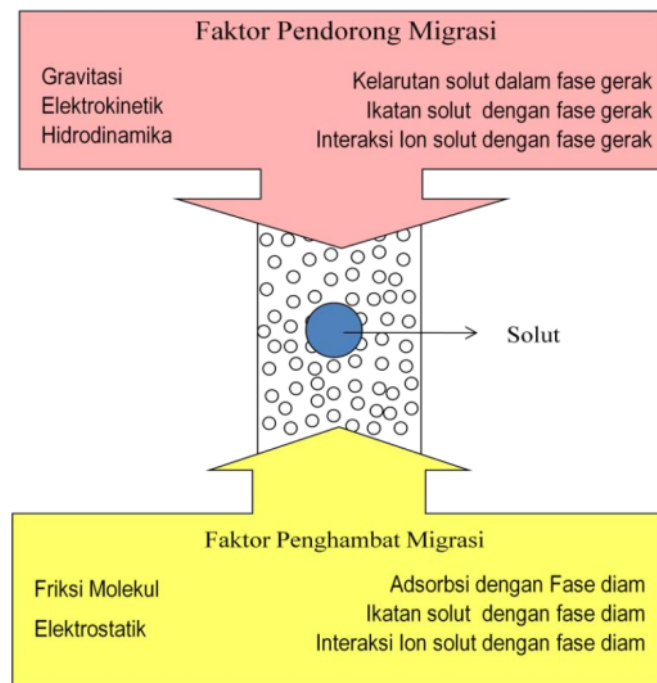
Pengambilan sampel, pengawetan, dan pemurnian sampel adalah masalah umum untuk KLT dan metode kromatografi lainnya. Sebagai contoh, pengembangan KLT biasanya tidak sepenuhnya melarutkan kembali analit yang berada dalam lempeng kecuali dilakukan pemurnian sebelumnya (clean up). Metode clean up paling sering dilakukan pada ekstraksi selektif dan kromatografi kolom. Dalam beberapa kasus zat/senyawa perlu dikonversi dahulu sebelum dianalisis dengan KLT. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan turunan senyawa yang lebih cocok untuk proses pemisahan, deteksi, dan / atau kuantifikasi. KLT dapat mengatasi sampel yang terkontaminasi, seluruh kromatogram dapat dievaluasi, mempersingkat proses perlakuan sampel sehingga hemat waktu dan

biaya. Kehadiran pengotor atau partikel yang terjerap dalam sorben fase diam tidak menjadi masalah, karena lempeng hanya digunakan sekali (habis pakai).

Deteksi senyawa menjadi mudah ketika senyawa secara alami dapat berwarna atau berfluoresensi atau menyerap sinar UV. Namun, perlakuan penambahan pereaksi penampak noda dengan penyemprotan atau pencelupan terkadang diperlukan untuk menghasilkan turunan senyawa yang berwarna atau berfluoresensi. Pada umumnya senyawa aromatik terkonjugasi dan beberapa senyawa tak jenuh dapat menyerap sinar UV. Senyawa-senyawa ini dapat dianalisis dengan KLT dengan fase diam yang diimpregnasi indikator fluoresensi dan deteksi dapat dilakukan hanya dengan pemeriksaan di bawah sinar UV 254 nm.

Pada KLT, identifikasi awal suatu senyawa didasarkan pada perbandingan nilai R_f dibandingkan R_f standar. Nilai R_f umumnya tidak sama dari laboratorium ke laboratorium bahkan pada waktu analisis yang berbeda dalam laboratorium yang sama, sehingga perlu dipertimbangkan penggunaan R_f relatif yaitu nilai R_f noda senyawa dibandingkan noda senyawa lain dalam lempeng yang sama. Faktor-faktor yang menyebabkan nilai R_f bervariasi meliputi dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan metode persiapan sampel KLT sebelumnya. Konfirmasi identifikasi dapat diperoleh dengan mengerok noda dalam lempeng kemudian analit dalam lempeng dielusi dan dideteksi dengan spektrometri inframerah (IR), spektrometri Nuclear magnetic resonance (NMR), spektrometri massa, atau metode spektrometri lain jika senyawa hasil elusi cukup tersedia. Metode identifikasi ini juga dapat menggunakan untuk menandai zona langsung pada lapisan (in situ).

2
 Pemisahan berdasarkan muatan ion dipengaruhi oleh jumlah ionisasi senyawa, pH lingkungan dan keberadaan ion lain. Pemisahan yang disebabkan oleh kompetisi senyawa-senyawa dalam sampel dengan sisi resin yang bermuatan sehingga terjadi penggabungan ion-ion dengan muatan yang berlawanan disebut kromatografi penukar ion. Pemisahan yang terjadi karena perbedaan arah dan kecepatan pergerakan senyawa- senyawa dalam sampel karena perbedaan jenis dan intensitas muatan ion dalam medan listrik disebut elektroforesis.



Gambar 34. Faktor-faktor yang dapat mendorong dan menghambat migrasi analit dalam kromatografi

Nilai Rf (Retardation Factor/ Rate of Flow)

Beberapa senyawa dalam campuran bergerak sejauh dengan jarak yang ditempuh pelarut; beberapa lainnya tetap lebih dekat pada garis dasar. Jarak tempuh relative pada pelarut adalah konstan untuk senyawa tertentu sepanjang anda menjaga segala sesuatunya tetap sama, misalnya jenis kertas dan komposisi pelarut yang tepat. Jarak relative pada pelarut disebut sebagai nilai Rf. Untuk setiap senyawa berlaku rumus sebagai berikut:

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak Yang Ditempuh Oleh Zat Terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Adapun nilai *Retardation Factor/ Rate of Flow* (Rf) berbagai asam amino (20 asam amino) dapat di lihat sebagai berikut.

Tabel 7. Nilai R_f Asam Amino

Amino acids	Abbreviations	Side-chain polarity	R _f
Histidine	His	polar	0.162
Isoleucine	Ile	nonpolar	0.515
Leucine	Leu	nonpolar	0.562
Lysine	Lys	polar	0.131
Methionine	Met	nonpolar	0.462
Phenylalanine	Phe	nonpolar	0.615
Threonine	Thr	polar	0.262
Tryptophan	Try	nonpolar	0.615
Valine	Val	nonpolar	0.439
Alanine	Ala	nonpolar	0.277
Arginine	Arg	polar	0.162
Asparagine	Asn	polar	0.215
Aspartic acid	Asp	polar	0.24
Cysteine	Cys	polar	0.362
L-Cystine	L-Cys	polar	0.139
Glutamic acid	Glu	polar	0.277
Glutamine	Gln	polar	0.223
Glycine	Gly	nonpolar	0.246
Proline	Pro	nonpolar	0.262
Serine	Ser	polar	0.254
Tyrosine	Tyr	polar	0.539
Hydroxyproline	Hyp	polar	0.426

f. Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah deteksi asam amino pada KLT, bahaslah bersama kelompok saudara bagaimana menentukan migrasi dari asam amino tersebut. Bahaslah berdasarkan referensi jurnal metode yang dapat digunakan pada percobaan kromatografi lapis tipis tersebut.

g. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan kromatografi lapis tipis asam amino.

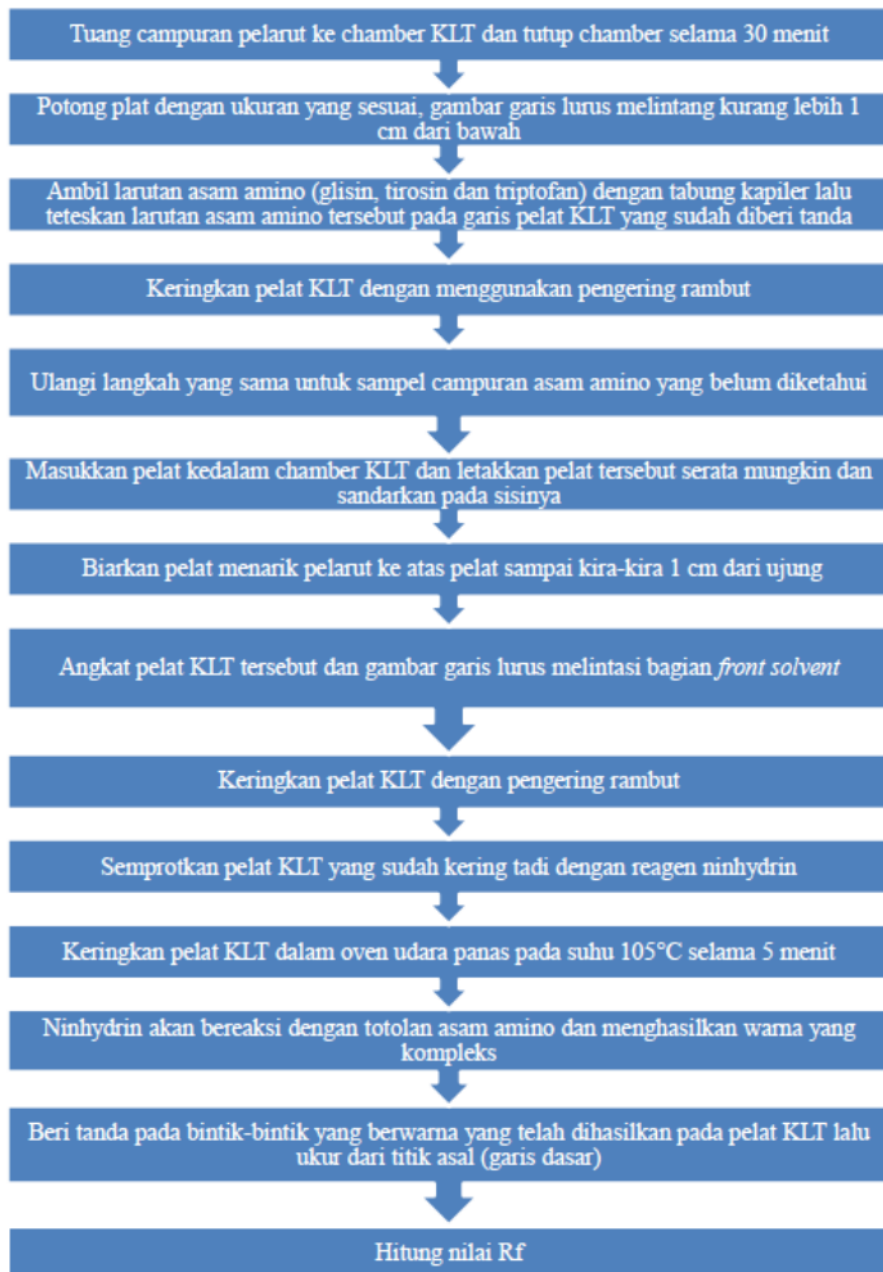
Prosedur percobaan

1. Tuang campuran pelarut ke Chamber KLT dan tutup chamber. Chamber tidak boleh diganggu selama kira-kira 30 menit agar atmosfer di dalam toples menjadi jenuh dengan uap pelarut
2. Potong plat dengan ukuran yang sesuai dan gunakan pensil, gambar garis lurus melintang kurang lebih 1 cm dari bawah
3. Ambil larutan asam amino (glisin, tirosin dan triptofan) dengan menggunakan tabung kapiler dan tuang setetes larutan asam amino tersebut pada garis pelat KLT yang sudah diberi tanda
4. Keringkan pelat KLT yang sudah ditetesi larutan glisin tadi dengan menggunakan pengering rambut
5. Ulangi langkah-langkah untuk sampel campuran asam amino yang tidak diketahui

6. Masukkan pelat kedalam chamber KLT dan letakkan pelat KLT tersebut serata mungkin dan sandarkan pada sisinya
7. Biarkan pelat menarik pelarut ke atas pelat sampai kira-kira 1 cm dari ujung
8. Angkat pelat KLT tersebut dan gambar garis lurus melintasi bagian front solvent (front solven adalah garis dimana pelarut berakhir pada plat)
9. Keringkan kembali pelat KLT dengan bantuan pengering rambut
10. Semprotkan pelat KLT yang sudah kering tadi dengan reagen Ninhydrin
11. Keringkan pelat KLT dalam oven pada suhu 105 C selama 5 menit (Ninhydrin akan bereaksi dengan totolan asam amino dan menghasilkan warna yang kompleks)
12. Beri tanda pada bintik-bintik yang berwarna yang telah dihasilkan pada pelat KLT lalu ukur bintik-bintik (warna yang dihasilkan pada pelat KLT) dari titik asal (garis awal)
13. Hitung nilai Rf

Adapun diagram alirnya adalah sebagai berikut.

b. Diagram Alir Percobaan



Alat dan Bahan

a. Alat yang digunakan

1. Pelat (Lembaran Kertas) KLT
2. Chamber KLT
3. Botol Semprot
4. Pengering Rambut

b. Bahan yang digunakan

1. Pelarut (Fase Gerak), yaitu campuran n-butanol, asam asetat dan aquades dengan perbandingan 12:3:5
2. 3 Asam amino yang diketahui (Tyrosin, Triptofan dan Glisin)
3. Campuran Asam amino yang tidak diketahui
4. Ninhydrin

Contoh Kromatografi Asam Amino

<https://youtu.be/tDaKxskUwA0>

Gambar 35. Video Kromatografi Asam Amino
Sumber: <https://youtu.be/tDaKxskUwA0>

h. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan kromatografi lapis tipis. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 8 Uji Asam Amino pada KLT

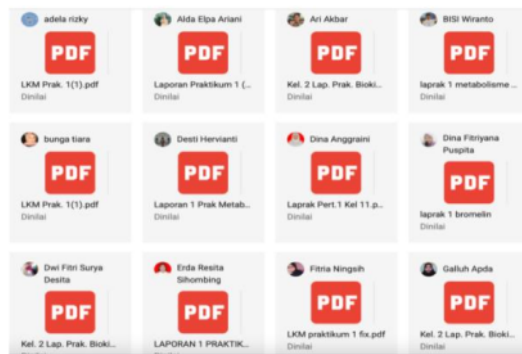
No	Sampel Asam Amino
1	Glysin
2	Triptofan
3	Tyrosin
4	A
5	B

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchronus WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

i. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 8 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 8.



Gambar 36. Submit Laporan 1 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹³ Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- Amrita University. 2011. Separation of Amino acids by TLC. <https://youtu.be/tDaKxskUwA0>. di akses pada tanggal 15 Oktober 2020.
- ⁷ Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- ⁵ Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

8. Isolasi kasein dari susu

Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

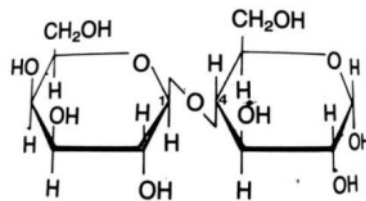
Susu merupakan sumber protein dengan mutu sangat tinggi. Susu merupakan bahan makanan penting karena mengandung kasein yang merupakan protein berkualitas dan mudah dicerna oleh saluran pencernaan. Kadar protein susu sapi sekitar 3,5%. Protein dalam susu dapat dibagi dalam dua kategori yaitu protein tidak larut dari kelompok kasein dan protein terlarut (protein whey), yang dapat dijumpai dalam laktoserum. Kadar kasein pada protein susu mencapai 80% dari jumlah total protein yang terdapat dalam susu sapi, sedangkan protein whey sebanyak 20%. Kelompok kasein terdiri dari beberapa tipe yaitu: α S1, α S2, β , K dan γ , sementara protein whey terdiri dari α -laktalbumin dan β -laktoglobulin. Kasein penting dikonsumsi karena mengandung komposisi asam amino yang dibutuhkan tubuh. Susu juga mengandung protein minor yang penting seperti serum albumin, immunoglobulin, laktoferrin, transferrin, calcium-binding protein, prolaktin, folate binding protein and protease-peptone. Susu yang berasal dari sapi yang tidak sehat

dapat terkontaminasi oleh bakteri patogen. Pasteurisasi yang dilakukan terhadap susu terutama dilakukan untuk membunuh bakteri patogen yang tidak membentuk spora, disamping itu pasteurisasi juga membunuh sebagian mikroba pembusuk. Pengujian mikrobiologi terhadap susu perlu dilakukan untuk mengetahui mutu susu sebelum diolah lebih lanjut.¹⁶ Susu digunakan sebagai sumber kasein komersial. Biasanya kedalam skim milk atau susu dengan kandungan lemak yang sangat rendah, ditambahkan asam untuk mengendapkan kasein. Sesudah itu dipisahkan dari whey. Kemudian dicuci dengan air, ditiriskan, dipress, dipotong-potong dan dikeringkan. Kasein digunakan sebagai garam kalsium untuk memperbaiki sifat adukan dari krim yang terbuat dari lemak tumbuh-tumbuhan yang digunakan sebagai pelapis atas dan untuk memperbaiki keseluruhan struktur asam krim dan youghurt.

² Kasein terdapat dalam bentuk kasein kalsium, yaitu senyawa kompleks dari kalsium fosfat dan terdapat dalam bentuk partikel-partikel kompleks koloid yang disebut micelles. Casein micelles pada susu sapi memiliki ukuran 50 – 600 nm atau 0,05 – 0,6 μm dengan rata-rata ukuran casein micelles sebesar 100 nm atau 0,1 μm . Terdapat empat jenis kasein dalam susu antara lain $\alpha\text{s}1$ -casein, $\alpha\text{s}2$ -casein, β -casein dan κ -casein. Kisaran persentase empat jenis kasein di dalam susu adalah sebesar 37%, 10%, 35% dan 12% dari keseluruhan kasein susu. Komposisi whey di dalam susu adalah sekitar 20%. Ada empat jenis whey yang terdapat di dalam susu yaitu β -laktoglobulin, α -laktalbumin, blood serum albumin dan immunoglobulin. Kisaran persentase β -laktoglobulin, α -laktalbumin dan blood serum albumin di dalam susu adalah sebesar 50%, 20% dan 10% dari total keseluruhan whey dalam susu. Kasein merupakan protein dengan sifat hidrofobik yang lebih kuat apabila dibandingkan dengan whey. Hal ini disebabkan gugus hidrofobik pada kasein berada di bagian permukaan molekul, sedangkan gugus

hidrofobik pada whey berada di dalam molekul, namun beberapa kasein memiliki sifat hidrofobik yang lebih lemah daripada whey jenis β -laktoglobulin. β - casein merupakan jenis protein susu dengan sifat hidrofobik paling kuat diantara jenis protein susu lainnya.

² Laktosa adalah karbohidrat utama pada susu. Laktosa dibentuk oleh dua gula sederhana yaitu glukosa dan galaktosa yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4-glycosidic. Laktosa bersifat polar dan merupakan komponen susu yang menyebabkan rasa manis pada susu. Laktosa susu memiliki ukuran sekitar 0,001 μ m.



Gambar 37. Struktur Kimia Laktosa Susu

Kualitas kimia susu sapi segar dapat dipengaruhi oleh bangsa sapi, pakan, sistem pemerahan, perubahan musim dan periode laktasi. ² Kualitas susu juga dapat dipengaruhi oleh proses penanganan, pengolahan, pengawetan dan penyimpanan. Kandungan nutrisi susu sapi segar sebagai berikut.

Sumber Pustaka	Kadar Air	Lemak	Protein	Laktosa	<i>Solid Non Fat (SNF)</i>
	-----(%)-----				
Badan Standarisasi Nasional (2011)	89,20	3,00	2,80	–	7,80
Eniza (2004); Laryska dan Nurhajati (2013)	87,90	3,45	3,20	4,60	8,65
Buckle dkk. (2007)	87,10	3,90	3,40	4,80	–
Edelsten (1988); Legowo dkk. (2009)	87,50	3,80	3,30	4,70	–

b. Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah berbagai jenis produk susu disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara kandungan kasein pada produk tersebut. Bahaslah berdasarkan refrensi jurnal metode yang dapat digunakan untuk menentukan kandungan kasein dari susu.

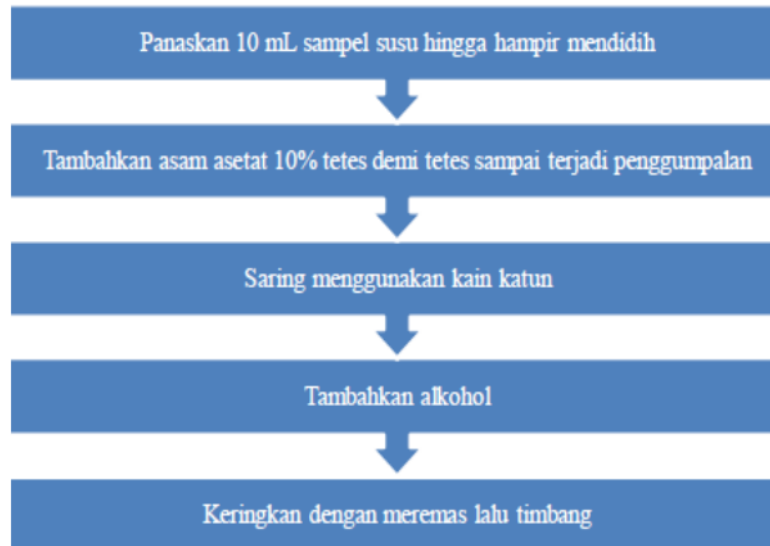
c. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan penentuan kadar kasein dalam susu.

Prosedur percobaan

- 1) Panaskan 10 mL sampel susu hingga hampir mendidih
- 2) Tambahkan asam asetat 10% tetes demi tetes sampai terjadi penggumpalan
- 3) Saring menggunakan kain katun
- 4) Untuk menghilangkan lemak yang melekat, tambahkan alkohol
- 5) Keringkan dengan meremas lalu timbang

Adapun diagram alirnya adalah sebagai berikut.



Alat dan Bahan

a. Alat yang digunakan

- 1) Kain katun (muslin cloth)
- 2) Gelas beker 50 ml (2 buah)
- 3) Batang pengaduk
- 4) Pipet tetes

b. Bahan yang digunakan

- 1) Sampel susu 10 ml
- 2) Asam asetat 10%
- 3) Etanol



Gambar 38. Kasein dari susu

Contoh Penentuan kadar kasein dalam susu

<https://youtu.be/HN4jD2MCKfg>

Gambar 39. Video Penentuan kadar kasein dalam susu
Sumber: <https://youtu.be/HN4jD2MCKfg>

d. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan isolasi kasein. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 9. Percobaan Isolasi Kasein

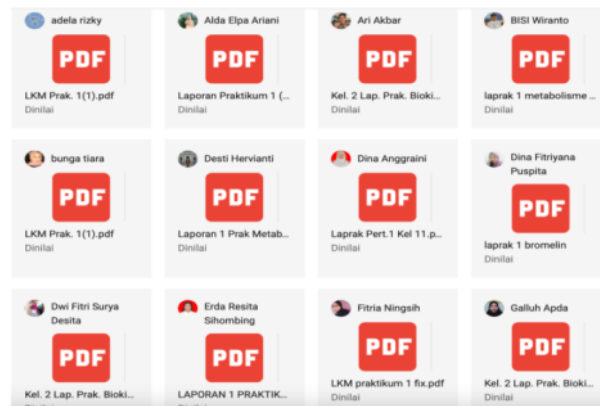
Sampel Susu
14 gr susu merek A dilarutkan dalam d H ₂ O hingga 100 mL.
14 gr susu merek B dilarutkan dalam d H ₂ O hingga 100 mL.

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchronous WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncrounus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

a. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 9 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 9.



Gambar 40. Submit Laporan 9 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹³ Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- Amrita University. 2011. *Isoelectric Precipitation of Proteins - Casein from Milk*. <https://youtu.be/HN4jD2MCKfg>. di akses pada tanggal 15 Oktober 2020.
- Buckle, K.A, R.A Edwards, G.H. Fleet, and M. Wootton. 2007. Ilmu Pangan (Food Science). Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Fox, P.F. and P.L.H. McSweeney.(1998). Dairy Chemistry and Biochemistry. Blackie Academic and Professional Publishers, London.
- ⁷ Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- ⁵ Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

9. Uji Karbohidrat

¹ Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri (CPMK1), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah Mahasiswa mampu bertanggungjawab mengelola (mendesain, melaksanakan dan melaporkan) eksperimen Uji Karbohidrat (Sub-CPMK5). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

Karbohidrat merupakan makromolekul atau polimer polihidroksi aldehyd (aldosa) atau polihidroksi keton (ketosa) dan turunannya atau senyawa yang bila dihidrolisa akan akan menghasilkan salah satu atau kedua komponen tersebut. ³ Senyawa karbohidrat menyumbangkan 70 – 80% sumber energi untuk aktivitas manusia. Konsumsi rata-rata karbohidrat dalam makanan sekitar 65% dan energi yang dihasilkan dari metabolisme selular karbohidrat tersebut akan digunakan untuk metabolisme biomolekul lainnya seperti protein, lemak dan asam nukleat. Selain itu, lebih dari 90% komponen penyusun tumbuhan kering adalah karbohidrat. Secara umum, karbohidrat merupakan senyawa polihidroksi aldehyd atau polihidroksi keton dan derivatnya dalam bentuk unit tunggal yang sederhana maupun unit kompleks.

Pada tumbuhan, glukosa disintesis dari karbon dioksida (CO₂) dan air (H₂O) melalui proses fotosintesis dan disimpan dalam bentuk pati atau selulosa. Hewan mensintesis karbohidrat dari lipid gliserol dan asam amino, akan tetapi derivat karbohidrat yang digunakan diambil dari tanaman. Glukosa bisa diabsorpsi langsung dalam aliran darah dan gula bentuk lain akan diubah menjadi glukosa dalam liver

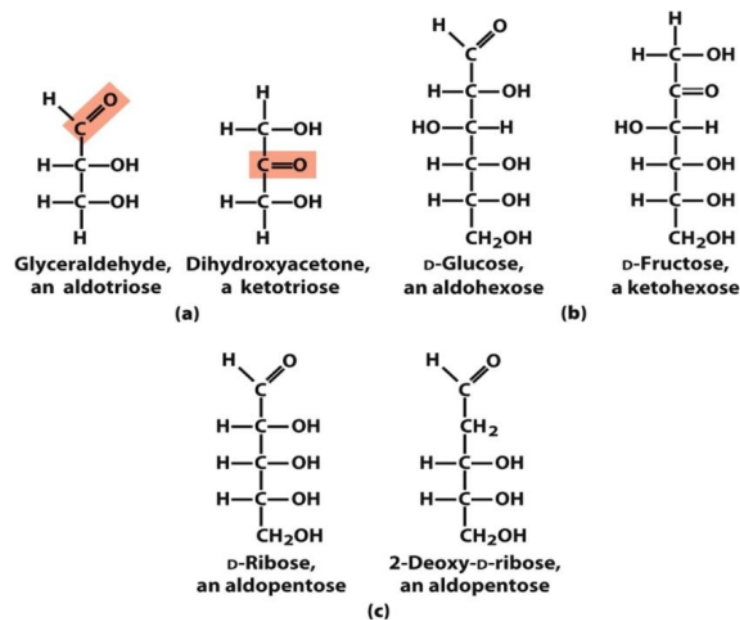
sehingga glukosa merupakan jenis karbohidrat yang penting. Sebagai sumber utama energi pada mamalia, glukosa dapat disintesis menjadi glikogen sebagai cadangan makanan, ribosa dan deoksiribosa pada asam nukleat, galaktosa pada laktosa susu, glikolipid dan kombinasi dengan protein (glikoprotein dan proteoglikan).

Klasifikasi Karbohidrat.

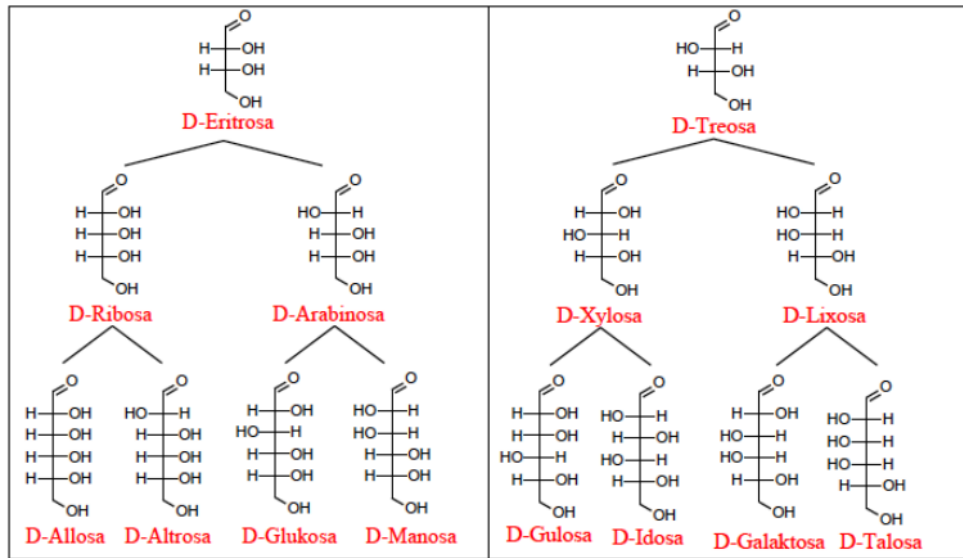
15

1. Monosakarida

Karbohidrat yang tidak dapat dihidrolisis menjadi gula yang lebih sederhana disebut monosakarida. Berdasarkan gugus fungsinya, jenis monosakarida ada dua yaitu aldosa yang memiliki gugus fungsi aldehyd dan ketosa yang memiliki gugus fungsi keton. Berdasarkan jumlah atom karbonnya, monosakarida terdiri dari triosa, tetrosa, pentosa, dan heksosa.



Gambar 41. Representatif monosakarida



Gambar 42. Klasifikasi aldosa

15

2. Oligosakarida

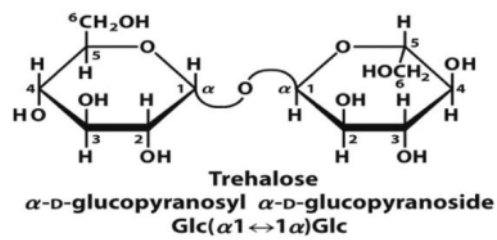
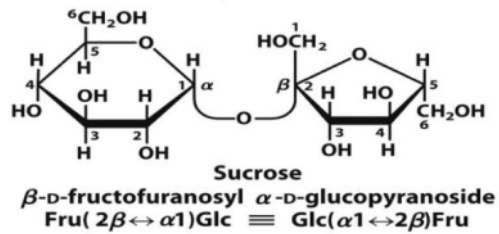
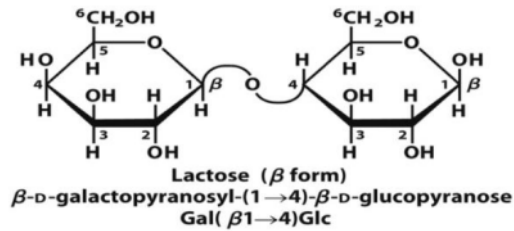
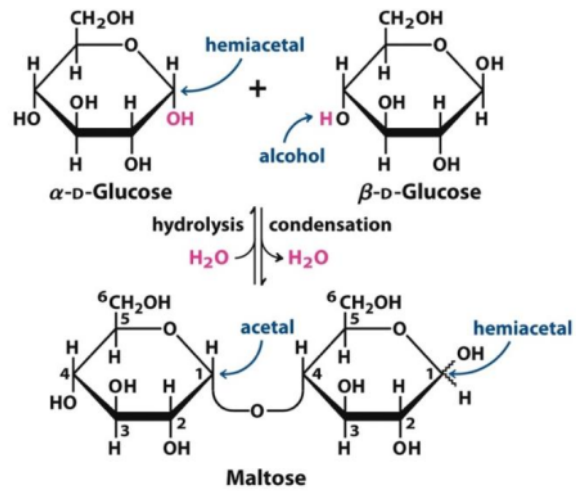
Oligosakarida adalah hasil kondensasi dari dua sampai sepuluh monosakarida. Oligosakarida dapat berupa disakarida, trisakarida dan tetrasakarida. Disakarida merupakan hasil kondensasi dua unit monosakarida. Contohnya adalah laktosa, maltosa dan sukrosa. Trisakarida merupakan hasil kondensasi tiga unit monosakarida dan tetrasakarida terdiri dari empat unit monosakarida. Oligosakarida terbentuk karena adanya ikatan glikosidik antara molekul monosakarida pada atom C 1 molekul satu dengan gugus hidroksil (-OH) pada molekul lainnya. Biasanya ikatan glikosidik terbentuk antara C 1 pada satu molekul dengan C 3 pada molekul lainnya (1,3). Ikatan glikosidik yang umum adalah 1,3, kemudian 1,4 dan 1,6. Akan tetapi, ikatan glikosidik 1,1 dan 1,2 juga mungkin terjadi. Ikatan dapat terjadi dalam bentuk molekul α dan β .

a. Disakarida

Disakarida terdiri atas dua molekul monosakarida yang terikat dengan ikatan glikosidik. Beberapa contoh senyawa disakarida dapat dilihat pada Tabel di bawah ini.

Tabel 10 Beberapa ikatan disakarida

Nama	Monosakarida Penyusun	Ikatan glikosidik	Nama umum
maltosa	Glukosa + Glukosa	1 → 4	α -D-glikopiranosil-(1→4)- β -D-glukopiranosida
selobiosa	Glukosa + Glukosa	1 → 4	β -D-glikopiranosil-(1→4)- β -D-glukopiranosida
gentiobiosa	Glukosa + Glukosa	1 → 6	β -D-glikopiranosil-(1→6)- β -D-glukopiranosida
sukrosa	Glukosa + fruktosa	2 → 1	β -D-fruktofuranosil-(2→1)- α -D-glukopiranosida
laktosa	Glukosa + galaktosa	1 → 4	β -D-galaktopiranosil-(1→4)- β -D-glukopiranosida
trehalosa	Glukosa + Glukosa	1 → 1	α -D-glikopiranosil-(1→1)- α -D-glukopiranosida

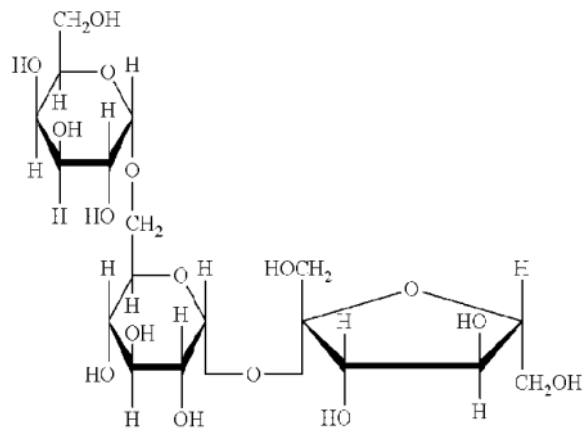


Gambar 43. Disakarida

8

b. Trisakarida

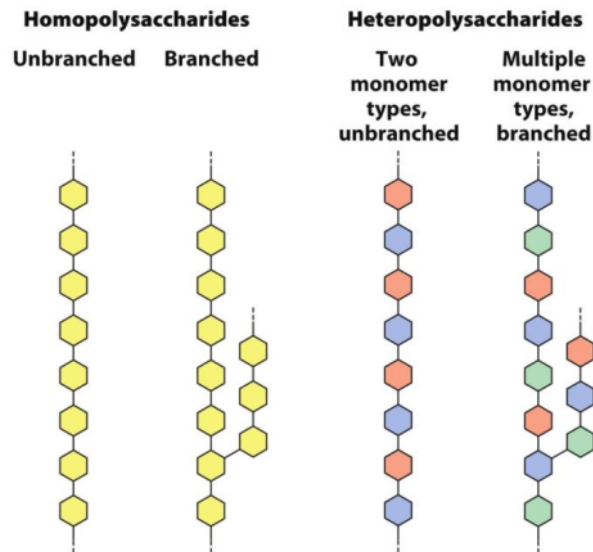
Trisakarida terdiri atas tiga molekul monosakarida dimana antarmolekul terikat dengan ikatan glikosidik. Sejumlah trisakarida dapat ditemukan bebas di alam seperti rafinosa (α -D-galaktopiranosil-(1,6)- α -D-glukopiranosil (1,2)- β -D-fruktofuranosida) yang sering dinamakan dengan gula beet dan melezitosa (α -Dglukopiranosil-(1,3)- β -D-fruktofuranosil-(2 1)- α -D-glukopiranosida).



Gambar 44. Struktur Rafinosa

3. Polisakarida

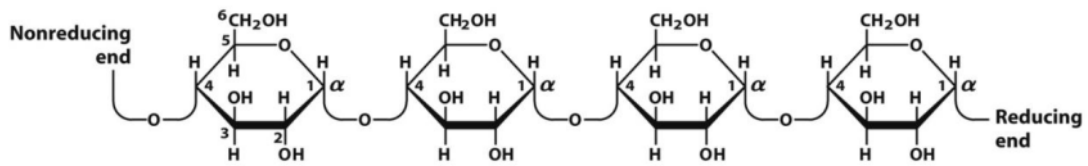
Polisakarida merupakan jenis karbohidrat kompleks yang terdiri atas unit monosakarida yang terikat dengan ikatan glikosidik. Secara nomenklatur, polisakarida dibagi menjadi dua, yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Polisakarida yang berfungsi sebagai bahan makanan cadangan yaitu pati dan glikogen, sedangkan pembentuk struktur molekul yaitu kitin dan selulosa.



Gambar 45. Homo dan Hetero polisakarida

3
a. Pati

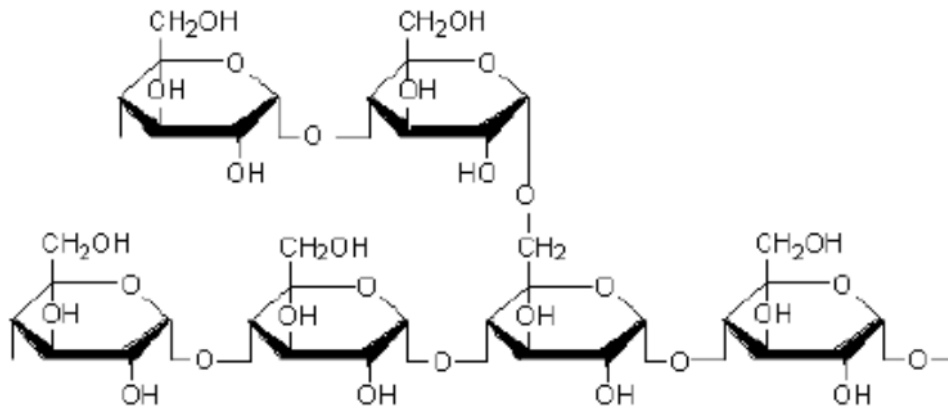
Pati merupakan senyawa cadangan pada tumbuhan yang terdiri atas unit glukosa. Pati terdiri atas dua komponen homopolisakarida yaitu amilosa dan amilopektin. Susunan komponen tersebut dalam tumbuhan yaitu 10 – 30% amilosa dan 70 – 90% amilopektin. Amilosa memiliki struktur rantai lurus yang terbentuk dari ikatan glikosidik 1 \rightarrow 4 antara molekul α -D-glukosa. Amilosa dapat membentuk struktur heliks dimana rata-rata terdapat 8 molekul glukosa setiap putaran heliks. Amilosa memiliki sifat sukar larut dalam medium air.



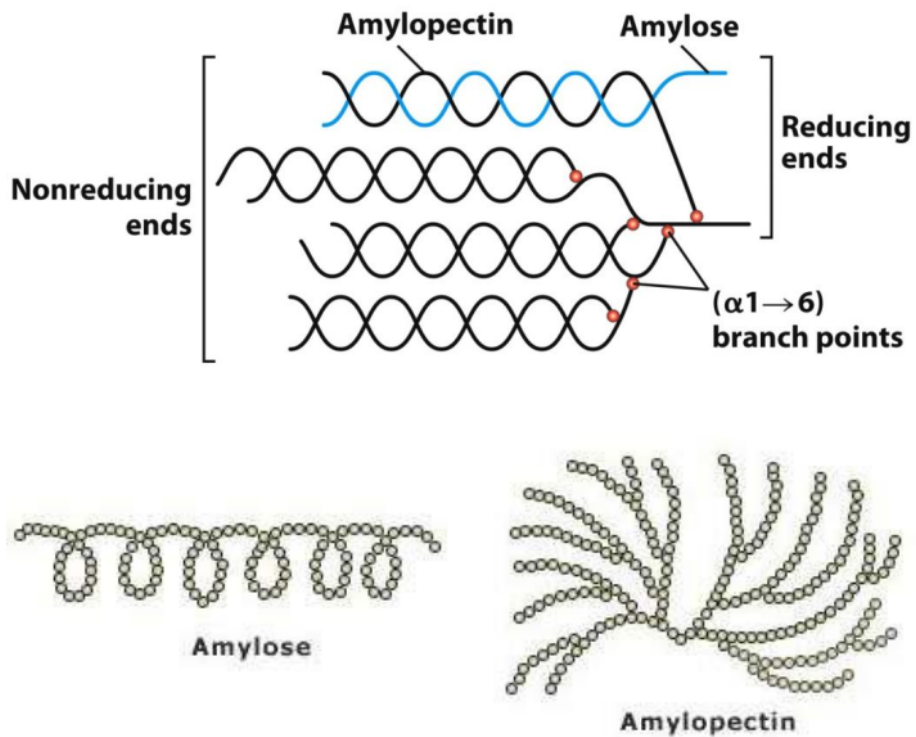
Amylose

Gambar 46. Amilosa

Amilopektin merupakan polimer glukosa yang terdiri atas rantai lurus dengan ikatan glikosidik 1,4 dan cabang yang terbentuk dengan ikatan 1,6. Amilopekti akan memeberikan perubahan warna merah-violet jika dianalisis dengan iodin.



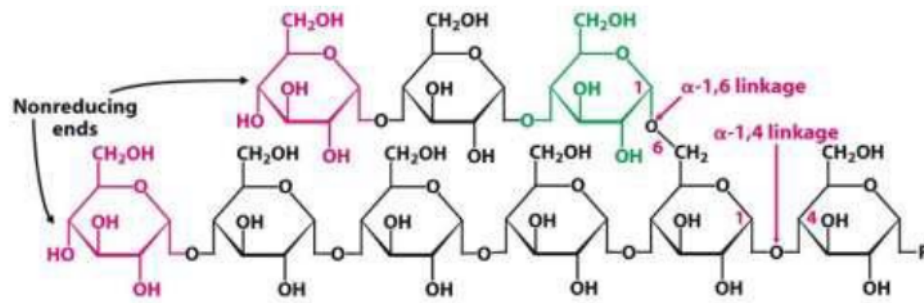
Gambar 47. Amilopeptin



Gambar 48 Amilosa dan Amilopeptin

8
b. Glikogen

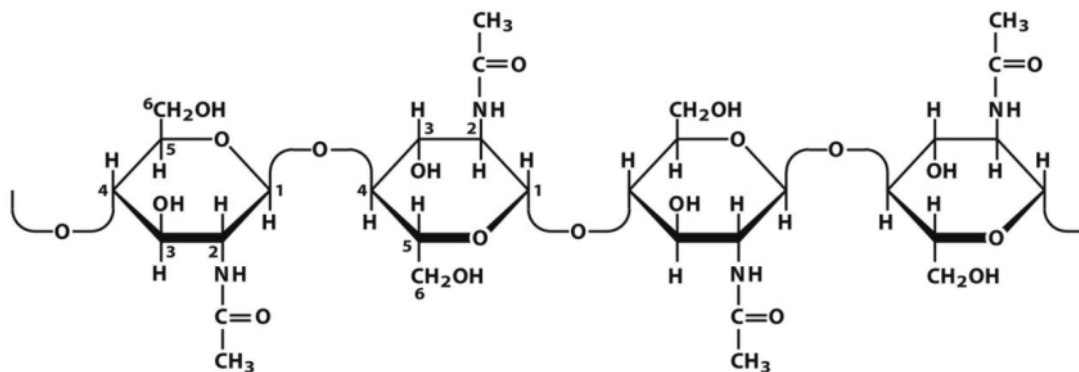
Glikogen merupakan jenis polisakarida yang berfungsi sebagai cadangan makanan pada hewan. Komposisi glikogen dalam liver adalah 10% sedangkan dalam otot 1– 2%. Struktur glikogen sama dengan amilopektin tetapi memiliki 8 –12 cincin residu pada cabang yang terikat pada 1 6. Analisis dengan larutan iodinakan memberikan perubahan warna merah-violet.



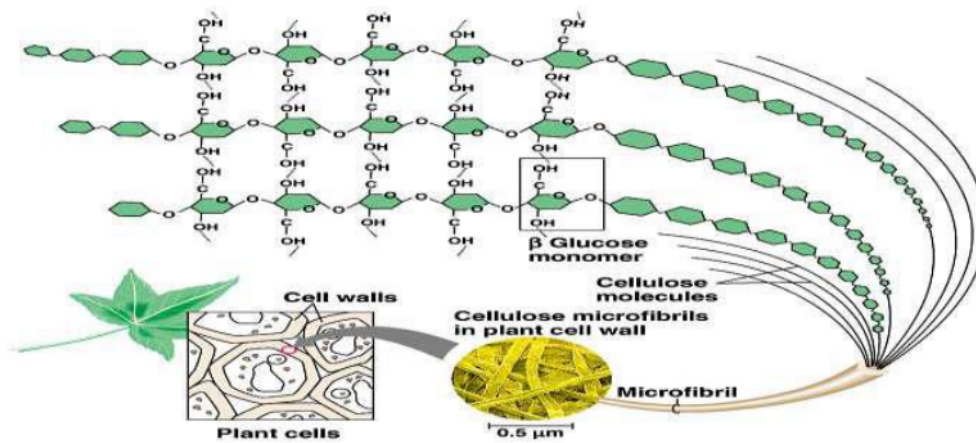
Gambar 49. Ikatan α 1,6 dan α 1,4 glikosidik

c. Selulosa

Selulosa merupakan homopolisakarida yang terdiri atas 100 – 1000 unit β -D glukosa. Proses polimerisasi melalui proses kondensasi dengan ikatan glikosidik 1,4 antarmolekul glukosa. Pada dinding sel tanaman, fibril selulosa membentuk rantai paralel yang saling bersilangan antarlayer. Fibril tersebut juga membentuk matriks dengan hemiselulosa, pektin dan ekstensin. Rantai paralel selulosa pembentuk mikrofibril memiliki ikatan hidrogen antarrantai.



Gambar 50. Ikatan β Glikosidik



Gambar 51. Selulosa

Ada beberapa metode uji kualitatif karbohidrat, yaitu:

1. Uji Molisch

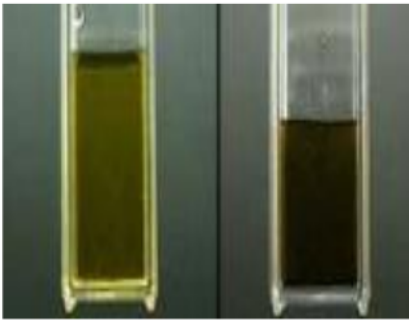
Uji molisch adalah uji kimia kualitatif untuk mengetahui adanya karbohidrat. Uji Molisch dinamai sesuai penemunya yaitu Hans Molisch, seorang ahli botani dari Australia. Uji ini didasari oleh reaksi dehidrasi karbohidrat oleh asam sulfat membentuk cincin furfural yang berwarna ungu. Reaksi positif ditandai dengan munculnya cincin ungu di permukaan antara lapisan asam dan lapisan sampel.

Tes	Hasil positif untuk	Keterangan
Tes Molish	Semua karbohidrat. Monosakarida menghasilkan warna ungu dengan cepat sedangkan polisakarida bereaksi lebih Lambat	 <p>Kiri negatif dan Kanan positif</p>

Gambar 52. Uji Molisch

2. Uji Iodin

Uji Iodin digunakan untuk memisahkan amilum atau pati yang terkandung dalam larutan. Reaksi positifnya ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi biru. Warna biru yang dihasilkan diperkirakan adalah hasil dari ikatan kompleks antara amilum dengan Iodin. Sewaktu amilum yang telah ditetesi Iodin kemudian dipanaskan, warna yang dihasilkan sebagai hasil dari reaksi yang positif akan menghilang. Dan sewaktu didinginkan warna biru akan muncul kembali. Berikut Uji Iodin pada pati (I_2 dalam KI).



Gambar 53 Uji Iodin
Kiri Negatif dan Kanan Positif

10

3. Uji Benedict

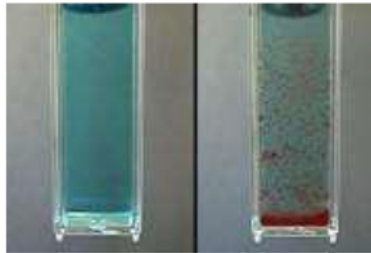
Uji benedict adalah uji kimia untuk mengetahui kandungan gula (karbohidrat) pereduksi. Gula pereduksi meliputi semua jenis monosakarida dan beberapa disakarida seperti laktosa dan maltose. Gula pereduksi adalah gula yang mengalami reaksi hidrolisis dan bisa diurai menjadi sedikitnya dua buah monosakarida. Karakteristiknya tidak bisa larut atau bereaksi secara langsung dengan Benedict, contohnya semua golongan monosakarida, sedangkan gula non pereduksi struktur gulanya berbentuk siklik yang berarti bahwa hemiasetal dan hemiketalnya tidak berada dalam kesetimbangannya, contohnya fruktosa dan sukrosa.



Gambar 54. Uji Benedict
Kiri Negatif Kanan Positif

4. Uji Barfoed

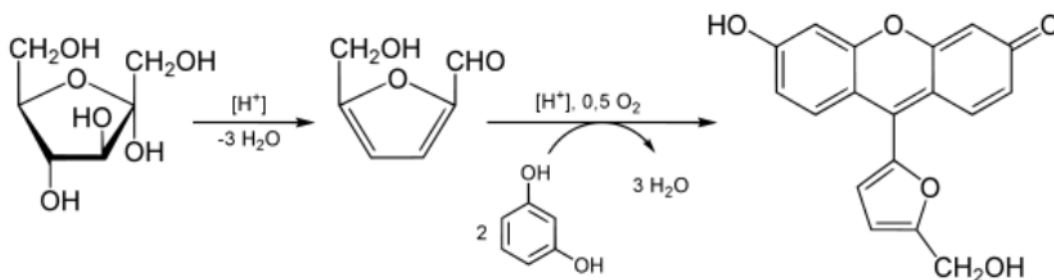
Adalah uji untuk membedakan monosakarida dan disakarida dengan mengontrol kondisi pH serta waktu pemanasan. Prinsipnya berdasarkan reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^+ . Reagen Barfoed mengandung senyawa tembaga asetat.



Gambar 55. Uji Barfoed
Kiri Negatif Kanan Positif

5. Uji Seliwanoff

Uji Seliwanoff adalah sebuah uji kimia yang membedakan gula aldosa dan ketosa. Ketosa dibedakan dari aldosa via gugus fungsi keton/aldehid gula tersebut. Jika gula tersebut mempunyai gugus keton, ia adalah ketosa. Sebaliknya jika ia mengandung gugus aldehida, ia adalah aldosa. Uji ini didasarkan pada fakta bahwa ketika dipanaskan, ketosa lebih cepat terdehidrasi daripada aldosa.



Sumber (<https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Seliwanow.svg>)



Gambar 56. Uji Seliwanoff
Kiri Negatif Kanan Positif

Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah berbagai jenis produk pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara kandungan karbohidrat pada produk tersebut. Bahaslah berdasarkan referensi jurnal metode yang dapat digunakan untuk menentukan kandungan karbohidrat pada pangan tersebut.

b. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan Uji Karbohidrat.

Prosedur percobaan

1. Uji Mollisch
 - a) Masukkan sampel maltose 2 ml dalam gelas ukur kemudian tuangkan dalam tabung reaksi
 - b) Kemudian teteskan 3 tetes reagen molisch pada tabung reaksi

- c) Siapkan 2 mL H₂SO₄ gelas ukur
- d) Kemudian tuangkan pada tabung reaksi yang telah terisi maltose dan reagen
- e) Lakukan percobaan yang serupa dengan sampel yang berbeda

2. Uji Iodin

- a) ukur 3 ml sampel masukan kedalam tabung reaksi
- b) tambahkan reagen iodin kemudian homogenkan
- c) Amati perubahannya

3. Uji Benedict

- a) Tuangkan 1 mL sampel maltosa pada tabung reaksi menggunakan Pipet volume
- b) Kemudian tambahkan 5 mL reagen benedict pada tabung reaksi tersebut
- c) Letakkan tabung reaksi tersebut pada gelas beaker yang telah di panaskan pada waterbath
- d) Panaskan selama kurang lebih 3 menit.
- e) Kemudian tunggu dingin dan amati
- f) Lakukan percobaan yang serupa dengan sampel yang berbeda.

4. Uji Barfoed

- a) Ukur 3 mL Reagen Barfoed dan tuangkan pada tabung reaksi
- b) Kemudian tambahkan 1 mL Sampel Maltosa pada tabung reaksi yang terisi reagen Barfoed
- c) Letakkan tabung reaksi tersebut pada gelas beaker yang telah di panaskan pada waterbath
- d) Panaskan selama kurang lebih 3 menit
- e) Kemudian tunggu dingin dan amati

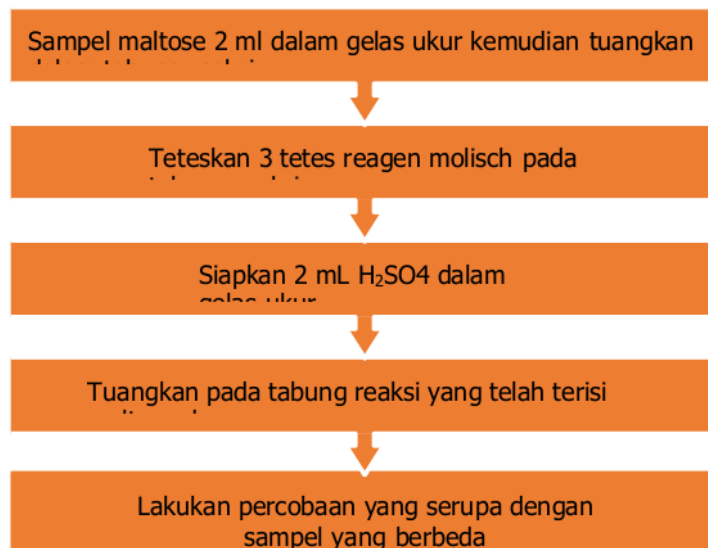
f) Lakukan percobaan yang serupa dengan sampel yang berbeda.

5. Uji Seliwanoff

- a. Masukkan 0,5 ml larutan yang akan diperiksa ke dalam tabung reaksi.
- b. Tambahkan 5 ml pereaksi Seliwanoff,
- c. campur dan didihkan selama 30 detik tepat atau panaskan di penangas air mendidih selama 60 detik.
- d. Perhatikan warna yang terjadi!

Adapun diagram alirnya adalah sebagai berikut.

Uji Molisch



Uji Iodin

Ukur 3 ml sampel masukan kedalam tabung reaksi

Tambahkan reagen iodin dan homogenkan

Amati perubahanya

Uji Seliwanoff

Masukkan 0,5 ml larutan yang diperiksa

Tambahkan 5 ml pereaksi Seliwanoff

campur dan didihkan selama 30 detik, Amati perubahanya

Uji Benedict

Tuangkan 1 mL sampel maltosa pada tabung reaksi

Tambahkan 5 mL reagen benedict pada tabung

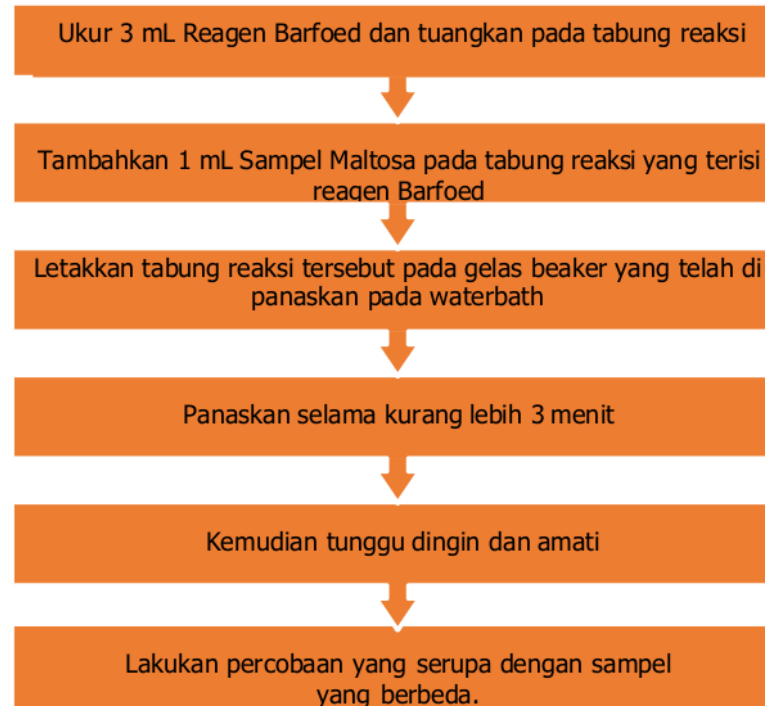
Letakkan tabung reaksi tersebut pada gelas beaker yang telah di panaskan pada waterbath

Panaskan selama kurang lebih

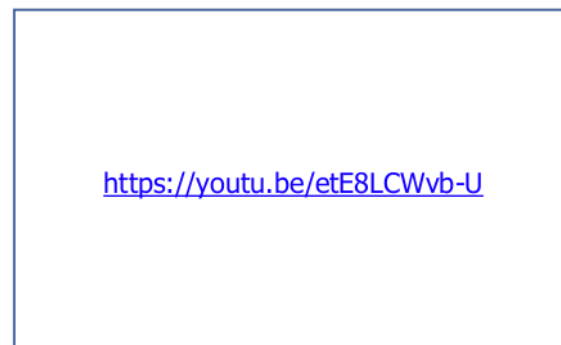
Tunggu hingga dingin dan

Lakukan percobaan yang serupa dengan sampel yang berbeda

Uji Barfoed

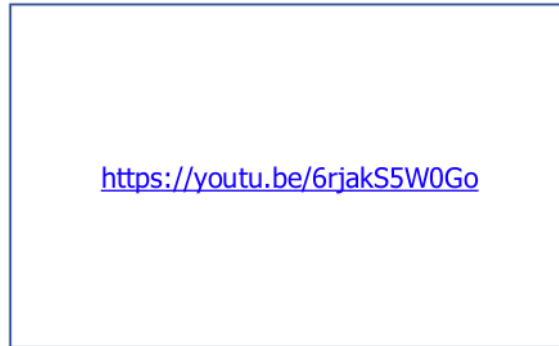


Contoh Uji Molish



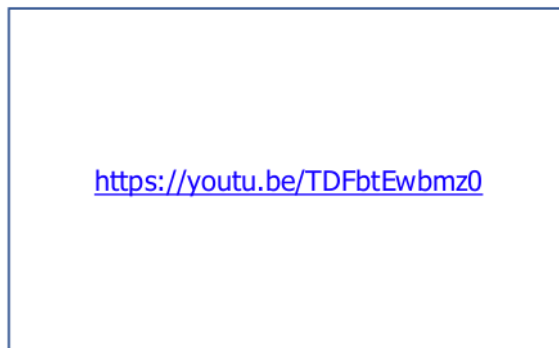
Gambar 57. Video Uji Molisch
Sumber: <https://youtu.be/etE8LCWvb-U>

Contoh Uji Iodin



Gambar 58. Video Uji Iodin
Sumber: <https://youtu.be/6rjakS5W0Go>

Contoh Uji Benedic



Gambar 59. Video Uji Benedic
Sumber: <https://youtu.be/TDFbtEwbmz0>

Contoh Uji Barfoed



[youtu.beps://youtu.be/yQfMqvOxPrc](https://youtu.be/yQfMqvOxPrc)

Gambar 60. Video Uji Barfoed
Sumber: <https://youtu.be/yQfMqvOxPrc>

Alat dan Bahan

a. Alat yang digunakan

- 1) Tabung reaksi
- 2) Pipet tetes
- 3) Gelas ukur
- 4) Waterbath

b. Bahan yang digunakan

- 1) Maltosa
- 2) Glisin
- 3) Glukosa
- 4) Sukrosa
- 5) Regen benedict
- 6) Regen molisch
- 7) Regen barfoed
- 8) Reagen iodin

- 9) Reagen Seliwanoff
- 10) Larutan H₂SO₄

c. ¹ Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan uji karbohidrat. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 11 Uji Karbohidrat

No	Uji Karbohidrat	Sampel Karbohidrat
1	Molisch	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysin
2	Iodin	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysin
3	Benedict	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysin
4	Barfoed	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysin
5	Seliwanoff	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysin

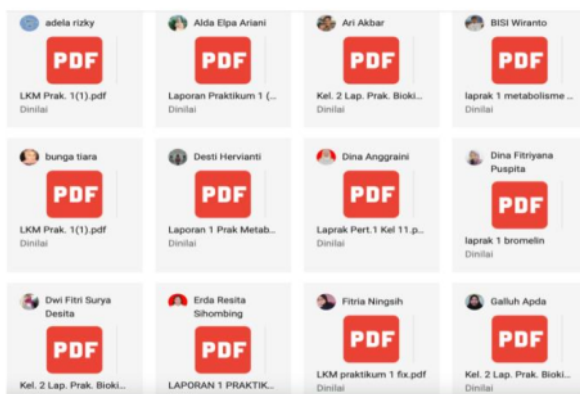
Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 ¹ melalui media asynchrone WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring

melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

a. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 10 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 10.



Gambar 61. Submit Laporan 10 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

Kofuorr, G.2012. *Molisch's Test - Qualitative Test in Carbohydrates*. <https://youtu.be/etE8LCWvb-U>. di akses pada tanggal 22 Oktober 2020.

Kofuorr, G.2012. *Benedics Test - Qualitative Test in Carbohydrates*. <https://youtu.be/TDFbtEwbmz0>. di akses pada tanggal 22 Oktober 2020.

Kofuorr, G.2012. *Benedics Test - Qualitative Test in Carbohydrates*. <https://youtu.be/yQfMqvOxPrc>. di akses pada tanggal 22 Oktober 2020.

Mag. 2013. *Iodine test*. <https://youtu.be/6rjakS5W0Go>. di akses pada tanggal 22 Oktober 2020

7

Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.

Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.

Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.

5

Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

10. Penentuan Kadar Glukosa dengan Metode Antron

6 Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah mahasiswa 6 mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri 1 (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

10 Karbohidrat terdiri dari unsur C, H, dan O. Jumlah atom hydrogen dan oksigen merupakan perbandingan 2:1.1 Karbohidrat dapat dibedakan 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 dalam ilmu gizi, 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 hydrogen dan oksigen di sekitar atom-atom karbon.

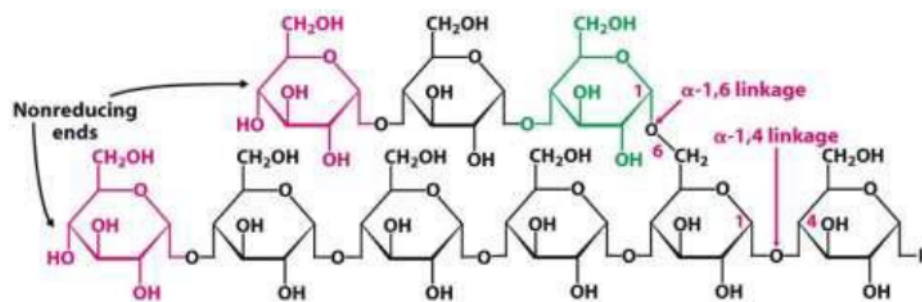
Glukosa terdapat luas di alam dalam jumlah sedikit, yaitu di dalam sayur, buah, sari pohon, dan bersamaan dengan fruktosa dalam madu. Selain dari sumber tersebut, glukosa dihasilkan pula sebagai hasil cerna pati menjadi dekstrin, dekstrin berubah menjadi maltose, dan akhirnya menjadi dua molekul gula glukosa. Glukosa memegang peranan sangat penting dalam ilmu gizi. Dalam proses metabolisme, glukosa merupakan bentuk karbohidrat yang beredar di dalam tubuh dan di dalam sel merupakan sumber energi. Dalam keadaan normal, system syaraf pusat hanya dapat menggunakan glukosa sebagai sumber energi.

Penggunaan Metode Anthrone untuk analisis total karbohidrat mulai berkembang sejak penggunaan pertama kali oleh Dreywood pada tahun 1946 untuk uji kualitatif. Dasar dari reaksi ini adalah kemampuan karbohidrat untuk membentuk turunan furfural dengan keberadaan asam dan panas, yang kemudian diikuti dengan reaksi dengan anthrone yang menghasilkan warna biru kehijauan. Anthrone, $C_6H_4COC_6H_4CH_2$, adalah turunan dari anthraquinone. Senyawa ini diproduksi oleh reduksi katalitik dari anthraquinone oleh asam hidroklorat dengan keberadaan logam timah. Senyawa ini mungkin ada dalam bentuk keto atau enol, yang masing-masing dikenal dengan nama anthrone dan anthranol.

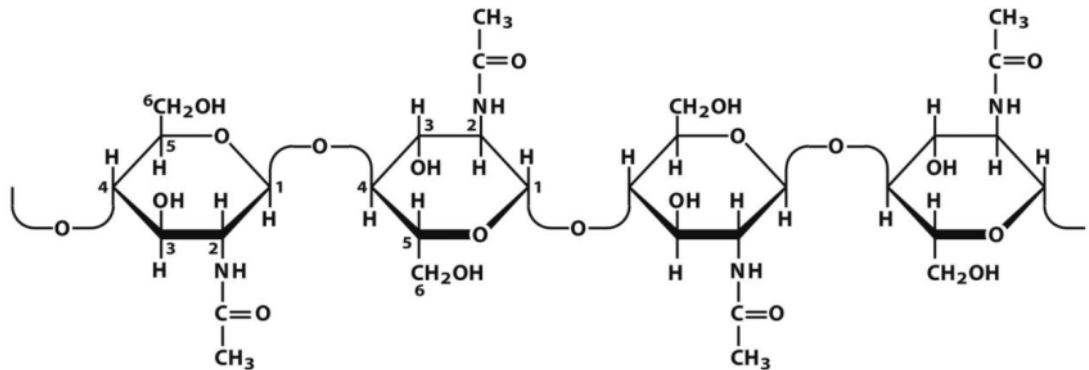
Metode Anthrone sulfat adalah metode yang paling umum digunakan dalam analisis karbohidrat dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Visible. Metode anthrone ini memiliki banyak keunggulan antara lain kesederhanaan ujinya, spektrumnya yang luas dan sensitifitasnya yang cukup baik. Kekurangan dari metode anthrone adalah ketidakstabilan dari reagen (anthrone yang dilarutkan dalam asam sulfat), sehingga perlu dilakukan persiapan reagen yang baru setiap hari. Mekanisme pembentukan warna anthrone dengan gula telah diteliti. Karbohidrat dan turunannya mengalami pembentukan cincin dalam keberadaan

asam kuat dari mineral, seperti yang ditunjukkan untuk glukosa. Karbohidrat dalam asam sulfat akan dihidrolisis menjadi monosakarida dan selanjutnya monosakarida mengalami dehidrasi oleh asam sulfat menjadi furfural atau hidroksi metil furfural.

³ Pada tumbuhan, glukosa disintesis dari karbon dioksida (CO_2) dan air (H_2O) melalui proses fotosintesis dan disimpan dalam bentuk pati atau selulosa. Hewan mensintesis karbohidrat dari lipid gliserol dan asam amino, akan tetapi derivat karbohidrat yang digunakan oleh hewan diambil dari tanaman. ³ Polisakarida merupakan jenis karbohidrat kompleks yang terdiri atas unit monosakarida yang terikat dengan ikatan glikosidik. Secara nomenklatur, polisakarida dibagi menjadi dua, yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Polisakarida yang berfungsi sebagai bahan makanan cadangan yaitu pati dan glikogen, sedangkan pembentuk struktur molekul yaitu kitin dan selulosa.



Gambar 62. Glikogen



Gambar 63. Seulosa

Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah berbagai jenis produk pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara untuk menentukan kandungan karbohidrat pada produk tersebut. Bahaslah berdasarkan refrensi jurnal metode yang dapat digunakan untuk menentukan kandungan karbohidrat pada pangan tersebut.

b. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan penentuan kadar glukosa melalui metode Antron.

Prosedur percobaan

a) Prosedur percobaan

1. 100mg sampel tepung jagung dicampur dengan larutan HCl 2,5 N untuk Dihidrolisis;
2. Campuran sampel tersebut dipanaskan dalam waterbath atur suhu pada 100 °C selama 3 jam untuk dihidrolisis;
3. Setelah dihidrolisis sampel disentrifugasi dengan kecepatan 8000rpm selama 3 menit.
4. Kemudian supernatan yg terbentuk digunakan sebagai ekstrak.
5. Siapkan 7 tabung reaksi beri label
6. Masukkan 0,2 sd 1 ml larutan gula standar kedalam ke dalam tabung reaksi berlabel S1-S5 kemudian tambah air suling hingga volumenya 1 ml, kemudian masukan air suling kedalam tabung reaksi berlabel blank dan masukkan 0,2 ml sampel ke label X tambah air suling sampai volume 1 ml.
7. Tambahkan 4 ml reagen anthrone disetiap tabung sampai terbentuk warna hijau
8. masukan tabung reaksi Kedalam water bath dan panaskan secara hati-hati selama 8 menit.
9. Dinginkan larutan secepat mungkin dan ukur density nya menggunakan photo listrik calorimeter dengan panjang gelombang 620 nm.
10. Catat data yang diperoleh dan buat grafik.

Adapun diagram alirnya adalah sebagai berikut.



Contoh Penentuan kadar glukosa secara Anthrone

<https://youtu.be/VzYDk4t97Ok>

Gambar 64. Video penentuan kadar glukosa
Sumber: <https://youtu.be/VzYDk4t97Ok>

Alat dan Bahan

a) Alat yang digunakan

1. Tabung reaksi
2. Gelas beaker
3. Water bath
4. Pipet
5. Gelas ukur

b) Bahan yang digunakan

1. Tepung jagung
2. Reagen anthrone
3. Larutan glukosa
4. HCl

a. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan titrasi asam amino glisin. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 12 Sampel Penentuan Kadar Glukosa metode Antron

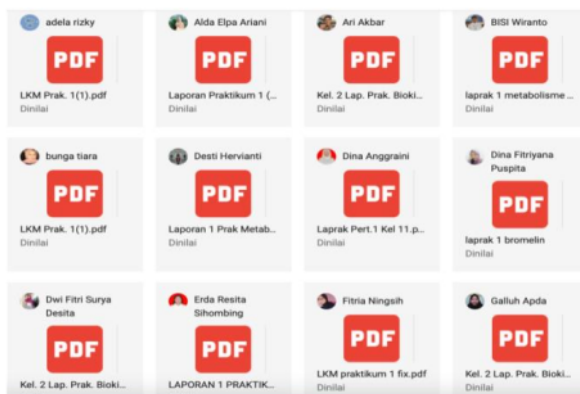
Sampel Karbohidrat
Tepung Jagung

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynronus WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

a. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 11 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 11.



Gambar 65. Submit Laporan 11 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

Buckle, K.A, R.A Edwards, G.H. Fleet, and M. Wootton. 2007. Ilmu Pangan (Food Science). Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).

Genomis Lab. 2013. *How to estimate carbohydrate by anthrone method.* <https://youtu.be/VzYDk4t97Ok>. di akses pada tanggal 3 November 2020.

7

Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition.* New York: W.H. Freeman and Company.

Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.

Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry.* 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.

5

Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi.* Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat.* Bandung: Institut Teknologi Bandung.

11. Uji Lipid

1 Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri (CPMK1), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah Mahasiswa mampu bertanggungjawab mengelola (mendesain, melaksanakan dan melaporkan) eksperimen Uji Lipid (Sub-CPMK6). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

Minyak dan lemak adalah salah satu kelompok yang termasuk golongan lipid, yaitu senyawa organik yang terdapat di alam serta tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik non-polar, misalnya dietil eter, kloroform, benzena dan hidrokarbon. Minyak dan lemak termasuk dalam golongan lipida sederhana. Lipida yang paling sederhana dan paling banyak mengandung asam lemak sebagai unit penyusun adalah triasilgliserol. Triasilgliserol adalah ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak. Asam lemak adalah asam organik berantai panjang yang mempunyai atom karbon dari 4 sampai 24. Asam lemak memiliki gugus karboksil tunggal dan ekor hidrokarbon nonpolar yang panjang. Hal ini membuat kebanyakan lipid bersifat tidak larut dalam air dan tampak berminyak atau berlemak.

4 Lipid merupakan biomolekul yang sangat penting dalam kebutuhan makanan kita. Salah satu bentuk lipid adalah trigliserol dan lipoprotein. Trigliserol adalah sumber cadangan kalori yang memiliki energi tinggi. Jika dibandingkan,

metabolisme karbohidrat dan protein akan menghasilkan energi sekitar 4 sampai 5 kkal/g, sedangkan trigliserol bisa menghasilkan 9 kkal/g. Fungsi biologi lipid tergantung pada struktur kimianya. Minyak dan lemak merupakan cadangan makanan pada banyak organisme. Fosfolipid dan sterol merupakan struktur primer pembentuk membran. Beberapa jenis lipid yang jumlahnya terbatas pada sel organisme memiliki fungsi sebagai kofaktor, *electron carriers*, pigmen pengabsorpsi cahaya, ujung hidrofobik protein, agen pengemulsi, hormon dan *messenger intraselular*. Sebagai bentuk umum lipid yang berfungsi sebagai cadangan makanan, minyak dan lemak memiliki bentuk sebagai asam lemak dan derivatnya. Asam lemak merupakan derivat hidrokarbon yang memiliki tingkat oksidasi rendah. Lipid relatif tidak bisa larut dalam air dan bisa larut dalam pelarut nonpolar seperti eter dan kloroform. Berdasarkan jenis ikatannya, asam lemak dikelompokkan menjadi dua, yaitu Asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak jenuh adalah asam lemak yang semua ikatan atom karbon pada rantai karbonnya berupa ikatan tunggal (jenuh) seperti asam laurat, asam palmitat, dan asam stearat. Sedangkan asam lemak tak jenuh adalah asam lemak yang mengandung ikatan rangkap pada rantai karbonnya. Contoh: asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat.

4

Klasifikasi Lipid

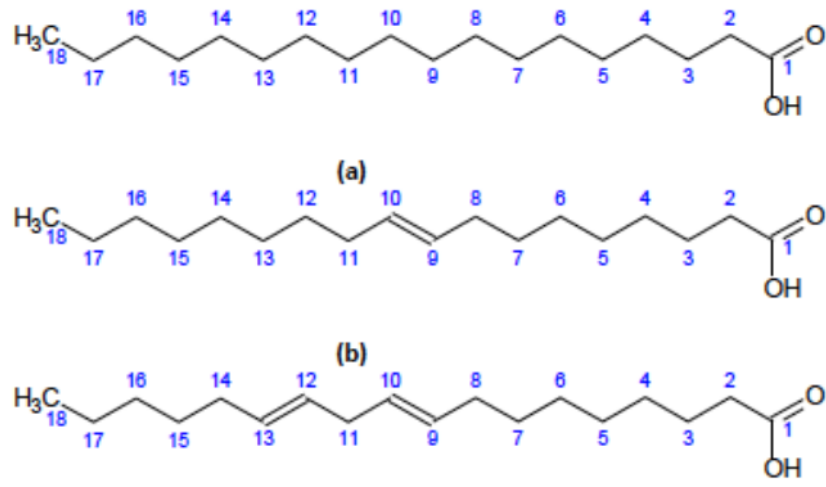
- 1) Lipid Sederhana. Ester yang terbentuk dari asam lemak dengan beberapa gugus alkohol.
 - a) Lemak. Bentuk ester asam lemak dengan gliserol. Minyak merupakan bentuk cair dari lemak.
 - b) Lilin. Bentuk ester asam lemak yang memiliki berat molekul besar dengan bentuk alkohol monohidrat.

- 2) Lipid Kompleks. Ester yang terbentuk dari asam lemak yang mengandung gugus lain yang teradisi pada gugus alkohol atau asam lemak.
 - a) Fosfolipid. Lipid yang mengandung residu asam fosfat. Molekul ini mengandung basa nitrogen dan substituen lainnya, misalnya gliserofosfolipid memiliki gugus alkohol berupa gliserol dan spingofosfolipid memiliki gugus alkohol berupa spingosin.
 - b) Glikolipid (glikospingolipid). Lipid yang mengandung asam lemak, spingosin dan karbohidrat.
 - c) Lipid kompleks lainnya. Misalnya sulfolipid , aminolipid dan lipoprotein.

- 3) Lipid prekursor dan derivat. Contoh lipid kategori ini adalah asam lemak, gliserol, steroid, aldehyd lemak, keton bodies, lipid yang terlarut pada vitamin dan hormon.

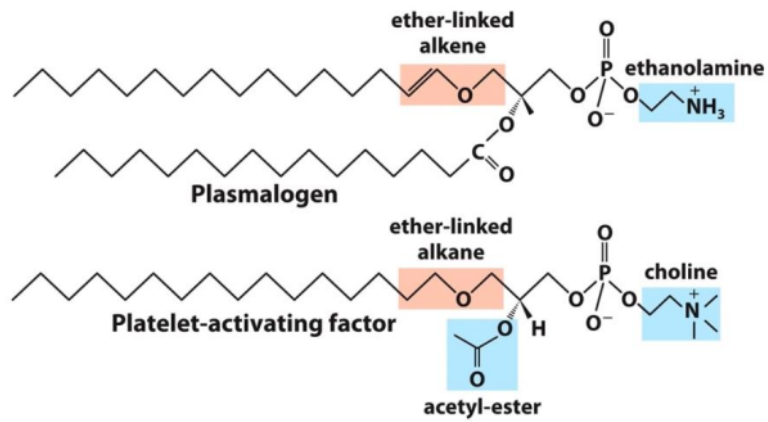
Asam Lemak

Asam lemak merupakan komponen penyusun lipid yang memiliki bentuk berupa kepala dan ekor. Kepala asam lemak berupa gugus karboksil yang diberi nomor karbon 1 dan ekor berupa senyawa hidrokarbon jenuh atau tak jenuh. Karbon setelah gugus karboksil diberi nomor 2, 3, 4 dan seterusnya. Asam lemak memiliki karbon sekitar 4 sampai 36. Adanya ikatan rangkap pada rantai karbon penyusun asam lemak sering dilambangkan dengan Δ (delta) yang diikuti dengan nomor karbon yang memiliki ikatan rangkap.



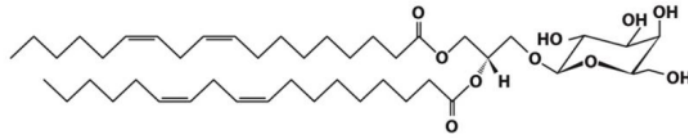
Gambar 66. (a) Asam stearat; (b) Asam Oleat; (c) Asam Linolenat

Eter lipid

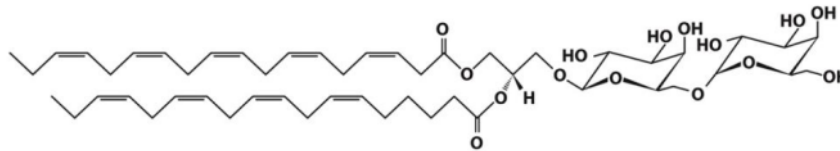


Gambar 67. Eter Lipid

Galaktolipid

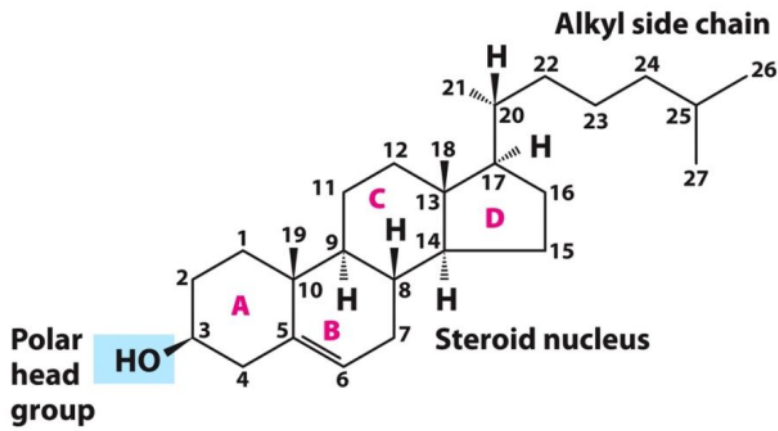


Monogalactosyldiacylglycerol (MGDG)



Digalactosyldiacylglycerol (DGDG)

Sterol



Gambar 68. Galaktolipid, Sterol

Uji minyak dan lemak diantaranya sebagai berikut.

1. Kelarutan dalam Air
2. Kelarutan dalam Alkohol;
3. Akrolein;
4. Baudouin;
5. Hubel.

Uji kelarutan lipid adalah analisis kelarutan lipid maupun derivat lipid terhadap berbagai macam pelarut. Dalam uji ini, kelarutan lipid ditentukan oleh sifat kepolaran pelarut. Apabila lipid dilarutkan ke dalam pelarut polar maka hasilnya lipid tersebut tidak akan larut. Hal tersebut karena lipid memiliki sifat nonpolar sehingga hanya akan larut pada pelarut yang sama-sama nonpolar.

Uji ketidakjenuhan digunakan untuk mengetahui asam lemak yang diuji apakah termasuk asam lemak jenuh atau tidak jenuh dengan menggunakan pereaksi Iod Hubel. Iod Hubel ini digunakan sebagai indikator perubahan. Reaksi positif ketidakjenuhan asam lemak ditandai dengan timbulnya warna merah asam lemak, lalu warna kembali lagi ke warna awal kuning bening. Warna merah yang kembali pudar menandakan bahwa terdapat banyak ikatan rangkap pada rantai hidrokarbon asam lemak. Trigliserida yang mengandung asam lemak yang mempunyai ikatan rangkap dapat diadisi oleh golongan halogen. Pada uji ketidakjenuhan, pereaksi iod huble akan mengoksidasi asam lemak yang mempunyai ikatan rangkap pada molekulnya menjadi berikatan tunggal. Warna merah muda yang hilang selama reaksi menunjukkan bahwa asam lemak tak jenuh telah mereduksi pereaksi iod huble. Uji acrolein digunakan untuk menguji keberadaan gliserin atau lemak. Uji akrolein adalah uji pada gliserol dalam bentuk bebas atau yang terdapat pada lemak dan minyak bila mengalami dehidrasi akan membentuk aldehid aksilat atau disebut juga dengan

akrolein. Reaksi positif terjadi apabila lemak yang dipanaskan dan terdehidrasi memiliki bau lemak terbakar dengan asap putih. Pada Uji Baudouin digunakan untuk mendeteksi keberadaan minyak sesame minyak wijen). Minyak sesame memberikan warna merah mawar yang khas dengan asam klorida pekat dan larutan furfural. Lemak atau minyak nabati mengandung 5% minyak sesame sedangkan lemak hewan murni tidak mengandung minyak sesame.

b. Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah berbagai jenis produk pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara untuk menentukan uji lipid pada produk tersebut. Bahaslah berdasarkan referensi jurnal metode yang dapat digunakan untuk menentukan uji lipid pada pangan tersebut.

c. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan penentuan lipid pada bahan pangan tersebut.

Prosedur percobaan

A. Uji kelarutan dalam air

1. Ambil sedikit sampel mentega dan minyak sayur lalu masukkan ke dalam tabung reaksi A dan B
2. Tuangkan sedikit aquades ke dalam tabung reaksi A dan B selanjutnya kocok tabung reaksi
3. Sampel yang tidak bercampur dalam air menunjukkan adanya minyak atau lemak dalam sampel.

B. Uji kelarutan dalam alkohol

1. Ambil sedikit sampel mentega dan minyak sayur lalu masukkan ke dalam tabung reaksi A dan B
2. Tuangkan sedikit etil alkohol ke dalam tabung reaksi A dan B dengan menggunakan pipet tetes selanjutnya kocok tabung reaksi
3. Semua sampel membentuk lapisan bawah dalam alkohol
4. Panaskan tabung reaksi ke dalam air mendidih
5. Sampel yang larut dalam pemanasan menunjukkan adanya minyak atau lemak dalam sampel

C. Akrolein

1. Ambil sedikit sampel mentega dan minyak sayur lalu masukkan ke dalam tabung reaksi A dan B
2. Tambahkan sedikit kristal kalium bisulfat menggunakan spatula ke dalam tabung reaksi A dan B
3. Panaskan tiap tabung reaksi di atas pembakar Bunsen

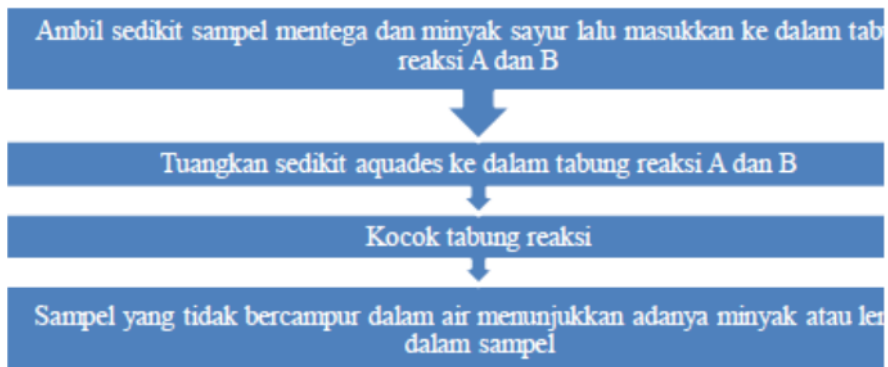
D. Baudouin

1. Ambil sedikit sampel mentega dan minyak sayur dan masukkan ke dalam tabung reaksi A dan B
2. Tambahkan sedikit HCl menggunakan pipet tetes ke dalam tabung reaksi A dan B
3. Tambahkan 2-3 tetes larutan furfural 2% ke setiap tabung reaksi menggunakan pipet tetes yang berbeda
4. Kocok tabung reaksi dan biarkan selama 5-10 menit
5. Warna merah mawar terlihat pada tabung reaksi B sedangkan pada tabung reaksi A tidak terlihat warna tersebut.

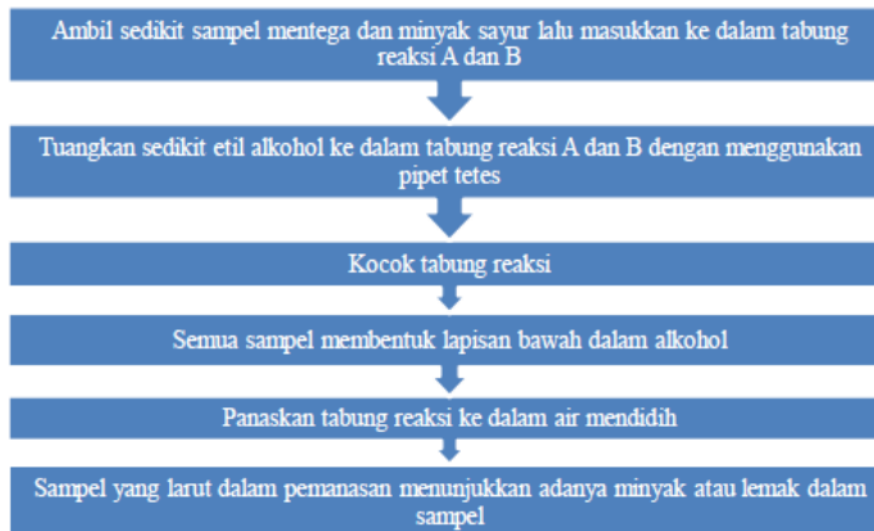
E. Hubel

1. Ambil sedikit klorofom menggunakan pipet tetes ke dalam tabung reaksi A dan B
2. Tambahkan beberapa tetes minyak biji kapas ke dalam tabung reaksi A dan beberapa tetes minyak biji rami ke dalam tabung reaksi B
3. Kocok tabung reaksi
4. Tambahkan beberapa tetes reagen Hubel pada tabung reaksi A dan B menggunakan pipet tetes.
5. Warna violet pada iodine dalam reagen memudar pada tabung reaksi B tapi tidak memudar pada tabung reaksi A. Hal ini menunjukkan bahwa minyak biji rami lebih tidak jenuh dari pada minyak biji kapas.

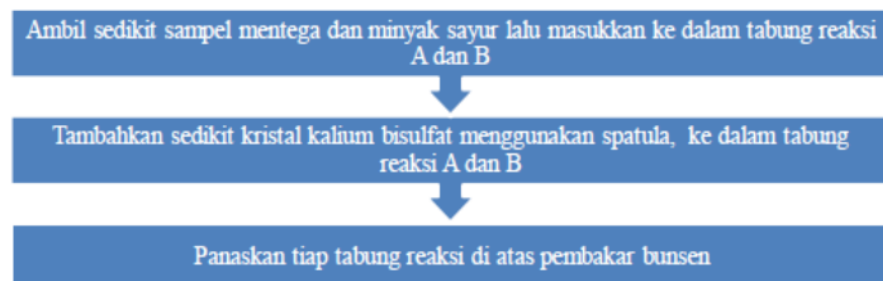
Uji Kelarutan Dalam Air



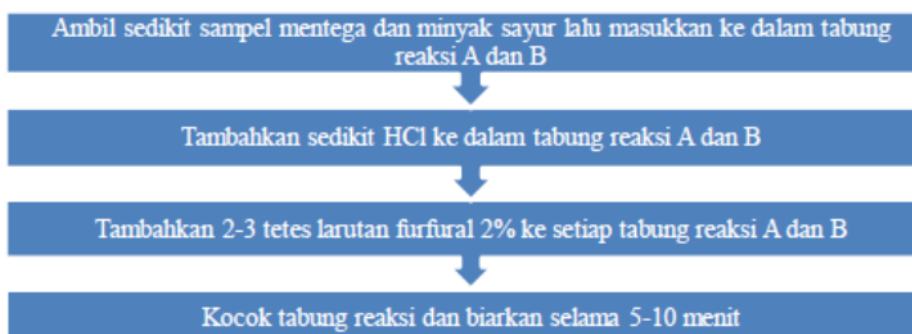
Uji kelarutan dalam alkohol



Akrolein



Baudouin



Hubel

Ambil sedikit klorofom menggunakan pipet tetes ke dalam tabung reaksi A dan B



Tambahkan beberapa tetes minyak biji kapas ke dalam tabung reaksi A dan beberapa tetes minyak biji rami ke dalam tabung reaksi B



Kocok tabung reaksi



Tambahkan beberapa tetes reagen Hubel pada tabung reaksi A dan B menggunakan pipet tetes

Contoh Uji Asam Lemak

<https://youtu.be/l2QOi9mZoFc>

Gambar 69. Video Uji Asam Lemak
Sumber: <https://youtu.be/l2QOi9mZoFc>

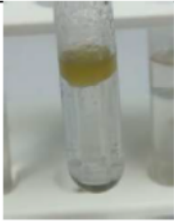

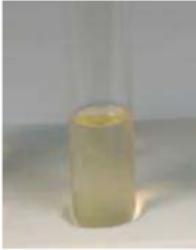

Alat dan Bahan



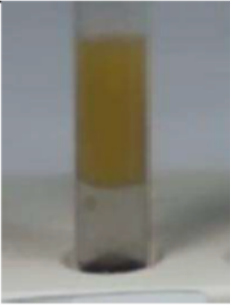
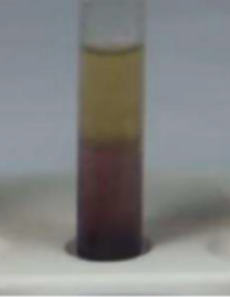
a. Alat yang digunakan

- 1) Tabung reaksi
- 2) Pipet tetes
- 3) Spatula
- 4) Pembakar Bunsen

b. Bahan yang digunakan

- 1) Minyak samin (desi ghee)
- 2) Minyak yang dimurnikan (refined oil)
- 3) Vanaspati ghee
- 4) Minyak biji kapas
- 5) Minyak biji rami
- 6) Aquades
- 7) Etil alkohol
- 8) Kalium bisulfat
- 9) HCl
- 10) Larutan furfural 2% (dalam alkohol)
- 11) Klorofom
- 12) Reagen Huble

No.	Uji minyak dan lemak	Sampel	Pengamatan	Gambar
1.	Kelarutan dalam Air	Mentega	Sampel mentega (kuning) + aquades (tidak berwarna) + [kocok] → sampel tidak bercampur dengan aquades	
		Minyak sayur	Sampel Minyak sayur (putih keruh) + aquades (tidak berwarna) + [kocok] → sampel tidak bercampur dengan aquades	
2.	Kelarutan dalam Alkohol	Mentega	Sampelmentega (kuning) + etil alkohol (tidak berwarna) + [kocok] + [terbentuk lapisan bawah] + [pemanasan dalam air mendidih] → sampel larut	
		Minyak sayur	Sampel Minyak sayur (putih keruh) + etil alkohol (tidak berwarna) + [kocok] + [terbentuk lapisan bawah] + [pemanasan dalam air mendidih] → sampel larut	

3.	Akrolein	Mentega	Sampel mentega (kuning) + kristal kalium bisulfat (putih) + [pemanasan di atas pembakar bunsen] → larutan kuning + adanya bau tengik (+)	
		Minyak sayur	Sampel minyak (tak berwarna) + kristal kalium bisulfat (putih) + [pemanasan di atas pembakar bunsen] → larutan tak berwarna Bau tengik yang menyengat (+)	
4.	Baudouin	Mentega (melted desi ghee)	Sampel mentega (kuning) + HCl (tidak berwarna) + 2-3 tetes larutan furfural 2% + [kocok dan biarkan 5-10 menit] → tidak terbentuk lapisan berwarna merah mawar (-)	
		Minyak sayur (melted vanaspati ghee)	Minyak sayur (putih keruh) + HCl (tidak berwarna) + 2-3 tetes larutan furfural 2% + [kocok dan biarkan 5-10 menit] → terbentuk lapisan berwarna merah mawar (+)	

5.	Hubel	Mentega (minyak biji kapas)	Klorofom (tidak berwarna) + minyak biji kapas (tidak berwarna) + [kocok] + reagen Hubel → warna violet dari reagen tidak memudar	
		Minyak sayur (minyak biji rami)	Klorofom (tidak berwarna) + minyak biji rami (kuning) + [kocok] + reagen Hubel → warna violet dari reagen memudar	

¹ b. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan uji lipid. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 13 Sampel Lipid

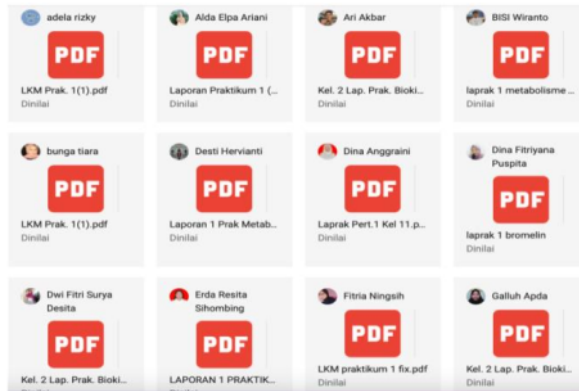
No	Uji Minyak dan Lemak	Sampel Minyak dan Lemak
1	Kelarutan dalam Air	Mentega, Minyak sayur
2	Kelarutan dalam Alkohol	Mentega, Minyak sayur
3	Akrolein	Mentega, Minyak sayur
4	Baudouin	Mentega, Minyak sayur
5	Hubel	Mentega, Minyak sayur

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchrone WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

a. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 12 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 12.



Gambar 70. Submit Laporan 12 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

Amrita University. 2013. *Qualitative Analysis of Oil and Fats* <https://youtu.be/l2QOI9mZoFc>. di akses pada tanggal 3 November 2020.

Buckle, K.A, R.A Edwards, G.H. Fleet, and M. Wootton. 2007. Ilmu Pangan (Food Science). Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).

⁷
Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company

Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.

Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.

⁵
Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

12. Penentuan Kadar Asam Lemak Metode Saponifikasi

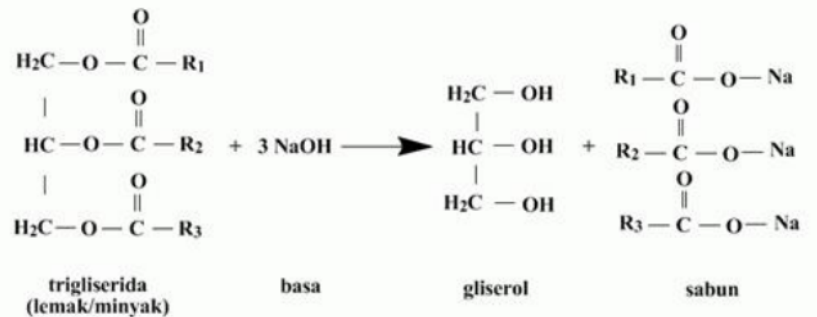
Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

Istilah saponifikasi dalam literatur berarti "soap making". Akar kata "sapo" dalam bahasa Latin yang artinya soap/sabun. Pengertian Saponifikasi (saponification) adalah reaksi yang terjadi ketika minyak /lemak dicampur dengan larutan alkali. Ada dua produk yang dihasilkan dalam proses ini, yaitu Sabun dan Gliserin. Saponifikasi adalah proses penyabunan yang mereaksikan suatu lemak atau gliserida dengan basa. Jenis alkali yang umum digunakan dalam proses saponifikasi adalah NaOH, KOH, Na_2CO_3 , NH_4OH , dan ethanolamines. NaOH, atau yang biasa dikenal dengan soda kaustik dalam industri sabun, merupakan alkali yang paling banyak digunakan dalam pembuatan sabun keras. KOH banyak digunakan dalam pembuatan sabun cair karena sifatnya yang mudah larut dalam air, Na_2CO_3 (abu soda/natrium karbonat) merupakan alkali yang murah dan dapat menyabunkan asam lemak, tetapi tidak dapat menyabunkan trigliserida (minyak atau lemak). Bilangan penyabunan adalah jumlah milligram KOH yang diperlukan

untuk menyabunkan satu gram minyak atau lemak. Saponifikasi adalah suatu reaksi refining secara fisik yang dilakukan dengan menambahkan basa pada minyak yang dimurnikan dengan cara dipanaskan dengan alkali, seperti kalium Hidroksida (KOH). Konsentrasi basa yang digunakan pada proses saponifikasi mempengaruhi viskositas, tinggi busa dan nilai pH sabun yang dihasilkan. Saponifikasi dapat menjadi penentu mutu minyak kelapa karena mempengaruhi kandungan asam lemak dalam fraksi minyak. Apabila semakin rendah nilai saponifikasi maka semakin tinggi asam lemak yang terkandung.

Apabila sejumlah contoh minyak atau lemak disabunkan dengan larutan KOH berlebihan dalam alkohol, maka KOH akan bereaksi dengan trigliserida, yaitu tiga molekul KOH bereaksi dengan satu molekul minyak atau lemak. Larutan alkali yang tertinggal ditentukan dengan titrasi menggunakan asam, sehingga jumlah alkali yang turut bereaksi dapat diketahui. Besar kecilnya bilangan penyabunan ini tergantung pada panjang atau pendeknya rantai karbon asam lemak atau dikatakan juga bahwa besarnya bilangan penyabunan tergantung pada berat molekul lemak tersebut. Makin kecil berat molekul lemak, makin besar bilangan penyabunan. Adapun reaksi penyabunan dapat di lihat sebagai berikut.



b. Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah berbagai jenis produk pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara untuk menentukan kandungan lipid secara kuantitatif pada produk tersebut. Bahaslah berdasarkan refrensi jurnal metode yang dapat digunakan untuk menentukan kandungan lipid secara kuantitatif pada pangan tersebut.

c. Penstrukturan Ide

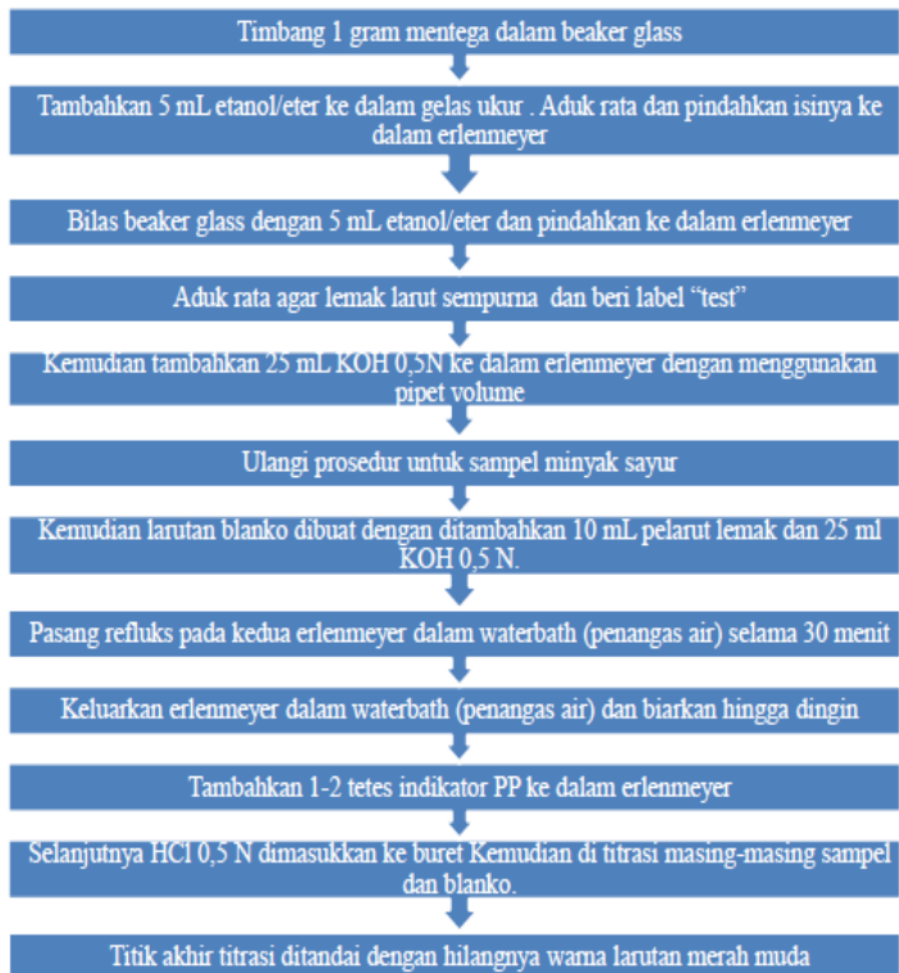
Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan penentuan lipid pada bahan pangan dengan metode Safonifikasi.

Prosedur percobaan

1. Timbang 1gram mentega dalam beaker glass
2. Tambahkan 5 mL etanol/eter ke dalam gelas ukur. Aduk rata dan pindahkan isinya ke dalam Erlenmeyer
3. Bilas beaker glass dengan 5 mL etanol/eter dan pindahkan ke dalam Erlenmeyer
4. Aduk rata agar lemak larut sempurna dan beri label "test"
5. Kemudian tambahkan 25 mL KOH 0,5N ke dalam erlenmeyer dengan menggunakan pipet volume
6. Ulangi prosedur untuk sampel minyak sayur

7. Kemudian larutan blanko dibuat dengan ditambahkan 10 mL pelarut lemak dan 25 ml KOH 0,5 N.
8. Pasang refluks pada kedua erlenmeyer dalam waterbath (penangas air) selama 30 menit
9. Keluarkan erlenmeyer dalam waterbath (penangas air) dan biarkan hingga dingin
10. Tambahkan 1-2 tetes indikator PP ke dalam Erlenmeyer
11. Selanjutnya HCl 0,5 N dimasukkan ke buret Kemudian di titrasi masing-masing sampel dan blanko.
12. Titik akhir titrasi ditandai dengan hilangnya warna larutan merah muda

Adapun diagram alir percobaan adalah sebagai berikut.



Contoh Uji asam lemak dengan Safonifikasi

<https://youtu.be/ersHDsiAVko>

Gambar 71. Video Uji asam lemak dengan Safonifikasi
Sumber: <https://youtu.be/ersHDsiAVko>

Alat dan Bahan

a. Alat yang digunakan

- 1) Timbangan analitik
- 2) Gelas ukur
- 3) Erlenmeyer flask
- 4) Gelas beker
- 5) Kondensor reflux
- 6) Waterbath (penangas air)
- 7) Buret
- 8) Statif

Bahan yang digunakan

- 1) Lemak
- 2) Etanol/eter
- 3) KOH 0,5 N
- 4) Indikator fenolftalein
- 5) HCl 0,5 N

c. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan penentuan kadar asam lemak. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 14. Sampel Penentuan kadar asam lemak

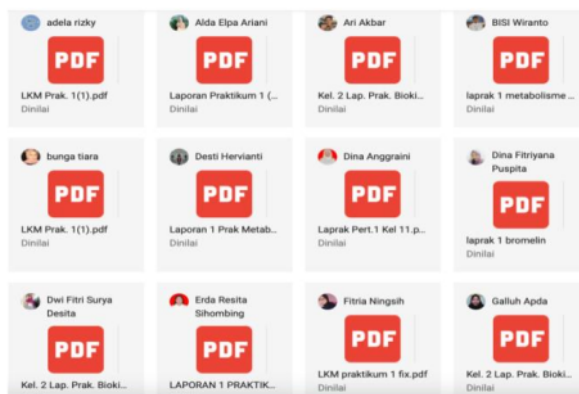
Sampel Lipid
1 Gram mentega, dan 1 Gram minyak sayur

Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchronus WhatsApp dan google classroom mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

a. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 13 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 13.



Gambar 72. Submit Laporan 13 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

Amrita University. 2013. *Estimation of Saponification Value of Oils & Fats* <https://youtu.be/ersHDsiAVko>. di akses pada tanggal 3 November 2020.

7

Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company

Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.

Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.

5

Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

13. Pengaruh pH Dan Suhu Terhadap Reaksi Enzimatik

Capaian Pembelajaran Mata Kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan akhir pada percobaan ini adalah mahasiswa mampu melakukan proses evaluasi diri terhadap kelompok kerja yang berada dibawah tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan praktikum: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan mensubmit Laporan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

a. Orientasi

Enzim sebagai katalisator ikut bereaksi dan mempercepat reaksi kimia, tetapi pada akhir reaksi akan didapatkan kembali dalam bentuk semula, sehingga dapat mengkatalisis reaksi kimia berikutnya. Kenyataan ini mengakibatkan tubuh tidak perlu memproduksi enzim dalam jumlah yang besar (kadar enzim di dalam tubuh kecil), sehingga pengukuran enzim tidak bisa dilakukan secara langsung. Enzim amilase mencerna amilum secara bertahap, menghasilkan produk diantaranya suatu disakarida yang tidak berwarna bila direaksikan dengan yodium. Enzim amilase diproduksi di kelenjar liur, pankreas, dan usus halus. Enzim ini bertugas memecah zat pati atau karbohidrat menjadi gula (glukosa). Saat makanan yang mengandung karbohidrat dikunyah, kelenjar liur di dalam mulut akan menghasilkan amilase.

12

Ada dua jenis utama enzim amilase yaitu alpha dan beta. Alpha-amilase ditemukan dalam air liur manusia, di mana ia memulai proses kimia dalam pencernaan dengan hidrolisis pati. Alpha-amilase juga ditemukan dalam pankreas. Beta-amilase ditemukan dalam biji beberapa tanaman, serta bakteri, ragi, dan jamur. Amilase juga ditemukan pada hewan lain yang menggunakannya untuk membantu proses pencernaan. Enzim ini mulai bekerja di mulut ketika makanan dikunyah, memecah ikatan polisakarida yang memiliki kaitan sama untuk membuat rantai molekul pati. Pati alami mengandung glukosa, di mana tubuh memisahkannya agar dapat memberikan nutrisi yang tepat ke aliran darah.

Dengan memutus dan memisahkan berbagai ikatan dalam pati, amilase dapat mengekstrak gula sehingga dapat disimpan dalam tubuh. Proses ini dimulai di mulut dan yang berlanjut pada pankreas, di mana lebih banyak enzim yang digunakan untuk memecah karbohidrat dan meloloskan makanan melalui sistem pencernaan. Bagi seseorang yang tidak mampu memproduksi cukup amilase untuk benar memecah pati, suplemen kesehatan yang mengandung amilase dapat membantu mengkompensasi kekurangan tubuh.

9

Untuk mengetahui pengaruh pH pada reaksi enzimatik, dilakukan pengamatan reaksi antara amilum sebagai substrat dan amilase sebagai enzim yang dilakukan pada beberapa pH yang berbeda. Amilum merupakan suatu polisakarida yang berwarna biru bila bereaksi dengan yodium. Perubahan warna yang terjadi (berkurangnya warna biru) menunjukkan sebagian substrat telah dicerna oleh enzim amilase. Perubahan warna tersebut dapat diukur menggunakan alat spektrofotometer. Untuk mengetahui pengaruh suhu terhadap reaksi enzimatik dilakukan percobaan seperti diatas menggunakan pH 6,5 dan dilakukan pada beberapa macam suhu yang berbeda yaitu: 27, 40 dan 70° Celsius sedangkan faktor-faktor lain yang berpengaruh pada reaksi enzimatik dibuat sama.

b. Pencetusan Ide

Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah berbagai jenis produk pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara bagaimana kerja enzim amilase dalam proses pencernaan makanan. Bahaslah berdasarkan refrensi jurnal yang dapat digunakan untuk membahas reaksi yang terjadi pada proses tersebut.

c. Penstrukturan Ide

Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan pengaruh pH dan suhu terhadap reaksi enzimatik.

Prosedur percobaan

Prosedur Pengaruh pH terhadap Reaksi Enzimatik

1. Sediakan 5 tabung reaksi, berilah tanda masing-masing 0', 5', 10', 15', dan 20'.
2. Masukkan ke dalam sebuah labu erlenmeyer 15 ml larutan penyangga dengan berbagai pH yang telah ditentukan, 3 ml larutan amilum dan 6 ml larutan NaCl 0,9 %. Kocoklah agar semua larutan tercampur.
3. Isilah masing-masing tabung reaksi yang telah diberi tanda dengan 1 ml larutan HCl 0,05 N.
4. Ambillah 1 ml cairan dari labu erlenmeyer dan masukkan ke dalam tabung reaksi dengan tanda 0', kocok sebentar.
5. Tambahkan 1 ml larutan enzim ke dalam labu erlenmeyer dan campur dengan cepat. Tepat pada saat penambahan enzim ini catatlah waktunya (jalankan stopwatch).

6. Mendekati 5 menit setelah enzim dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, pipetlah 1 ml larutan dari labu erlenmeyer. Masukkan larutan dalam pipet tersebut ke dalam tabung reaksi bertanda 5' tepat pada saat penunjuk waktu menunjukkan 5 menit. Kocok sebentar.
7. Demikian seterusnya : tepat setiap 5 menit kemudian masukkan 1 ml larutan dari labu erlenmeyer berturut-turut ke dalam tabung-tabung reaksi dengan tanda 10', 15', dan 20' seperti di atas. Kocok sebentar.
8. Setelah semua selesai, ke dalam tiap tabung reaksi tambahkan 1 ml larutan KI-KIO₃, campur baik-baik sampai merata, tunggu 5 – 10 menit.
9. Tentukan intensitas warna yang terjadi dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 660 nm.

Jumlah substrat yang dicerna pada setiap waktu yang telah ditentukan dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Substansi yang dicerna} = 100\% - \frac{(\text{Absorbance}) \text{ waktu } t}{(\text{Absorbance}) \text{ waktu } t_0} \times 100\%$$

Catat hasil yang didapat, kemudian berdasarkan data tersebut buatlah grafik hubungan antara % substrat yang dicerna (ordinat) dengan waktu (absis).

Prosedur Pengaruh Suhu Terhadap Reaksi Enzimatis

1. Isilah labu erlenmeyer dengan: 15 ml larutan penyangga pH 6,5; 3 ml larutan amilum, 6 ml larutan NaCl 0,9%. Campur baik-baik, lalu letakkan pada suhu yang telah ditentukan selama kira-kira 30 menit.
2. Sediakan 5 tabung reaksi, beri tanda 0', 5', 15' dan 20'.
3. Isilah masing-masing dengan 10 ml larutan HCl 0,05 N.

4. Ambillah 1 ml larutan dari erlenmeyer, masukkan ke dalam tabung reaksi tanda 0'. Lalu masukkan 1 ml larutan enzim ke dalam erlenmeyer. Campur dengan cepat dan jalankan pencatat waktu. Setiap 5 menit setelah ini, masukkan 1 ml, larutan dari erlenmeyer berturut-turut ke dalam tabung 5', 10' 15' dan 20'.
5. Setelah semua selesai, tambahkan 1 ml larutan KI-KO₃ ke dalam tiap-tiap tabung reaksi, campur baik-baik dan tunggu 5-10 menit.
6. Tentukan intensitas warna yang timbul dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 660 nm.
7. Buat grafik yang menunjukkan hubungan antara % substrat tercerna (ordinat) dengan waktu (absis) pada bermacam suhu di atas.

Alat dan Bahan

1. Larutan enzim amilase
2. Larutan NaCl 0,9 %
3. Larutan amilum 1 %
4. Larutan penyangga, masing-masing kelompok dengan satu macam pH (pH 4; 5; 6,5; 8 dan 10)
5. Larutan KI-KIO₃ : KI 5,0 g; KIO₃ 0,357 g; NaOH 1 N 2,0 ml; Aqua ad 1 L
6. Larutan HCL 0,05 N

Contoh Uji pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim



Gambar 73. Video Uji pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim
Sumber: <https://youtu.be/QhjJmgzrWUA>

d. Aplikasi

Berdasarkan rancangan yang telah di buat, bersama kelompok saudara lakukan percobaan pengaruh pH dan suhu terhadap reaksi enzimatik. Praktikum dilakukan sesuai operasional prosedur laboratorium kimia Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unsri. Lakukanlah percobaan berikut ini.

Tabel 14 Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Reaksi Enzimatik

Sampel
1. Amilum
2. Enzim Amilase

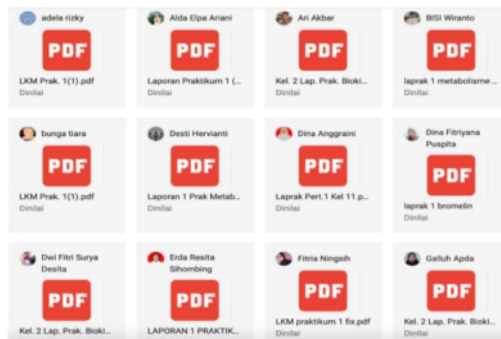
Saudara dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen mata kuliah Biokimia 1 melalui media asynchronus WhatsApp dan google classroom

mengenai proses pekerjaan yang saudara lakukan. Saudara bekerjalah sesuai dengan lembar kerja mahasiswa yang sudah disiapkan. Selanjutnya pada hari yang telah ditentukan melakukan elaborasi antara kelompok mahasiswa, dan dosen pengasuh matakuliah. Elaborasi dilakukan secara luring atau syncronus daring melalui aplikasi elearning Unsri atau dengan Zoom meeting. Pada saat elaborasi hal yang paling penting adalah melaporkan proses pekerjaan dan pengamatan yang dilakukan. Permasalahan yang terjadi dan bagaimana menyelesaikan permasalahan tersebut.

¹ a. Refleksi

Selanjutnya hasil elaborasi tersebut jika ada perbaikan ditindak lanjuti untuk diperbaiki kemudian dituangkan dalam "Laporan 14 Praktikum Biokimia 1". Laporan tersebut di buat sesuai dengan format Lembar Kerja Mahasiswa yang telah di sediakan, kemudian di submit ke <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

Contoh submit laporan praktikum Biokimia 1 pada pertemuan 14.



Gambar 74. Submit Laporan 14 Praktikum Biokimia 1
Sumber: Praktikum Biokikima 1 PKimia FKIP Unsri

Laporan praktikum biokimia 1 minimal memuat hal-hal sebagai berikut yaitu: nomor percobaan, nama percobaan, tujuan percobaan, landasan teori, prosedur percobaan, diagram alir percobaan, alat dan bahan, pengamatan, pembahasan, jawaban pertanyaan, kesimpulan dan daftar pustaka.

DAFTAR PUSTAKA

- 7
Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger Principles of Biochemistry sixth edition*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Ramos, V. 2020. *Effects of Temperature and pH on Enzyme Activity*. <https://youtu.be/QhjJmgzrWUA>. di akses pada tanggal 3 November 2020.
- Sutejo, R.I., Hairuddin, Sugianta, Efendi, E. 2013. *Petunjuk Praktikum Biokimia*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Sutejo, R.I., Hairuddin, Sugianta, Efendi, E. 2013. *Petunjuk Praktikum Biokimia*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- 5
Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

Bahan Ajar Praktikum Biokimia 1

ORIGINALITY REPORT

36%

SIMILARITY INDEX

23%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

28%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

Submitted to Sriwijaya University

Student Paper

14%

2

www.scribd.com

Internet Source

7%

3

repository.syekhnurjati.ac.id

Internet Source

2%

4

www.dictio.id

Internet Source

2%

5

es.scribd.com

Internet Source

2%

6

fkip.unsri.ac.id

Internet Source

1%

7

digre.pmf.unizg.hr

Internet Source

1%

8

docplayer.info

Internet Source

1%

9

docobook.com

Internet Source

1%

10	kelantan19.blogspot.com Internet Source	1 %
11	jurnal.akfarsam.ac.id Internet Source	1 %
12	www.sumberwawasan.com Internet Source	1 %
13	Submitted to Universidad de Costa Rica Student Paper	1 %
14	fr.scribd.com Internet Source	1 %
15	repository.uhamka.ac.id Internet Source	1 %
16	www.slideshare.net Internet Source	1 %
17	elkaphia.blogspot.com Internet Source	1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography Off