

# buku ajar praktikum Biokimia K5FN

*by* Made Sukaryawan

---

**Submission date:** 12-Oct-2022 01:54PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 1923272703

**File name:** Buku\_Ajar\_Praktikum\_Biokimia\_1\_K5FN\_UJI\_TURNITIN.pdf (9.34M)

**Word count:** 20853

**Character count:** 125192

# **BAHAN AJAR**

**PRAKTIKUM BIOKIMIA 1**  
**BERBASIS KONSTRUKTIVISME 5**  
**PHASE NEEDHAM**

**PENULIS**

**DRS. MADE SUKARYAWAN, M.Si., Ph.D**  
**DR. DIAH KARTIKA SARI, M.Pd**

# **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](mailto:bening.mediapublishing@gmail.com)  
Website: [www.bening-mediapublishing.com](http://www.bening-mediapublishing.com)

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

## DAFTAR ISI

1. Kata Pengantar	1
2. Daftar Isi	3
3. Pendahuluan	4
4. Reaksi Uji Asam Amino	6
5. Reaksi Uji Protein	35
6. Kurva titrasi asam amino	61
7. Titrasi formal asam amino	74
8. Penentuan Kadar Protein Secara Biuret	80
9. Penentuan Kadar Protein Secara Lowry	88
10. Kromatografi lapis tipis asam amino	98
11. Pengaruh pH dan suhu terhadap reaksi enzimatik	112
12. Isolasi kasein dari susu	120
13. Uji Karbohidrat	129
14. Penentuan Kadar Glukosa	154
15. Uji Lipid	164
16. Penentuan Kadar Lipid Metode Safonifikasi	182
17. Lampiran Rencana Pembelajaran Semester Praktikum Biokimia 1	190

## <sup>1</sup> A. Pendahuluan

Peningkatan akses pendidikan tinggi, link and match lulusan, dan penyerapan tenaga kerja di Era Industri 4.0 telah direncanakan oleh pemerintah, melalui Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia. Untuk mendukung program tersebut, perlu diterapkan strategi inovasi yang tepat dalam proses pembelajaran sehingga dapat diakses secara luas. Salah satu strategi pembelajaran yang dapat dilakukan adalah dengan mengembangkan inovasi pembelajaran dengan menggunakan media digital, sehingga interaksi antara guru dan siswa berlangsung melalui pembelajaran digital.

Pembelajaran digital menuntut guru dan siswa untuk berkomunikasi secara interaktif melalui pemanfaatan teknologi informasi dan komunikasi, seperti media komputer dengan internet, telepon genggam dengan berbagai aplikasi, video, telepon atau fax. Penggunaan media ini tergantung pada struktur materi pembelajaran dan jenis komunikasi yang dibutuhkan. Transkrip percakapan, contoh informatif, dokumen tertulis, atau pelajaran web terkait digital yang menunjukkan contoh teks lengkap adalah cara umum untuk mendokumentasikan materi pendidikan penting secara digital. Lebih banyak komunikasi visual mencakup grafik papan tulis, terkadang dikombinasikan dengan sesi obrolan dan konferensi video, yang memungkinkan pelajar yang ingin menggunakan media berbeda untuk bekerja dengan pesan yang tidak dicetak.

Pel perkuliahan Biokimia 1 Bagi Mahasiswa Pendidikan Kimia, FKIP Universitas Sriwijaya dapat dilaksanakan secara offline maupun online melalui pembelajaran digital. Siswa dapat melakukan eksperimen di lab atau di rumah mereka sendiri, dari

desain<sup>1</sup> sampai melaporkan hasil percobaannya. Komunikasi online dapat dilakukan melalui media digital seperti *e-learning unsri, google classroom, WhatsApp dan Zoom meeting*. Pelaksanaan praktikum dimodifikasi dalam rencana pembelajaran semester (RPS) yang dibuat (dapat dilihat pada lampiran) dengan inovasi bahan dan alat yang digunakan dan mudah diperoleh oleh mahasiswa. Hasil Pembelajaran Lulusan (CPL) untuk program studi yang ditugaskan pada mata kuliah ini dapat dilihat pada RPS yang terdiri dari CPL-S9, CPL-P4 dan CPL KU8. Proses pembelajaran ini tentunya harus direfleksikan untuk perbaikan di masa mendatang, dan saran yang membangun sangat diharapkan. Terima kasih kepada rekan-rekan, mahasiswa dan semua yang terlibat dalam proses penyusunan bahan ajar 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**

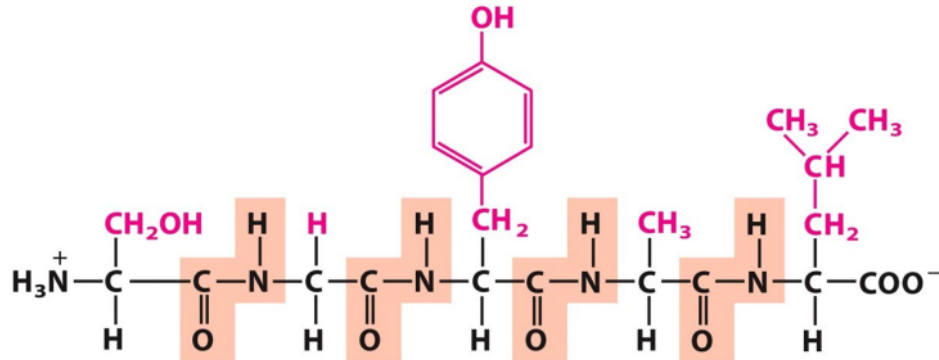
Hasil Belajar Mata kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu bertanggung jawab untuk bekerja di bidang keahliannya secara mandiri (CPMK1), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini mahasiswa mampu bertanggung jawab untuk mengelola (merancang, mengimplementasikan dan melaporkan) Uji Amino Pengalaman Asam (Sub-CPMK1). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, merinci, membuat dan melaporkan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

#### **a. Orientasi**

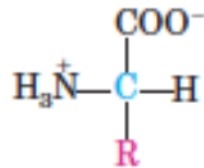
Protein adalah polimer yang dibentuk dari manomer asam amino melalui ikatan kovalen. Protein dapat dihidrolisis menjadi asam amino penyusunnya dengan berbagai metode, dan studi paling awal tentang protein secara alami



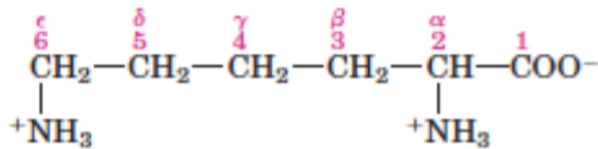
berfokus pada asam amino bebasnya. Protein alam terbentuk dari 20 jenis asam amino melalui ikatan kovalen yaitu ikatan peptida.



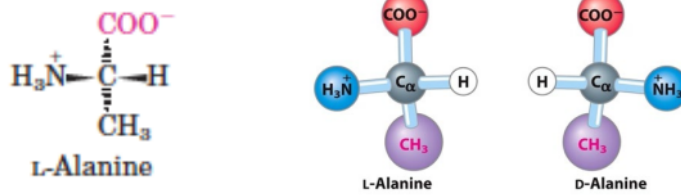
Semua 20 asam amino umumnya memiliki gugus karboksil dan gugus amino yang terikat ke atom karbon yang sama yaitu pada atom karbon ( $\text{C } \alpha$ ).



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.

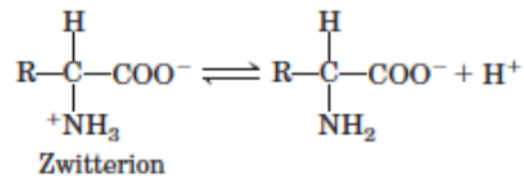


Semua asam amino yang bersifat optik aktif yang menyusun protein alam berada dalam bentuk stereoisomer L.

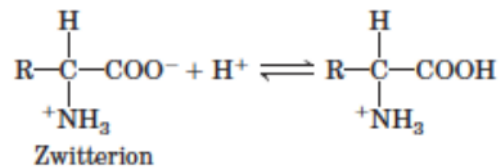


Semua asam amino bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan dapat bereaksi dengan basa.

Bersifat asam sebagai donor proton:



Bersifat basa aseptor proton:



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

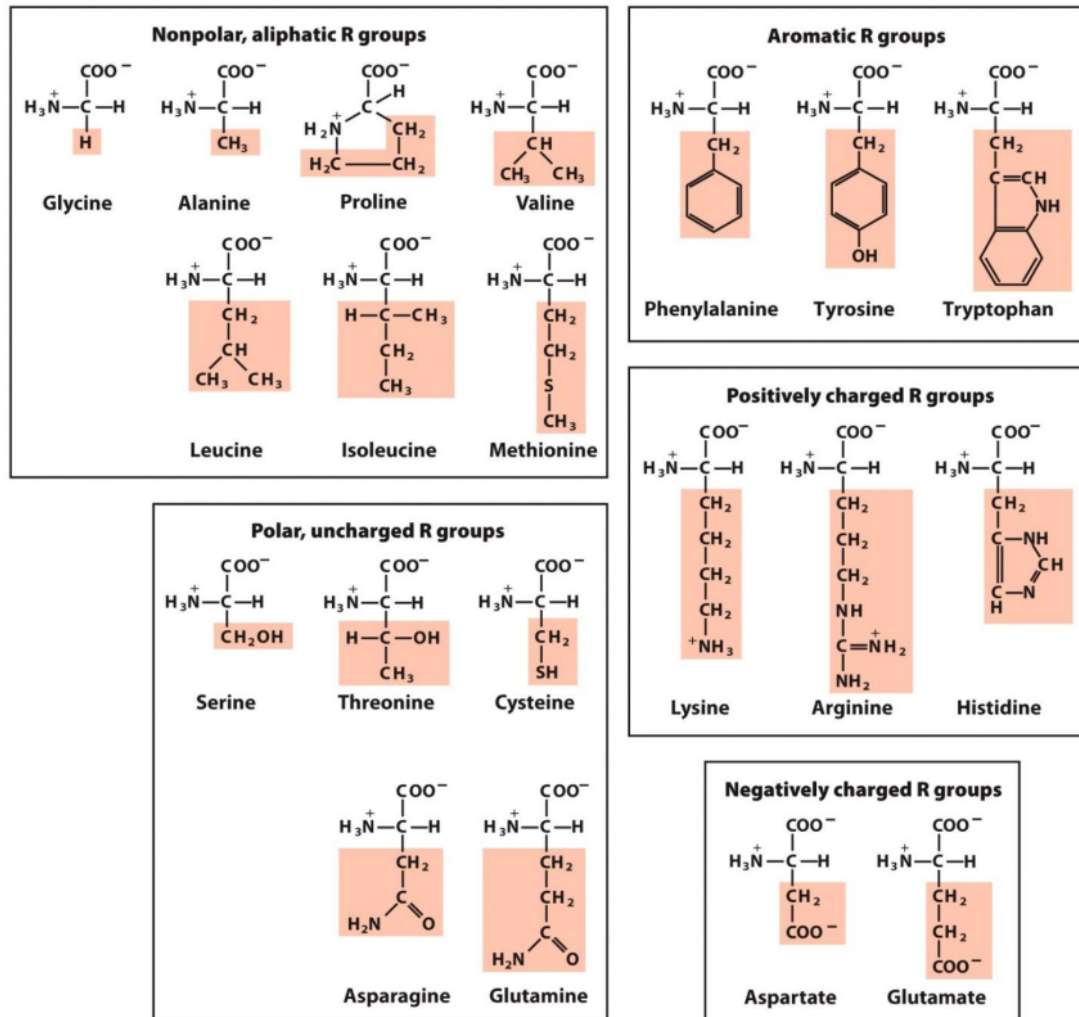


Asam amino tersebut berbeda satu sama lain dalam rantai samping atau gugus alkilnya (-R) yang bervariasi dalam struktur, ukuran, dan muatan listrik, dan yang mempengaruhi kelarutan asam amino dalam air. Asam amino yang umum dari protein dalam penulisannya telah diberi simbol tiga huruf dan simbol satu 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 <sup>†</sup>	Occurrence in proteins (%) <sup>†</sup>
			$pK_1$ (-COOH)	$pK_2$ (-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	$pK_R$ (R group)			
<b>Nonpolar, aliphatic R groups</b>								
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
<b>Aromatic R groups</b>								
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 <sup>‡</sup>	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
<b>Positively charged R groups</b>								
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
<b>Negatively charged R groups</b>								
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](https://res.cloudinary.com/dk0z4ums3/image/upload/v1591066888/attached_image/ketahui-makanan-berprotein-tinggi-dan-manfaatnya-di-sini-0-alodokter.jpg)

## b. Pencetusan Ide

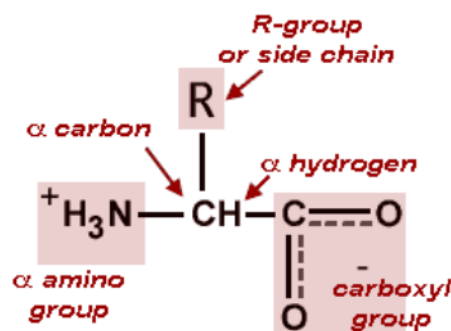
Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah bahan pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara tentang kandungan protein dan asam amino masing-masing bahan pangan tersebut sesuai dengan Lembar Kerja Mahasiswa (LKM) yang telah disediakan. Bahaslah manfaat asam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

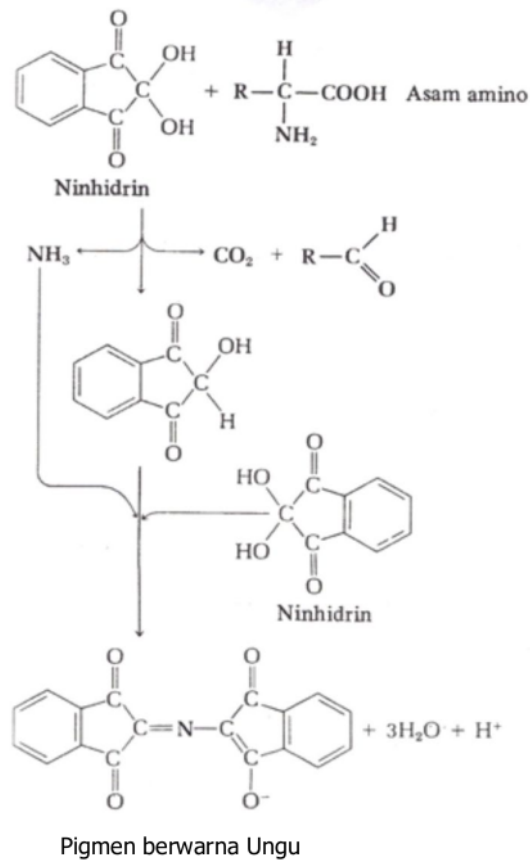
### 1. Uji Ninhidrin

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 ( $\alpha$ ) 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.

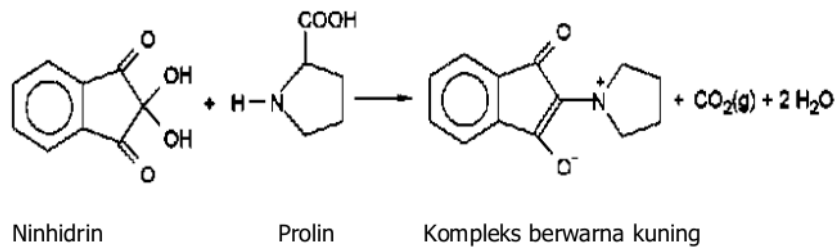


Ninhidrin mendegradasi asam amino menjadi aldehida, amonia dan CO<sub>2</sub> (pada kisaran pH 4-8) melalui serangkaian reaksi. Hasil akhirnya adalah ninhidrin yang sebagian tereduksi dari hidrindantin. Ninhidrin kemudian mengembun dengan amonia dan hidrindantin untuk menghasilkan pigmen berwarna biru 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

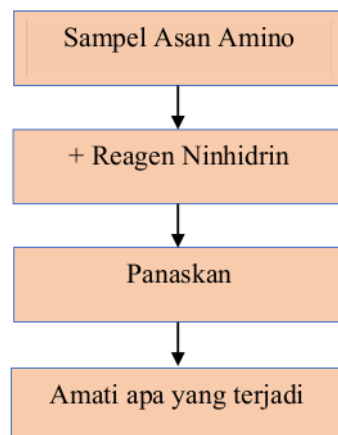
**Prosedur :**

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

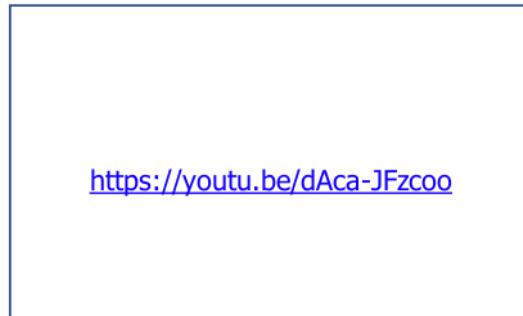
- Warna apa yang terbentuk?
- Gugus apa yang memberikan uji positif?

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.



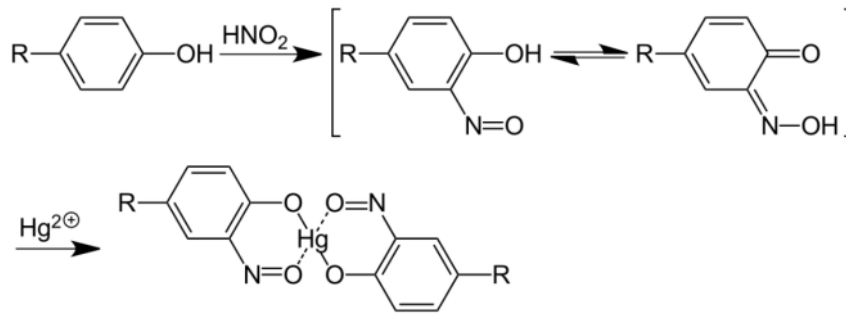
## Contoh Uji Ninhidrin



Gambar 4. Video Uji Ninhidrin  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

## 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)

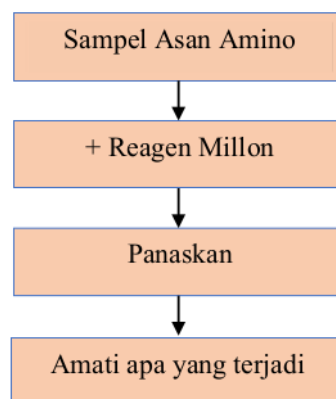
**Prosedur :**

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

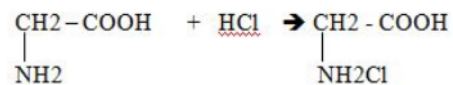
<https://youtu.be/O6xjfvqVP60>

Gambar 6 Video Uji Millon  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

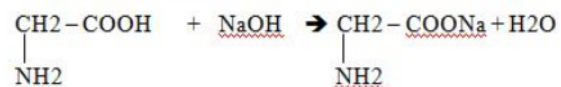
### 3. Uji Kelarutan

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: H<sub>2</sub>O, 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.

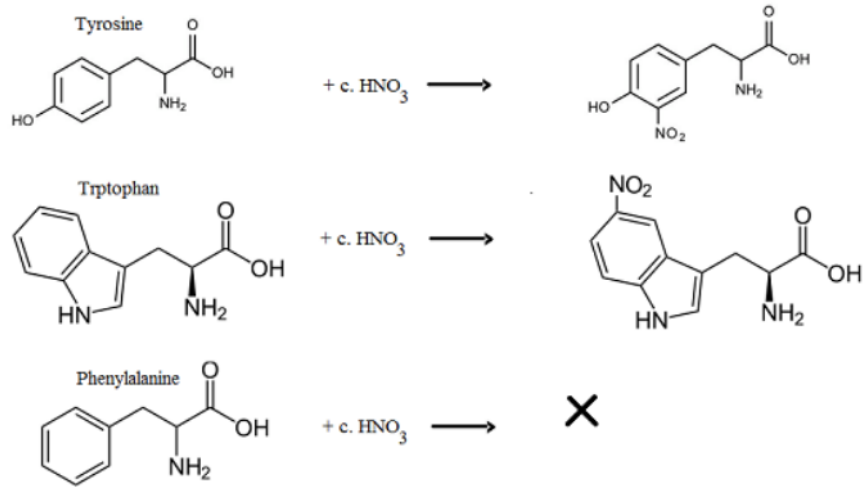
Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



#### 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 HNO<sub>3</sub> pekat. Garam dari turunan ini berwarna oranye. Larutan HNO<sub>3</sub> 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.



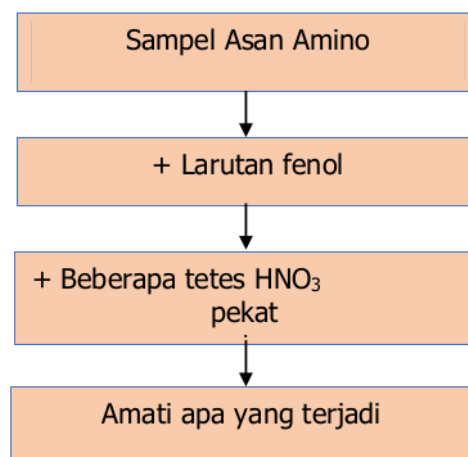
n

Gambar 7. Uji Xanto Protein

HNO<sub>3</sub> 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<sub>3</sub> 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.





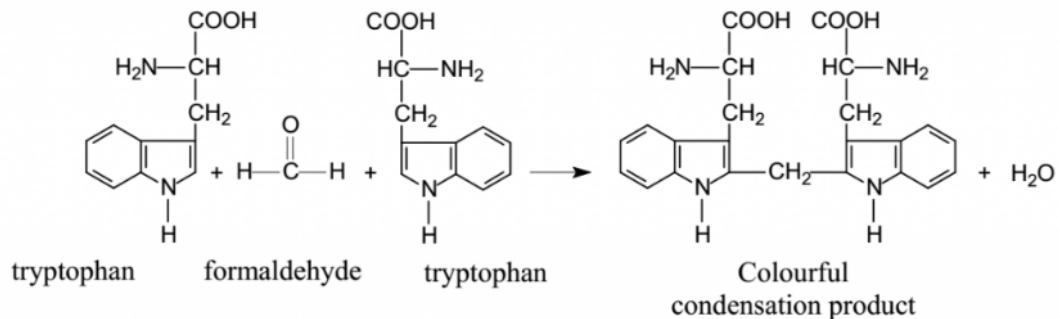
## Contoh Uji Xanto Protein

[https://youtu.be/qe0yf94B\\_nY](https://youtu.be/qe0yf94B_nY)

Gambar. 8 Video Uji Xanto Protein  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

### 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat

**Alat :**

- Pipet tetes
- Tabung reaksi

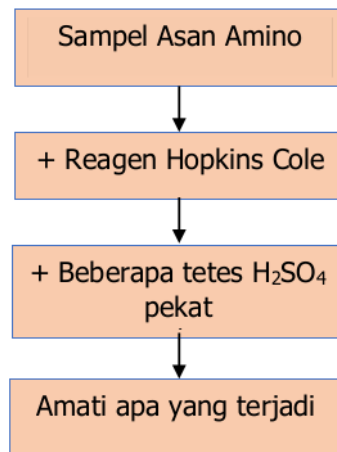
**Prosedur :**

Ke dalam 2 ml larutan protein tambahkan 5 tetes reagen Hopkins-Cole. Tambahkan sedikit demi sedikit kira-kira sebanyak 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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

<https://youtu.be/JOzCpNy8ZR0>

Gambar 10 Video Hopkins-Cole  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

## 6. Reaksi Sistin Dan Reaksi Sistein

### a. Sistin

#### **Bahan :**

- Sistin
- NaOH 1 N
- Timbal asetat

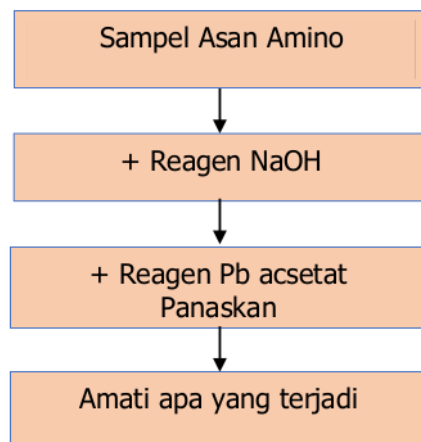
#### **Prosedur :**

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

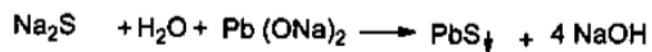
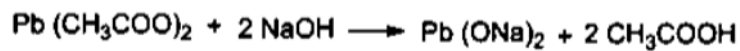
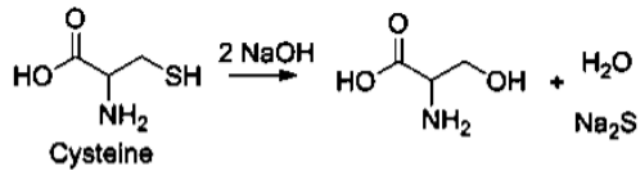
#### **Pertanyaan :**

1. Warna endapan?
2. Apa yang mengendap?

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



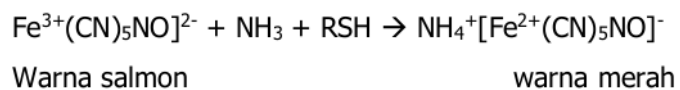
Reaksi yang terjadi sebagai berikut.



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
- $\text{NH}_4\text{OH}$
- $\text{H}_2\text{O}$

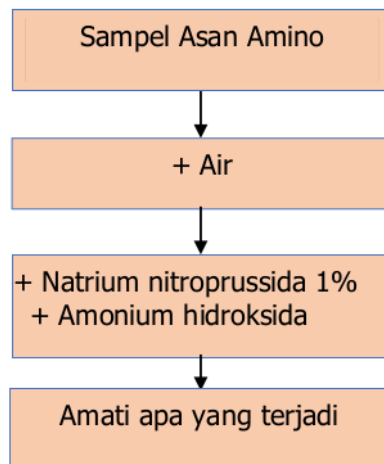
**Prosedur :**

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

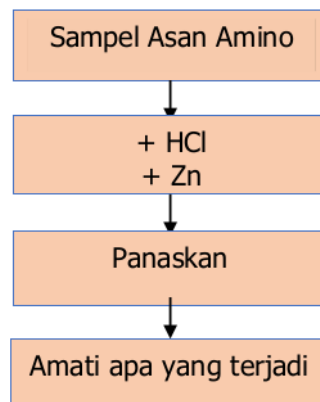
**Bahan :**

- Sistin
- HCl 0,5 N
- Seng
- Larutan Natrium Nitroprussida 1%
- NH<sub>4</sub>OH
- H<sub>2</sub>O

**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

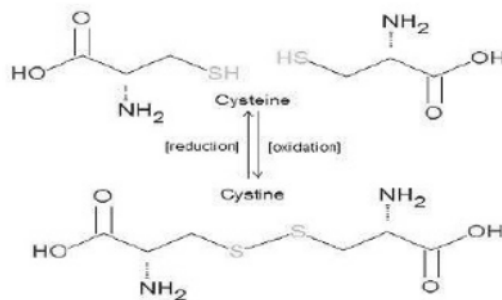
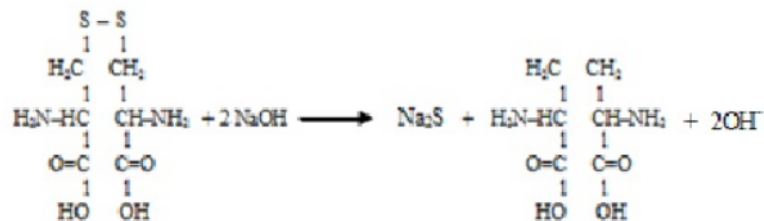
### **Bahan :**

- Sistein hidroklorida
- Larutan ferriklorida
- Air
- Larutan natrium nitroprusida 1%
- NH<sub>4</sub>OH

### **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:

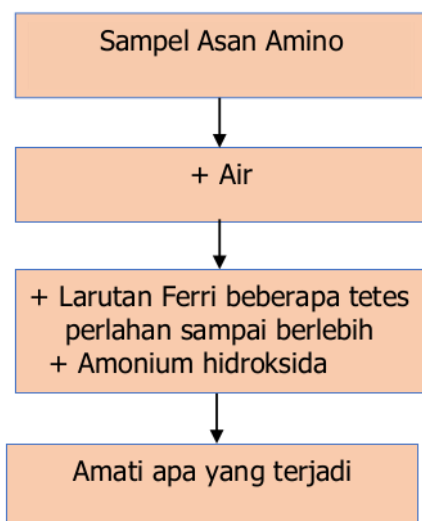




**Pertanyaan :**

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

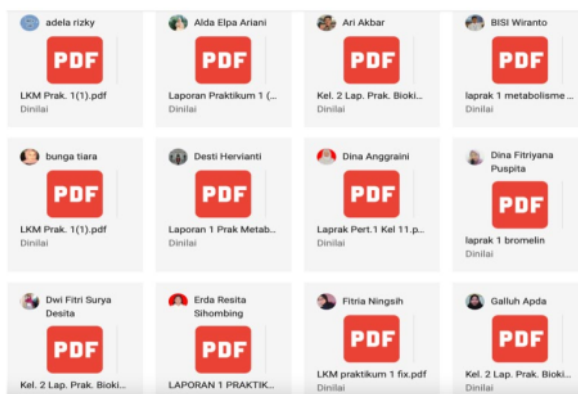
No	Uji Asam Amino	Sampel Asam Amino
1	Uji Millon	Triptofan, Tyrosin, Arginin
2	Uji Hopkins-Cole	Triptofan, Tyrosin, Lysin
3	Uji Ninhidrin	Alanin, Valin, Leusin, Fhenilalanin, Serin, Treonin, Asparagin, Prolin.
4	Uji Kelarutan	Metionin, Alanin, Valin, Leusin, Fhenilalanin, Serin, Treonin, Asparagin, Prolin,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

Anda dapat berkolaborasi dengan sesama mahasiswa atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 anda melalui *WhatsApp* dan *media Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Elaborasi dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi e-Learning Unsri atau melalui Zoom meeting. Pada saat ielaborasi, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

### 1 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

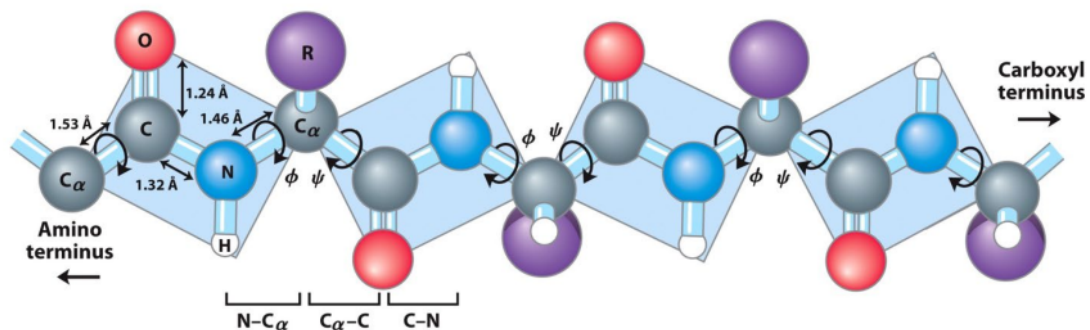
- 10  
Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- BCM202. 2019. *Hopkins-Cole Test*. <https://youtu.be/aUBQofFZ4xs>. diakses pada tanggal 21 september 2020.
- 5  
Nelson, D.L., Cox, M.M. 2013. *Lehninger 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.
- Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran 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

Hasil Belajar Mata kuliah yang direncanakan sedemikian rupa sehingga mahasiswa mampu bertanggung jawab secara mandiri terhadap pekerjaan di bidang keahliannya (CPMK1), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini adalah mahasiswa mampu bertanggung jawab untuk mengelola (merancang, mengimplementasikan dan pelaporan) pengalaman uji Protein (subbagian). CPMK2). Pengalaman belajar yang didapat adalah siswa melakukan latihan-latihan: Plan, Amati, Analisis, elaborasi, Buat dan Laporkan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di [google classroom](#).

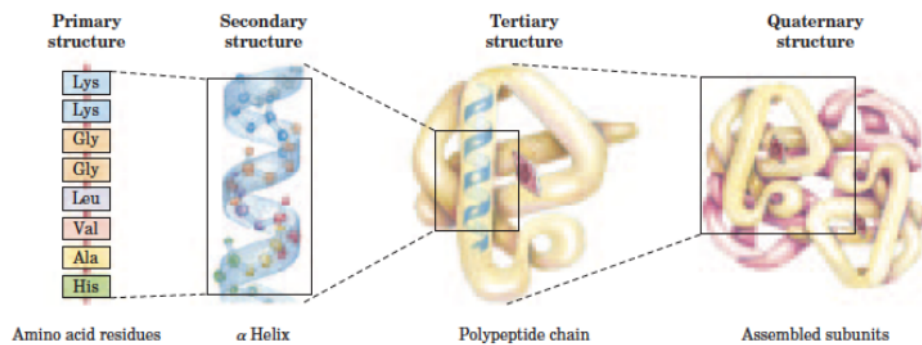
### c. Orientasi

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.

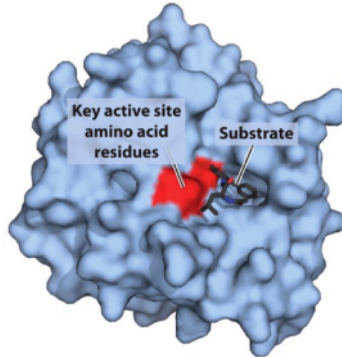


Gambar 13 Struktur Protein  
Sumber: Lehninger (2013).

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

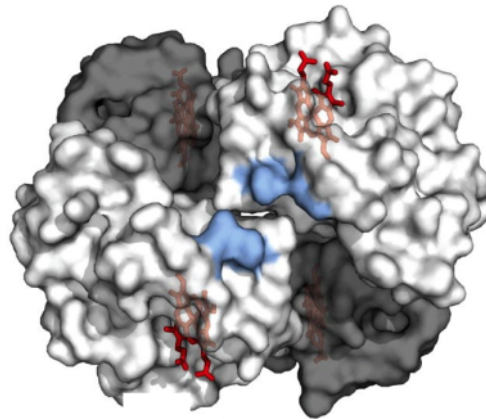
Protein sebagai enzim berfungsi sebagai biokatalisator, yaitu mengkatalisis reaksi-reaksi yang terjadi pada makhluk hidup. Semua enzim merupakan protein, tetapi sebaliknya semua protein belum tentu sebagai enzim. Hampir semua reaksi kimia biomolekul di dalam sel dikatalisis oleh enzim. Contoh enzim antara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



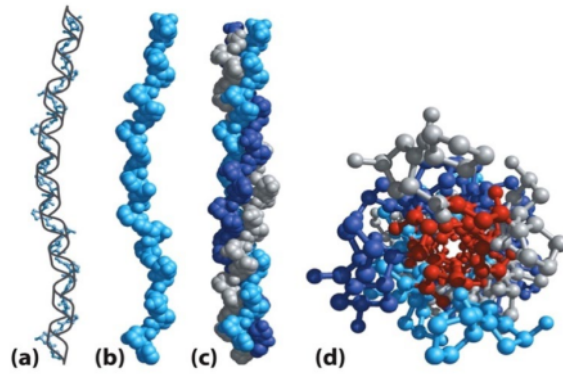
f. Protein Pertahanan

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.

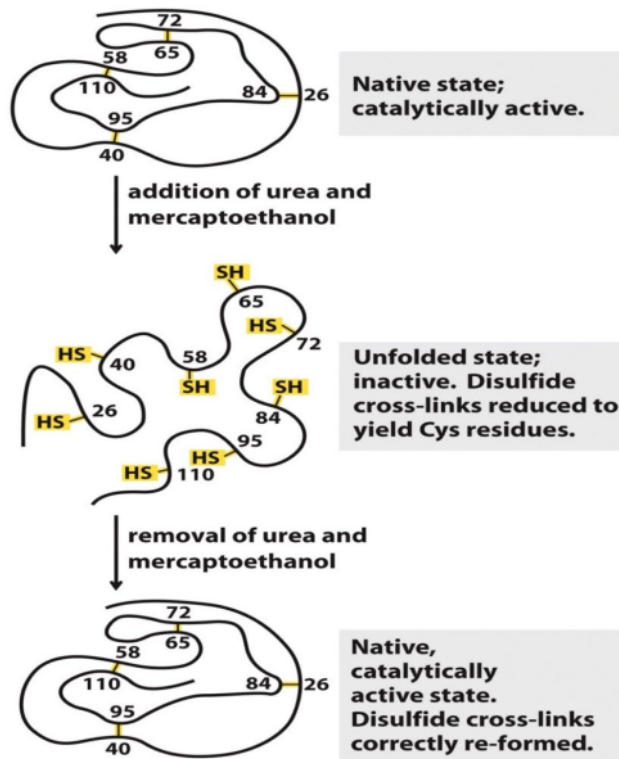
g. Protein Pengatur

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**

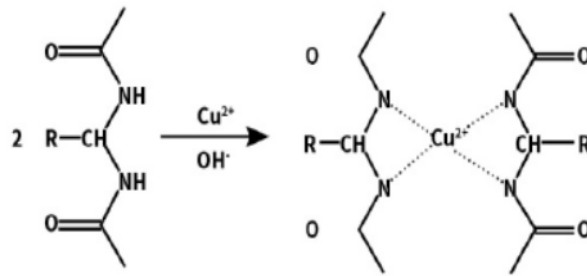
Pahamilah orientasi di atas yang telah disajikan, kemudian amatilah bahan pangan disekeliling saudara, bahaslah bersama kelompok saudara tentang kandungan protein masing-masing bahan pangan tersebut. Bahaslah manfaat protein yang dikandung bahan pangan tersebut pada organisme hidup.

#### **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
- CuSO<sub>4</sub> 0,01 N

**Prosedur :**

Tambahkan 1 ml NaOH 2,5 N ke dalam 3 ml larutan protein dan aduk. Tambahkan setetes CuSO<sub>4</sub> 0,01 M. Aduk, jika tidak timbul warna tambahkan lagi setetes atau 2 tetes CuSO<sub>4</sub>.

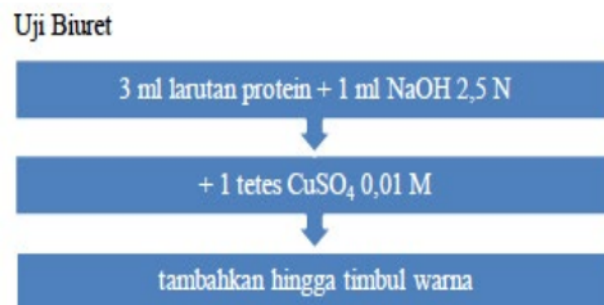
**Pertanyaan :**

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

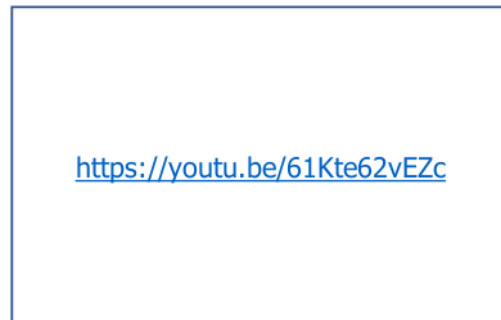


Gambar 18. Positif Uji Biuret (berwarna Ungu)

Adapun Diagram Alir Percobaan sebagai berikut.



Contoh Uji biuret



Gambar 19. Video Uji Biuret  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

## 2. Pengendapan Dengan Logam

### **Bahan :**

- Larutan protein
- $\text{HgCl}_2$  0,2 M
- Timbal asetat 0,2 M

### **Prosedur :**

Ke dalam 3 ml larutan protein tambahkan 5 tetes  $\text{HgCl}_2$  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 :**

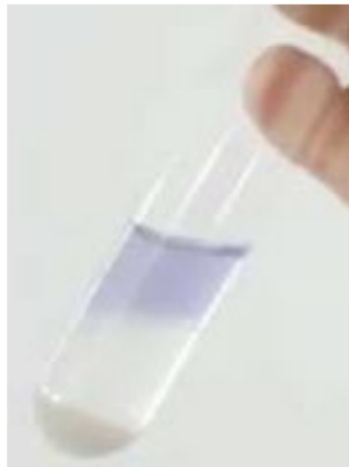
- Larutan protein
- Larutan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- Reagen millon
- Reagen untuk uji biuret

**Prosedur :**

Jenuhkan 10 ml larutan protein dengan amonium sulfat. Untuk melakukan pekerjaan: pertama, tambahkan sedikit garam dan aduk sampai larut. Tambahkan sedikit amonium sulfat dan aduk terus sampai sedikit garam tetap tidak larut. Ketika larutan jenuh, itu disaring. Uji kelarutan endapan dalam air. Uji presipitasi dengan pereaksi Millon dan piltrat menggunakan uji Biuret.

**Pertanyaan :**

1. Bahaslah hasil-hasilnya!



Gambar 20. Pengendapan dengan garam

**4. Uji Koagulasi**

**Bahan :**

- Asam asetat 1 M
- Larutan protein
- Reagen Millon
- H<sub>2</sub>O

**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.

**Contoh Uji Koagulasi**

<https://youtu.be/hzRxGDFBSk0>

Gambar 21. Video Uji Koagulasi  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri



Gambar 22. Koagulasi Protein

**Pertanyaan :**

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



## 5. Pengendapan Dengan Alkohol

Lakukanlah prosedur pada tabel berikut ini

<b>Tabung</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
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?

Contoh Uji Pengendapan dengan Alkohol



Gambar 23. Video Uji Pengendapan dengan Alkohol  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri



Gambar 24. 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 :**

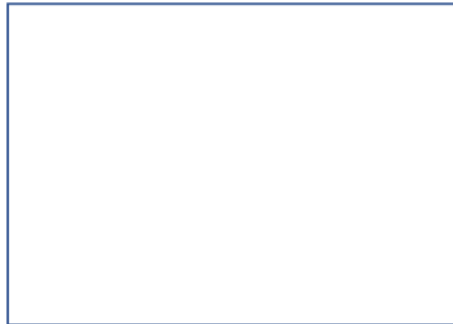
<b>Tabung</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
Sampel (lihat di aplikasi)	9 ml	9 ml	9 ml
Buffer asetat pH 4,7 (1 M)	-	-	1 ml
HCl 0,1 M	1 ml	-	-
NaOH 0,1 M	-	1 ml	-

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?

Contoh Uji Denaturasi Protein



Gambar 25. Video Denaturasi Protein  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri



Gambar 26. Denaturasi Protein

## 7. Uji Sulfur Dalam Protein

### **Bahan :**

- "Fusion mixture" (3 bagian natrium karbonat anhidris dengan 2 bagian kalium nitrat).
- Albumin telur
- HCl
- Larutan BaCl<sub>2</sub>

### **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 BaCl<sub>2</sub>.

### **Pertanyaan :**

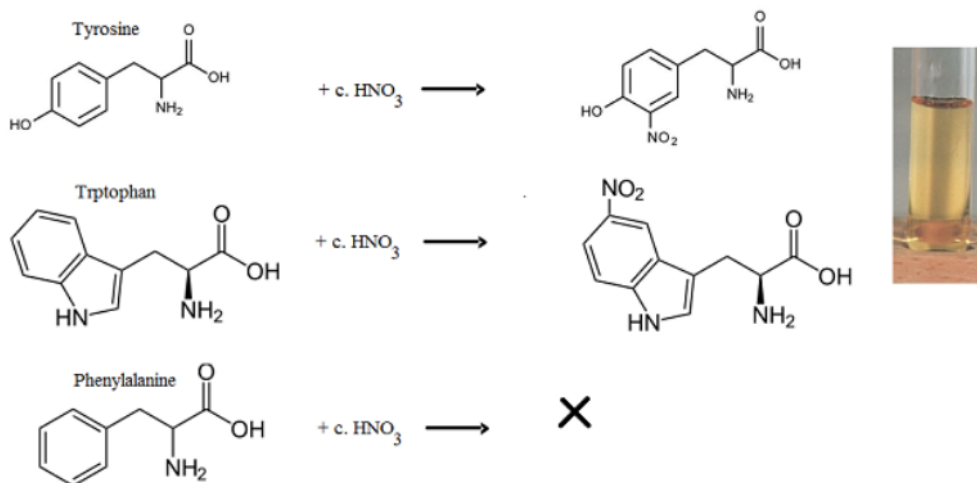
1. Mengapa protein memberikan uji positif untuk sulfur?
2. Unsur-unsur apa yang biasa ada dalam protein tetapi tidak ada dalam lipid dan karbohidrat?



Gambar 27. Uji Sulfur positif (endapan hitam)

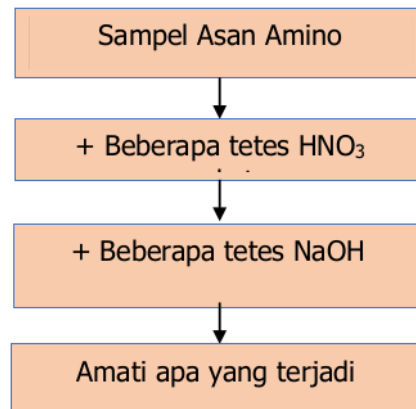
## 8. Uji Xanto Protein

Protein yang mengandung asam amino inti aromatik memberikan warna kuning setelah pemanasan dengan  $\text{HNO}_3$  pekat. Garam dari turunan ini berwarna oranye. Larutan  $\text{HNO}_3$  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.

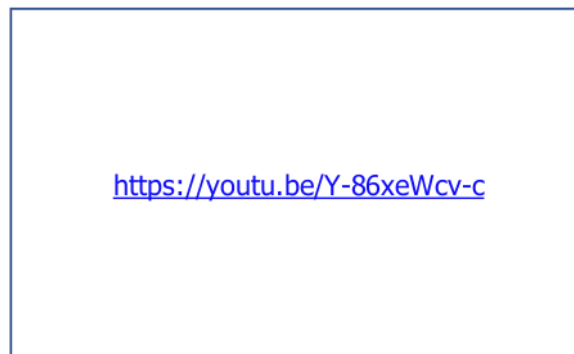


Kedalam beberapa tabung tabung reaksi (sesuai dengan sampel percobaan), tambahkan 0,5 ml masing-masing larutan protein kemudian tambahkan beberapa tetes  $\text{HNO}_3$  pekat. Bandingkan warna dengan yang diberikan oleh blangko menggunakan air sebagai gantinya. Sekarang dinginkan di bawah keran dan 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 28. Video Uji Xanto Protein  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

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 $\text{CuSO}_4$ (biru) → larutan berwarna ungu muda Menunjukkan reaksi positif 
		Putih telur	Sampel putih telur (putih) + larutan NaOH (TB) + larutan $\text{CuSO}_4$ (biru) → larutan berwarna ungu (pekat) Menunjukkan reaksi positif 
		Tepung kacang	Sampel tepung kacang (putih) + larutan NaOH (TB) + larutan $\text{CuSO}_4$ (biru) → larutan berwarna ungu muda Menunjukkan reaksi positif 
		Ikan	Sampel ikan (putih) + larutan NaOH (TB) + larutan $\text{CuSO}_4$ (biru) → larutan berwarna ungu (pekat) Menunjukkan reaksi positif

			
2.	Uji xantoprotein	Susu	Susu + HNO <sub>3</sub> → Larutan Berwarna Kuning dan terbentuk cincin (Positif) 
		Gelatin	Gelatin + HNO <sub>3</sub> → Larutan berwarna kuning (Negatif) 
		Putih telur	Putih telur + HNO <sub>3</sub> → Larutan berwarna kuning jingga dan terbentuk cincin (Positif) 
3.	Uji koagulasi	Susu	Sampel susu ( Putih ) + 2 tetes larutan CH <sub>3</sub> 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 <math>\text{CH}_3\text{COOH}</math> (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 CH<sub>3</sub>COOH (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 <math>\text{CH}_3\text{COOH}</math>  (TB) dipanaskan <math>\rightarrow</math> terbentuk endapan</p>  <p>Endapan + air <math>\rightarrow</math> endapan putih tak larut</p>  <p>Endapan + reagen millon <math>\neq</math> tidak terdapat endapan merah bata</p> 

## a. Aplikasi

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

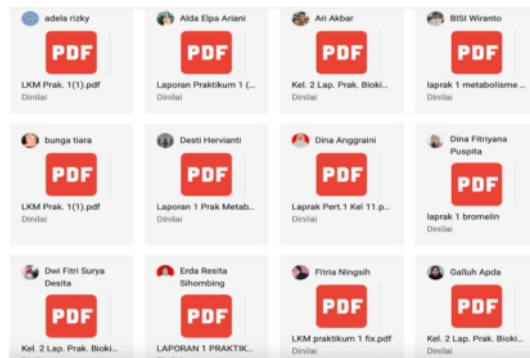
Anda dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui WhatsApp dan media *Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Detailing dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat merinci, yang paling penting adalah

melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

#### 1 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 29. 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

- <sup>10</sup> 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
- <sup>5</sup> 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.
- Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- <sup>4</sup> Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

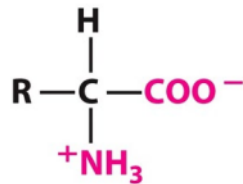
### 3. Kurva titrasi Asam Amino

Hasil Pembelajaran Mata kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa telah menguasai prinsip-prinsip K3 (keselamatan dan keamanan kerja), manajemen laboratorium dan teknologi untuk penggunaan peralatan dan instrumen kimia serta menangani masalah lingkungan, sedangkan kemampuan akhir dalam pengalaman ini adalah bahwa mahasiswa telah menguasai prinsip-prinsip pengelolaan laboratorium K3, teknologi penggunaan alat dan bahan kimia (Sub-CPMK3). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah mahasiswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan 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 (NH<sub>2</sub>). 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 bagi makhluk hidup yaitu sebagai penyusun protein. Kurva titrasi memberikan gambaran tentang muatan listrik asam amino karena ada hubungan antara muatan listrik total dan pH larutan, misalnya asam amino alanin pada pH 6,02 merupakan titik transisi antara dua fase titrasi, alanin ada sebagai bentuk dipol atau zwitterion yang terionisasi dengan medan listrik, Sifat pH ini disebut pH isoelektrik, yang merupakan rata-rata nilai  $pK$ . Pada pH yang lebih tinggi, alanin isoelektrik memiliki muatan negatif, dan dengan demikian akan bergerak menuju elektroda positif (anoda) ketika ditempatkan dalam medan listrik. Pada setiap pH di bawah titik elektronegatif, alanin memiliki muatan positif dan akan bergerak menuju elektroda negatif di katoda. Semakin tinggi pH larutan alanin di atas titik isoelektrik, semakin tinggi pula muatan listrik total molekul alanin. Berikut struktur zwitterion asam amino, nilai  $pK$  asam amino.



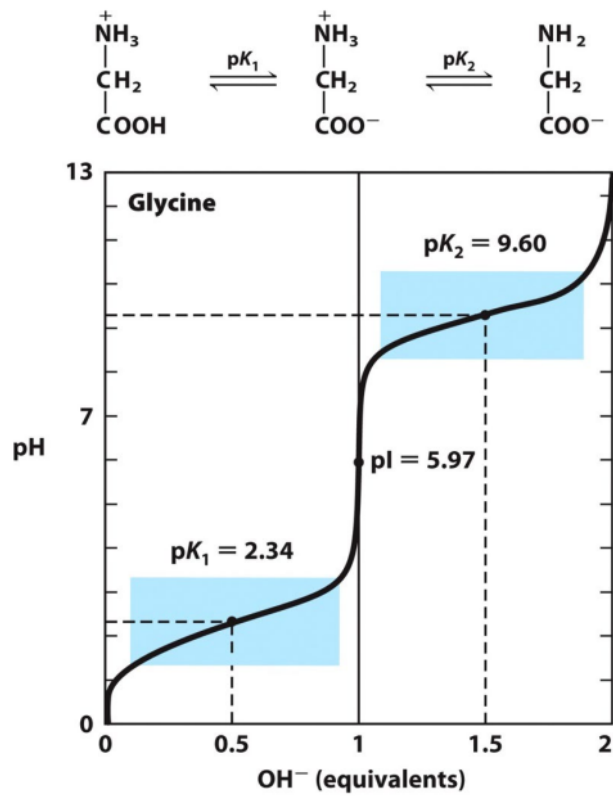
Gambar 27. Zwitterion



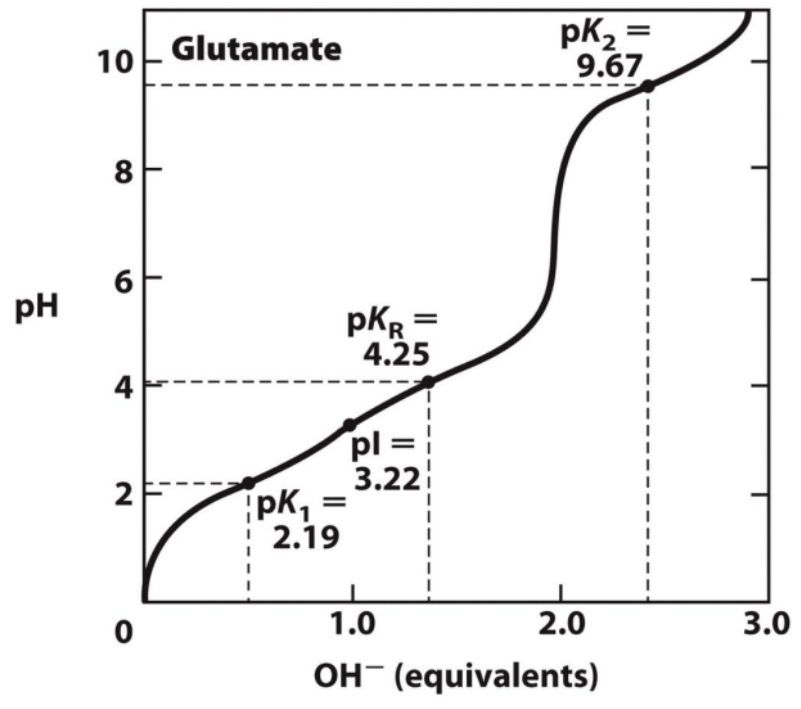
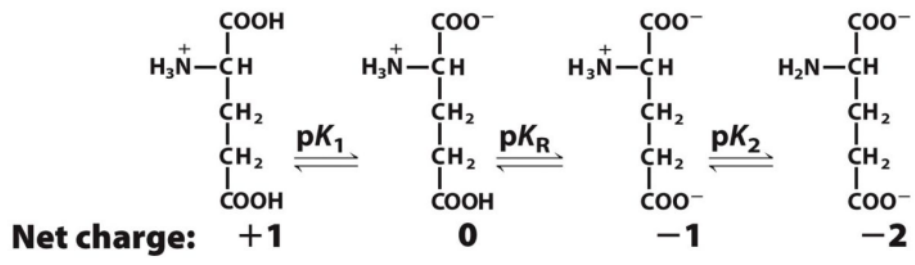
Amino acid	Abbreviation/ symbol	$M_r^*$	$pK_a$ values			pI	Hydropathy index <sup>†</sup>	Occurrence in proteins (%) <sup>‡</sup>
			$pK_1$ (-COOH)	$pK_2$ (-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	$pK_R$ (R group)			
<b>Nonpolar, aliphatic R groups</b>								
Glycine	Gly G	75	2.34	9.60		5.97	-0.4	7.2
Alanine	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
<b>Aromatic R groups</b>								
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
<b>R groups</b>								
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 <sup>§</sup>	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
<b>Positively charged R groups</b>								
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
<b>Negatively charged R groups</b>								
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)

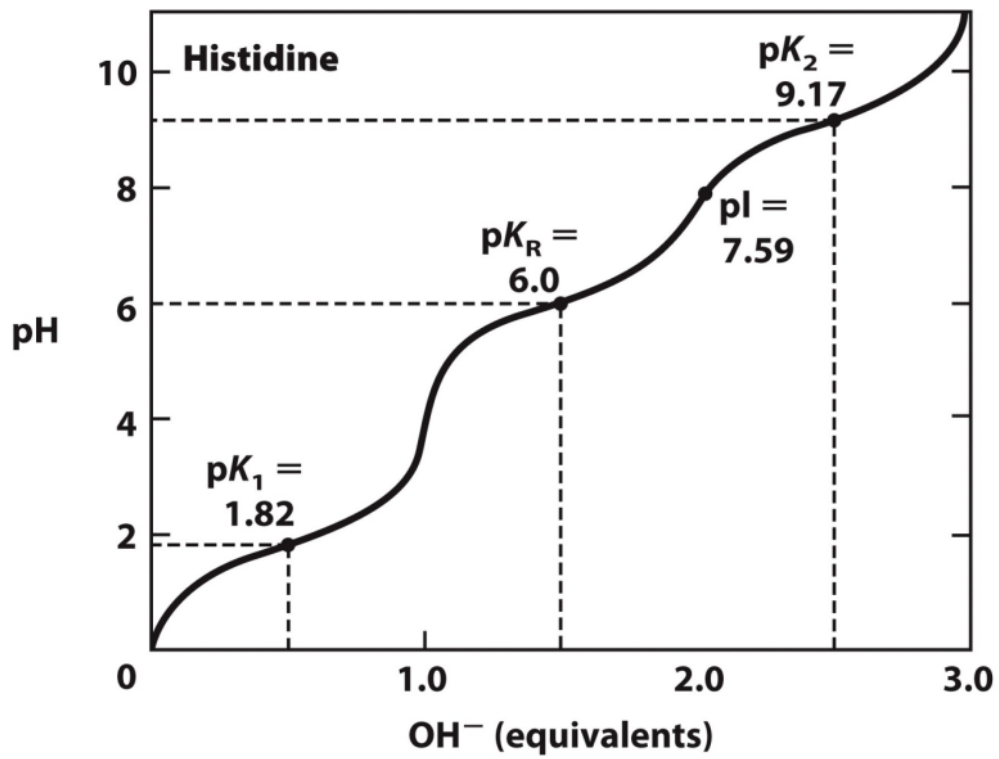
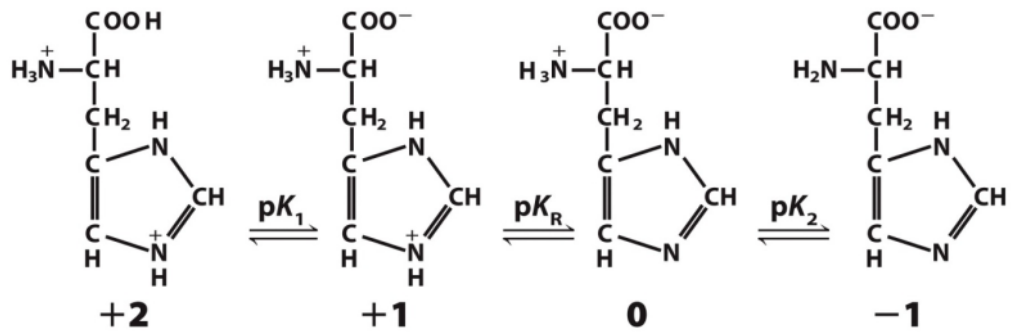
Kurva titrasi asam amino glisin dengan NaOH dapat di lihat pada garfik berikut.



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 diatas 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>



#### <sup>1</sup> 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

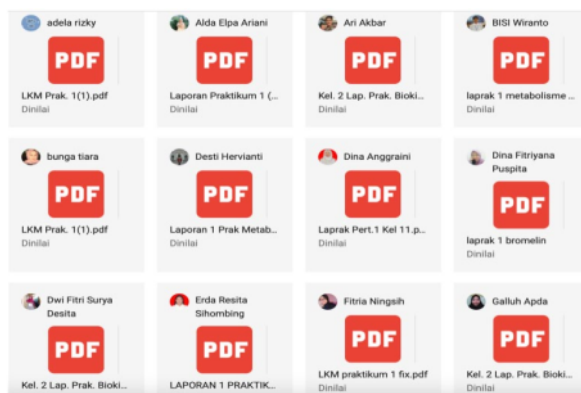
No.	Percobaan	Sampel
1.	Titrasi	<b>Glysin</b> Titrasilah 0,1M Glysin 20 mL dengan larutan NaOH 0,1M hingga pHnya lebih dari 12. Catatlah Volume titran setiap perubahan pH. Gambarkan curva titrasinya.

Anda dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Elaborasi dilakukan secara *offline* atau *online* secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat merinci, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

## 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

- <sup>10</sup> 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&usq=AOvVaw0No5xSYXPAvvBzCqXxZ9MI>. di akses pada tanggal 2 Juni 2021
- Sukaryawan, M., Desi. 2014. Modul Praktikum Biokimia 1. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- <sup>5</sup> 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.
- <sup>4</sup> Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

#### 4. Titrasi Formal Asam Amino

Hasil belajar Mata kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa yang telah menguasai prinsip-prinsip K3 (keselamatan dan keamanan kerja), manajemen laboratorium dan teknologi penggunaan peralatan dan alat kimia serta menangani masalah lingkungan (CPMK2), sedangkan kemampuan akhir dalam hal ini pengalaman bagi mahasiswa telah menguasai prinsip-prinsip manajemen laboratorium K3 dan teknik penggunaan alat dan bahan kimia (Sub-CPMK3). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan 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**

Siapkan 100 ml larutan gelatin 5%. Atur suhu menjadi 38°C. Tambahkan 1 ml fenolftalein dan NaOH 0,2 M tetes demi tetes sampai muncul warna merah muda. Tambahkan 0,1 M HCl tetes demi tetes sampai warna pink hilang (pH = 8,0). Usahakan jangan terlalu asam. Tempatkan gelatin yang telah dinetralkan dalam inkubator pada suhu 38 °C. Tambahkan beberapa tetes fenolftalein ke dalam 25 ml larutan tripsin. Tambahkan tetes NaOH 0,2 M sampai warna merah muda. Kemudian teteskan HCl 0,1 M sampai warna hilang (pH = 8,0). Tepat pada jam "nol" tambahkan larutan tripsin ke gelatin. Aduklah, setelah tercampur rata, ambil 10 ml campuran dan masukkan ke dalam gelas piala 100ml. Didihkan campuran untuk menghancurkan enzim.

Catat waktunya, dinginkan. Tambahkan 15 ml formalin netral dan 3 tetes fenolftalein. Dalam interval 15 menit, lakukan hal yang sama seperti di atas (seperti kontrol). Semua ini dilakukan dalam dua Salinan atau duplo, dalam setiap produk reaksi di atas (interval (0, 15, 30, 60, 90, dan 120 menit) titrasi dengan NaOH 0,02 M dengan titik akhir warna merah muda.

**Alat dan Bahan:**

Alat yang digunakan

1. Incubator
2. pH Meter
3. Erlenmeyer
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%

Contoh titrasi formal asam amino



<https://youtu.be/291WFZEn7Cc>

Gambar 29. Video Uji Kurva Titrasi  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

## <sup>1</sup> b. 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 4** Titrasi Formal Asam Amino

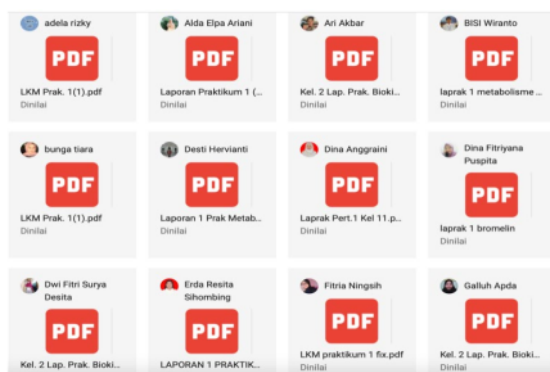
No.	Percobaan	Sampel
1.	Titrasi Formal Asam Amino	Larutan Gelatin 5%

Anda dapat berkolaborasi dengan sesama mahasiswa atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Elaborasi dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui Zoom meeting. Pada saat elaborasi, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

### 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 30. 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

- <sup>10</sup> Al-Mossawi, A.H., Al-Garawi, Z.S. 2018. *Qualitative tests of amino acids and proteins and enzyme kinetics*. Baghdad: Mustansiriyah University.
- <sup>5</sup> 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.
- Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- <sup>4</sup> Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

## 5. Penentuan Kadar Protein Secara Biuret

Hasil Belajar Mata kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses penilaian sendiri untuk kelompok kerja yang menjadi tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini adalah mahasiswa mampu untuk melakukan proses penilaian diri terhadap kelompok kerja yang ada dalam kelompok tersebut. Di bawah tanggung jawabnya, mereka mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

### a. Orientasi

Kandungan protein dapat diukur dengan metode biuret karena metode ini didasarkan pada pengukuran serapan cahaya ungu dari protein yang bereaksi dengan pereaksi Biuret dimana kompleks yang terbentuk dari protein dengan ion  $\text{Cu}^{2+}$  terdapat dalam pereaksi Biuret dalam kondisi basa. Semakin tinggi intensitas cahaya yang diserap oleh spektrofotometer maka semakin tinggi pula kandungan protein zat tersebut. Kelebihan dari metode biuret ini adalah bahan yang digunakan relatif murah, namun kelemahan dari metode ini adalah kepekaan terhadap bahan tertentu yang rendah, sehingga diperlukan bahan dalam jumlah yang banyak. Protein standar yang digunakan adalah BSA (Bovine Serum Albumin) atau bovine serum albumin. Albumin adalah sejenis protein globular yang larut dalam air dan menggumpal oleh panas. BSA digunakan untuk menciptakan kurva

standar. BSA digunakan karena stabilitasnya dalam peningkatan sinyal dalam pengujian, kurangnya pengaruh dalam reaksi biokimia, dan biayanya yang rendah, karena jumlahnya yang besar, dapat dengan mudah dimurnikan dari darah sapi, produk sampingan dari industri peternakan. 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  $\text{Cu}^{2+}$  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  $\text{Cu}^{2+}$  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.

### **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 4mg/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**

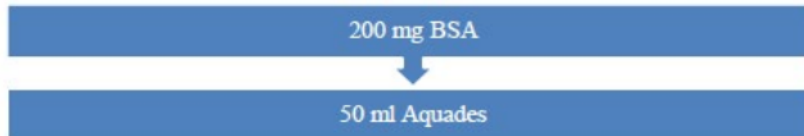
Ke dalam 6 tabung reaksi tambahkan larutan standar BSA 0 ml; 0,4 ml; 0,8 ml; 1,2 ml; 1,6 ml dan 2 ml. Selanjutnya, tambahkan 2 ml; 1,6 ml; 1,2 ml; 0,8 ml; 0,4 ml dan 0 ml aquades ke dalam tabung reaksi. Lalu ke dalam semua tabung reaksi, tambahkan 3 ml reagen biuret. Diamkan tabung reaksi selama 10 menit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

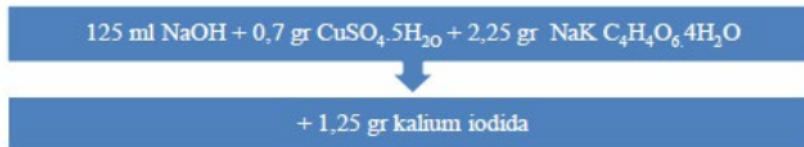
Adapun diagram alirnya adalah sebagai berikut.

Diagram alir percobaan

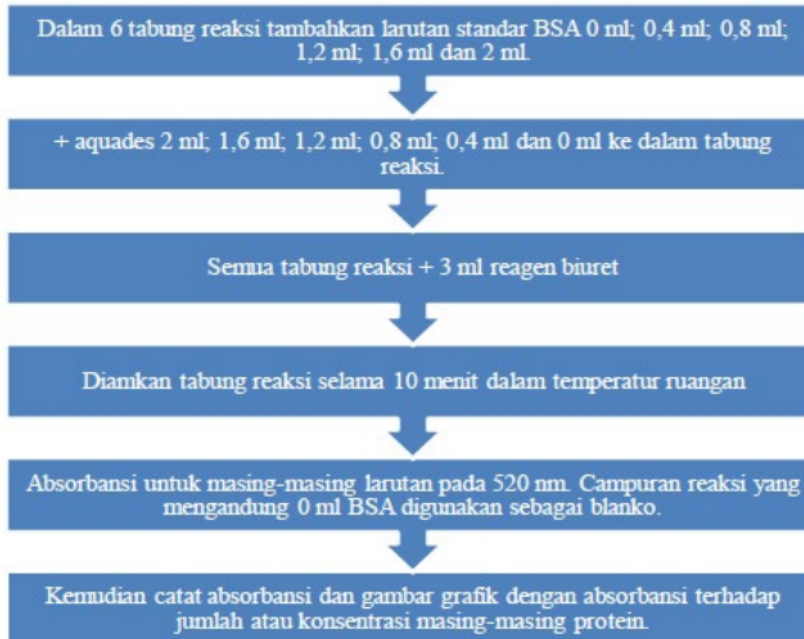
1) Persiapan larutan standar protein (BSA)



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/nNz5JkWe0wc>

Gambar 31. Video Uji protein secara Biuret  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

#### 1 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 <sub>2</sub> 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:**

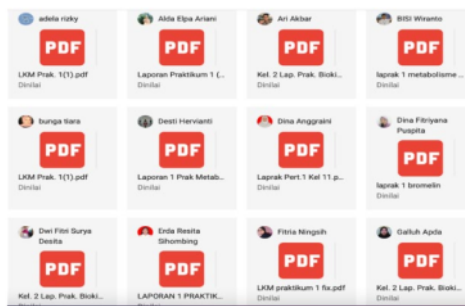
Jika sampel protein A yang belum diketahui konsentrasinya, di ukur pada panjang gelombang 520 nm diperoleh absorban = 0,400. Berapakah Konsentrasi Protein A tersebut?

Anda dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Elaborasi dilakukan secara offline atau

online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat elaborasi, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

#### 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 32. Submit Laporan 6 Praktikum Biokimia 1  
Sumber: Praktikum Biokimia 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

- <sup>10</sup> 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.
- <sup>5</sup> 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.
- Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- <sup>4</sup> Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

## 6. Penentuan Kadar Protein Secara Lowry

Hasil belajar mata kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri terhadap kelompok kerja yang menjadi tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri terhadap kelompok kerja yang ada di dalam kelompok. Di bawah tanggung jawabnya, mereka mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan 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 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) dengan ikatan peptida yang mereduksi  $\text{Cu}^{2+}$  menjadi tembaga monovalen ( $\text{Cu}^{+}$ ). 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 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) 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 mengkoreksi 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 ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) dan 1 gram natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ) dilarutkan ke dalam 250 mL aquades untuk membuat larutan natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 2% dan larutan natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ) 0,4%.

#### Pembuatan Larutan B

1. Untuk menghasilkan 0,5% tembaga sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) dibuat dengan melarutkan dengan 1 gram tembaga sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) 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 ( $\text{CuSO}_4$ ) 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 ciolateu 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  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dan 1 gr  $\text{NaOH}$  dilarutkan ke dalam 250 ml aquades



$\text{Na}_2\text{CO}_3$  2% dan  $\text{NaOH}$  0,4%.

- Pembuatan Larutan B

1 gr  $\text{CuSO}_4$  + 200 ml aquades



0,5%  $\text{CuSO}_4$

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%  $\text{CuSO}_4$  + 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.  $\text{CuSO}_4$  (Tembaga Sulfat)
2.  $\text{NaOH}$  (Natrium Hidroksida)
3.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (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/-IntC8xNqQg>

Gambar 33 Video kadar protein secara Lawry  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri



#### **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 <sub>2</sub> O	Volume Larutan C	Volume Folin'Ciocalteu	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:**

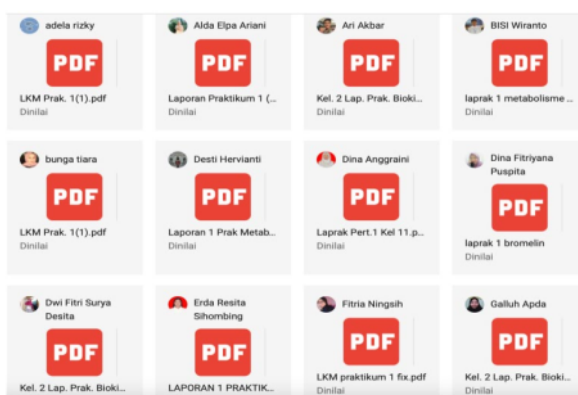
Jika sampel protein B yang belum diketahui konsentrasinya, di ukur pada panjang gelombang 660 nm diperoleh absorban = 0,170. Berapakah Konsentrasi Protein B tersebut?

Anda dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Elaborasi dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat merinci, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

## 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 34. Submit Laporan 7 Praktikum Biokimia 1  
Sumber: Praktikum Biokimia 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

- <sup>10</sup> 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.
- <sup>5</sup> 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.
- Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- <sup>4</sup> Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

## 7. Kromatografi lapis tipis asam amino

Hasil Belajar Mata kuliah yang direncanakan mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri terhadap kelompok kerja yang menjadi tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri untuk kelompok kerja di bawah tanggung jawab mereka untuk kontrol mereka, dan kemampuan mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

### a. Orientasi

Kromatografi lapis tipis, atau KLT, adalah metode untuk menganalisis campuran dengan memisahkan senyawa dalam campuran. KLT dapat digunakan untuk membantu menentukan jumlah komponen dalam suatu campuran, identitas senyawa, dan kemurnian suatu senyawa. Dengan mengamati munculnya produk atau hilangnya reaktan, juga dapat digunakan untuk memantau kemajuan reaksi. TLC adalah teknik yang sensitif - jumlah mikrogram (0,000001 g) dapat dianalisis dengan TLC - dan dibutuhkan sedikit waktu untuk analisis (sekitar 5-10 menit).

TLC terdiri dari tiga langkah - bercak, pengembangan, dan visualisasi. Foto-foto setiap langkah dapat ditampilkan lihat pada lembar kerja siswa. Pertama sampel yang akan dianalisis dilarutkan dalam pelarut yang mudah menguap (mudah menguap) untuk menghasilkan larutan yang sangat encer (sekitar 1%). Bercak terdiri dari penggunaan pipet mikro untuk mentransfer sejumlah kecil

larutan encer ini ke salah satu ujung pelat KLT, dalam hal ini lapisan tipis silika gel bubuk yang telah dilapisi ke lembaran plastik. Pelarut bercak dengan cepat menguap dan meninggalkan noda kecil pada bahan.

Pengembangan terdiri dari menempatkan bagian bawah pelat TLC ke dalam kolam dangkal pelarut pengembangan, yang kemudian bergerak ke atas pelat dengan aksi kapiler. Saat pelarut bergerak ke atas pelat, ia bergerak di atas tempat aslinya. Silika gel yang sangat polar mencoba untuk menahan noda di tempat asalnya dan pelarut mencoba untuk memindahkan noda bersamanya saat bergerak ke atas pelat. Hasilnya tergantung pada keseimbangan di antara tiga polaritas: pelat, pelarut pengembangan, dan noda. Jika pelarut pengembangan cukup polar, tempat akan bergerak agak jauh dari lokasi aslinya. Komponen yang berbeda di tempat asalnya, memiliki polaritas yang berbeda, akan berpindah jarak yang berbeda dari lokasi tempat asalnya dan muncul sebagai tempat yang terpisah. Ketika pelarut telah melakukan perjalanan hampir ke bagian atas pelat, pelat diangkat, bagian depan pelarut ditandai dengan pensil, dan pelarut dibiarkan menguap.

Visualisasi senyawa berwarna sederhana – bintik-bintik dapat diamati secara langsung setelah pengembangan. Karena sebagian besar senyawa tidak berwarna, metode visualisasi diperlukan. Gel silika pada pelat TLC diresapi dengan bahan fluoresen yang bersinar di bawah sinar ultraviolet (UV). Noda akan mengganggu fluoresensi dan muncul sebagai noda gelap pada latar belakang bercahaya. Sementara di bawah sinar UV, noda-noda itu dapat digariskan dengan pensil untuk menandai lokasinya. Metode visualisasi kedua dilakukan dengan menempatkan pelat ke dalam uap yodium selama beberapa menit. Sebagian besar senyawa organik akan membentuk kompleks berwarna gelap dengan yodium. Ini

adalah praktik yang baik untuk menggunakan setidaknya dua teknik visualisasi jika suatu senyawa tidak muncul dengan satu metode tertentu

Nilai  $R_f$  digunakan untuk mengukur pergerakan material di sepanjang pelat.  $R_f$  sama dengan jarak yang ditempuh zat dibagi jarak yang ditempuh pelarut. Nilainya selalu antara nol dan satu. Analisis KLT dapat diringkas seperti, "Menggunakan pelat silika gel dan etil asetat sebagai pelarut pengembangan, campuran X yang tidak diketahui menunjukkan tiga titik misalnya yang memiliki  $R_f$  0,2, 0,3, dan 0,7". Membandingkan  $R_f$  ini dengan  $R_f$  senyawa yang diketahui memungkinkan identifikasi senyawa tersebut. Perhatikan bahwa mengamati tiga titik berarti hanya ada setidaknya tiga komponen dalam campuran. Beberapa komponen mungkin memiliki polaritas yang sama sehingga muncul di bawah satu titik setelah pengembangan.

Jika pelarut pengembangan dengan polaritas terlalu tinggi digunakan, semua komponen dalam campuran akan bergerak bersama dengan pelarut dan tidak ada pemisahan yang akan diamati ( $R_f$  akan terlalu besar). Jika pelarut memiliki polaritas yang terlalu rendah, komponen tidak akan cukup bergerak, dan lagi-lagi pemisahan tidak akan terjadi ( $R_f$  akan terlalu kecil). Dalam prakteknya, pelarut yang berbeda atau campuran pelarut dicoba sampai pemisahan yang baik diamati. Biasanya pelarut yang efektif adalah pelarut yang memberikan  $R_f$  dalam kisaran 0,3 - 0,7.

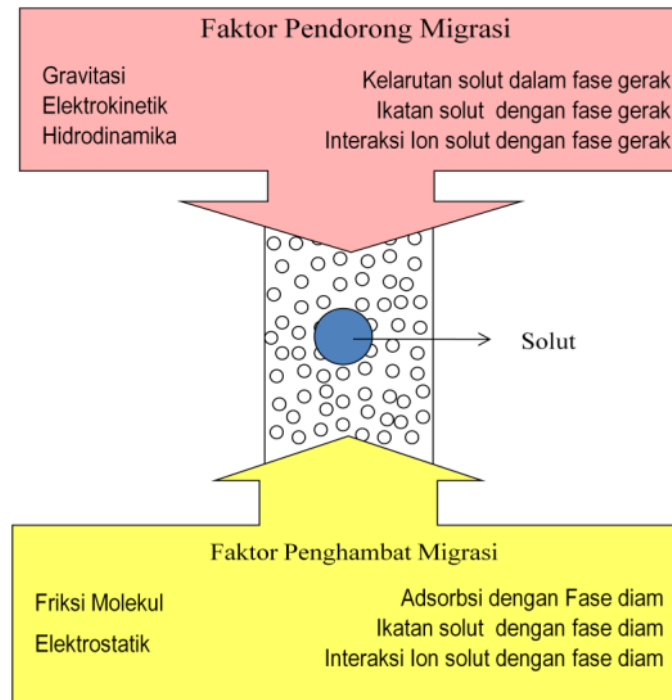
Perhatikan bahwa pelarut noda hanya digunakan sebagai kendaraan untuk mentransfer bahan yang akan dianalisis ke pelat KLT. Setelah transfer dilakukan, pelarut menguap. Itu tidak berpengaruh pada pemisahan. Ini adalah pelarut pengembangan yang mempengaruhi pemisahan.

Apa yang terjadi di tingkat molekuler selama pengembangan? Ada tiga komponen dalam KLT: (1) pelat KLT (fase diam), pelarut pengembangan (fase gerak), dan sampel yang akan dianalisis (zat terlarut). Dalam percobaan pelat KLT terdiri dari lembaran plastik tipis yang dilapisi dengan lapisan tipis silika gel. Silika gel terdiri dari jaringan tiga dimensi dari ribuan ikatan silikon dan oksigen yang berselang-seling, dengan gugus O-H di permukaan luar. Silika gel adalah pasir yang sangat murni yang digiling dengan sangat halus. Perlu dicatat bahwa silika gel sangat polar dan mampu mengikat hidrogen. Pertimbangkan tampilan samping pengembangan pelat TLC di bawah ini. Saat pelarut bergerak ke atas pelat, di atas titik tersebut, terjadi kesetimbangan, karena pelarut pengembangan bersaing dengan pelat KLT untuk mendapatkan zat terlarut. Silika gel mengikat zat terlarut dan pelarut pengembangan mencoba untuk melarutkannya, membawa zat terlarut bersama saat pelarut bergerak ke atas pelat.

Keseimbangan gaya antarmolekul menentukan posisi kesetimbangan dan dengan demikian kemampuan pelarut untuk memindahkan zat terlarut ke atas pelat. Dengan kata lain, apakah tempat itu lebih suka menempel di pelat atau lebih suka bergerak bersama pelarut. Keseimbangan tergantung pada (1) polaritas pelat KLT (konstan dan tinggi), (2) polaritas pelarut pengembangan (dapat divariasikan dengan menggunakan pelarut yang berbeda), dan (3) polaritas senyawa di tempat (ini bervariasi tergantung pada senyawa apa yang ada di tempat). Misalnya, jika sampel terdiri dari dua komponen, yang satu lebih polar dari yang lain, yang lebih polar akan cenderung menempel lebih erat ke pelat dan yang kurang polar akan cenderung bergerak lebih bebas dengan pelarut. Menggunakan pelarut pengembangan yang lebih polar akan menyebabkan keduanya bergerak lebih jauh. Jika struktur perkiraan zat terlarut diketahui, adalah mungkin untuk membuat perkiraan tentang pelarut atau campuran pelarut apa yang digunakan.

Namun dalam praktiknya, untuk campuran senyawa tertentu yang akan dianalisis, pelarut atau campuran pelarut dipilih secara coba-coba untuk memberikan pemisahan terbaik.

Polaritas molekul, zat terlarut dan pelarut, diatur sebagai berikut, dari yang paling tidak polar sampai yang paling polar, misalnya: Alkana (paling tidak polar), alkil halida, alkena, hidrokarbon aromatik, eter, ester, keton, aldehida, amina, alkohol, dan asam karboksilat (paling polar). Namun perhatikan bahwa banyak molekul mengandung beberapa gugus fungsi dan polaritas keseluruhan akan ditentukan oleh semua kelompok.



Gambar 35: Faktor-faktor yang dapat meningkatkan dan menghambat transfer analit dalam pemisahan 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<sub>f</sub> Asam Amino

Amino acids	Abbreviations	Side-chain polarity	R <sub>f</sub>
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

##### a. Pembuatan Lapis Tipis

Plat gelas yang dipakai harus bersih, terutama harus bebas lemak. Timbang 20 gr silica gel G dan kocok dengan 40 ml air selama 30 detik di dalam botol atau erlenmeyer tertutup. Suspensi ini dimasukkan ke alat pembuatan lapis tipis (alat Stahl atau alat buatan dalam negeri). Tebal lapis adalah sekitar 250  $\mu$ m. Biarkan lapis tipis ini ditempatnya selama kira-kira 10 menit. Sesudah ini boleh dipindah tempatnya dan dibiarkan kering di udara selama semalam.

##### b. Meneteskan Larutan Zat yang Diperiksa

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 totalan 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 36. 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

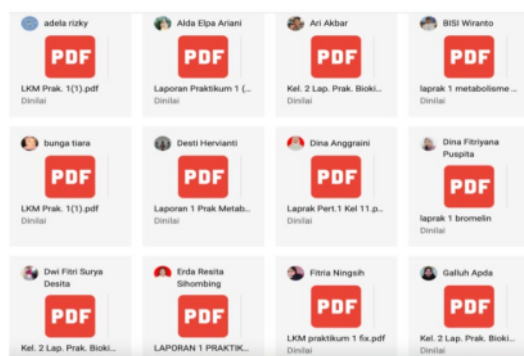
No	Sampel Asam Amino
1	Glysin
2	Triptofan
3	Tyrosin
4	A
5	B

Anda dapat berkolaborasi dengan sesama mahasiswa atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Detailing dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat merinci, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

## 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 37. 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

<sup>10</sup> 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.

<sup>5</sup> 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.

Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.

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

<sup>4</sup> Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

## 8. Pengaruh pH Dan Suhu Terhadap Reaksi Enzimatik

Hasil Belajar Mata kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri untuk kelompok kerja yang menjadi tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini mahasiswa mampu melakukan proses penilaian mandiri terhadap kelompok kerja yang menjadi tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

### a. Orientasi

Enzim berperan sebagai katalis dalam reaksi dan mempercepat reaksi kimia, tetapi pada akhir reaksi akan dikembalikan ke bentuk semula, sehingga dapat mengkatalis reaksi kimia berikutnya. Kenyataan ini membuat tubuh tidak perlu memproduksi enzim dalam jumlah banyak (kadar enzim dalam tubuh kecil), sehingga pengukuran enzim tidak dapat dilakukan secara langsung. Enzim amilase mencerna pati secara bertahap, menghasilkan disakarida yang tidak berwarna, salah satunya adalah disakarida bila direaksikan dengan iodin. 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.

11  
Ada dua jenis utama enzim amilase, alfa dan beta. Alpha-amilase ditemukan dalam air liur manusia, di mana ia memulai proses kimia pencernaan dengan hidrolisis pati. Alfa-amilase juga ditemukan di pankreas. Beta-amilase ditemukan dalam biji beberapa tanaman, serta bakteri, ragi dan jamur. Amilase juga ditemukan pada hewan lain yang menggunakannya untuk membantu pencernaan. Enzim ini mulai bekerja di mulut saat makanan dikunyah, memecah ikatan polisakarida yang terikat bersama untuk membuat rantai molekul pati. Pati alami mengandung glukosa, yang dipecah tubuh untuk memberikan nutrisi yang tepat ke dalam aliran darah.

Dengan memutus dan memisahkan berbagai ikatan dalam pati, amilase dapat mengekstraksi gula sehingga dapat disimpan di dalam tubuh. Proses ini dimulai di mulut dan berlanjut di pankreas, di mana lebih banyak enzim digunakan untuk memecah karbohidrat dan melewati makanan melalui sistem pencernaan. Bagi seseorang yang tidak dapat menghasilkan cukup amilase untuk memecah pati dengan benar, suplemen kesehatan yang mengandung amilase dapat membantu menebus kekurangan tersebut.

2  
Untuk mengetahui pengaruh pH terhadap reaksi enzimatik, reaksi antara pati sebagai substrat dan amilase sebagai enzim diamati pada beberapa pH yang berbeda. Pati adalah polisakarida yang berubah menjadi biru ketika bereaksi dengan yodium. Perubahan warna yang terjadi (penurunan warna biru) menunjukkan bahwa sebagian substrat telah dicerna oleh enzim amilase. Perubahan warna dapat diukur dengan spektrofotometer. Untuk mengetahui pengaruh suhu terhadap reaksi enzimatik dilakukan percobaan seperti di atas menggunakan pH 6,5 dan dilakukan pada suhu yang berbeda, misalnya: 200 °C, 400 °C, 600 °C, 80 °C sedangkan faktor lain yang mempengaruhi Reaksi enzimatik dilakukan dengan cara yang 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 referensi 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, tandai masing-masing 0', 5', 10', 15' dan 20'.
2. Dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 15 ml larutan buffer dengan pH berbeda yang telah ditentukan (pH 4, pH 6 dan pH 8), tambahkan 3 ml larutan kanji dan 6 ml larutan NaCl 0,9%. Kocok sampai semua larutan tercampur, kemudian diinkubasi dalam penangas air pada suhu 38°C.
3. Isi setiap tabung reaksi yang ditandai dengan 1 ml larutan HCl 0,05 N.
4. Ambil 1 ml cairan dari labu Erlenmeyer dan masukkan ke dalam tabung reaksi bertanda 0', kocok sebentar.
5. Tambahkan 1 mL larutan enzim ke dalam gelas Erlenmeyer dan aduk cepat. Pada saat penambahan enzim ini, catat waktunya (nyalakan stopwatch).

6. Sekitar 5 menit setelah penambahan enzim ke dalam gelas erlenmeyer, pipet 1 ml larutan dari gelas erlenmeyer. Masukkan larutan ke dalam pipet ke dalam tabung reaksi yang ditandai 5' ketika penghitung waktu 5 menit muncul. Kocok sebentar.
7. Demikian seterusnya : Tepat setiap 5 menit kemudian masukkan masing-masing 1 ml larutan dari gelas erlenmeyer ke dalam tabung reaksi yang diberi tanda 10', 15' dan 20' seperti di atas. Kocok sebentar.
8. Setelah semuanya selesai, tambahkan 1 ml larutan KI-KIO<sub>3</sub> ke masing-masing tabung reaksi, aduk rata hingga merata, dan tunggu 5-10 menit.
9. Menentukan intensitas warna yang muncul dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 660 nm.

Jumlah substrat yang dicerna setiap saat dapat dihitung dengan rumus:

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

Catat hasil yang diperoleh, kemudian, berdasarkan data, buat grafik hubungan antara % substrat yang dicerna (koordinasi) dan waktu (koordinat).

#### Prosedur Pengaruh Suhu Terhadap Reaksi Enzimatik

1. Isi labu Erlenmeyer dengan: 15 ml larutan buffer pH 6,5 kemudian tambahkan 3 ml larutan kanji, 6 ml larutan natrium klorida 0,9%. Aduk rata, kemudian inkubasi pada suhu yang ditentukan (30°C, 40°C, 50°C) selama 30 menit.
2. 4 tabung reaksi disediakan, ditandai 0', 5', 15' dan 20'.
3. Isi masing-masing dengan 10 ml larutan asam klorida 0,05 N.
4. Ambil 1 ml larutan dari Erlenmeyer, masukkan ke dalam tabung reaksi 0'. Kemudian masukkan 1 mL larutan enzim ke dalam Erlenmeyer. Campur dengan cepat dan

jalankan timer. Setiap 5 menit setelah itu, masukkan 1 mL larutan Erlenmeyer ke dalam tabung masing-masing 5', 10' 15', dan 20'.

5. Setelah semuanya selesai, tambahkan 1 ml larutan KI-KO<sub>3</sub> ke dalam masing-masing tabung reaksi, aduk rata dan tunggu 5-10 menit.
6. Tentukan intensitas warna yang muncul dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 660 nm.
7. Buat grafik yang menunjukkan hubungan antara % substrat yang dicerna (koordinat) dan waktu (percabangan) pada suhu yang berbeda 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; 6; dan 8)
5. Larutan KI-KIO<sub>3</sub> : KI 5,0 g; KIO<sub>3</sub> 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

<https://youtu.be/1upr-c4fbqw>

Gambar 38. Video Uji pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

#### <sup>1</sup> a. 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

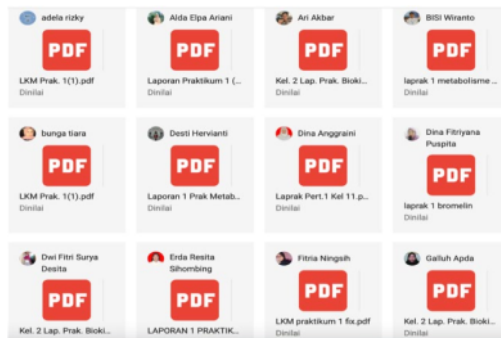
Anda dapat berkolaborasi dengan mahasiswa atau dosen lain dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom*

*asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Elaborasi dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat elaborasi, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

#### 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 39. 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

- 5  
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.
- Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran 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.
- 4  
Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

## 9. Isolasi kasein dari susu

Hasil belajar mata kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri terhadap kelompok kerja yang menjadi tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri terhadap kelompok kerja yang ada di dalam kelompok. Di bawah tanggung jawabnya, mereka mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

### a. Orientasi

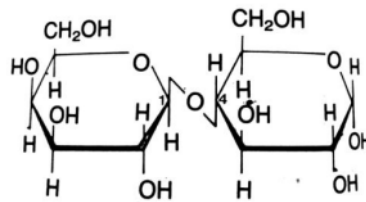
Susu merupakan sumber protein dengan mutu sangat tinggi. Susu merupakan bahan makanan penting karena mengandung kasein yang merupakan protein berkualitas dan mudah dicerna oleh saluran pencernaan. Kadar protein susu sapi sekitar 3,5%. Protein dalam susu dapat dibagi dalam dua kategori yaitu protein tidak 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:  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$ , K dan  $\gamma$ , sementara protein whey terdiri dari  $\alpha$ -laktalbumin dan  $\beta$ -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 dari sapi yang tidak sehat dapat

terkontaminasi bakteri penyebab penyakit. Proses pasteurisasi yang dilakukan pada susu terutama dilakukan untuk membunuh bakteri patogen yang tidak membentuk spora, selain itu pasteurisasi juga membunuh beberapa mikroba pembusuk. Pengujian mikrobiologi susu harus dilakukan untuk menentukan kualitas susu sebelum diproses lebih lanjut. Susu digunakan sebagai sumber kasein komersial. Biasanya pada susu skim atau susu dengan kandungan lemak yang sangat rendah, asam ditambahkan untuk mengendapkan kasein. Kemudian dipisahkan dari whey. Kemudian dicuci dengan air, disaring, diperas, dipotong-potong dan dikeringkan. Kasein digunakan sebagai garam kalsium untuk meningkatkan sifat adonan krim yang terbuat dari lemak nabati yang digunakan sebagai topping dan untuk memperbaiki struktur keseluruhan krim asam dan yogurt.

Kasein ada dalam bentuk kalsium kaseinat, yang merupakan senyawa kompleks kalsium fosfat dan hadir dalam bentuk molekul kompleks koloid yang disebut misel. Misel kasein dalam susu sapi memiliki ukuran 50-600 nm atau 0,05 - 0,6  $\mu$ m dengan rata-rata ukuran misel kasein 100 nm atau 0,1  $\mu$ m. Ada empat jenis kasein dalam susu, yaitu  $\alpha_{s1}$ -kasein,  $\alpha_{s2}$ -kasein,  $\beta$ -kasein dan K-kasein. Persentase empat kasein dalam susu adalah 37%, 10%, 35% dan 12% dari total kasein susu. Komposisi whey dalam susu adalah sekitar 20%. Ada empat jenis whey yang ada dalam susu, yaitu  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin, albumin serum, dan imunoglobulin. Persentase whey  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin dan serum albumin dalam susu adalah 50%, 20% dan 10% dari total whey susu. Kasein adalah protein yang memiliki sifat anti air yang lebih kuat jika dibandingkan dengan whey. Hal ini dikarenakan gugus hidrofobik pada kasein berada di permukaan molekul, sedangkan gugus hidrofobik pada whey berada di dalam molekul, namun beberapa kaseinin memiliki sifat hidrofobik yang lebih lemah dibandingkan jenis whey

$\beta$ laktoglobulin. Kasein merupakan salah satu jenis protein susu yang memiliki sifat anti air paling kuat di antara jenis protein susu lainnya.

Laktosa merupakan karbohidrat utama dalam susu. Laktosa terdiri dari dua gula sederhana, glukosa dan galaktosa, dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ 1,4-glikosida. Laktosa merupakan komponen polar dan merupakan salah satu komponen susu yang memberikan rasa manis pada susu. Laktosa susu memiliki ukuran sekitar  $0,001\mu\text{m}$ .



Gambar 37. Struktur Kimia Laktosa Susu

Kualitas kimia susu sapi segar dapat dipengaruhi oleh bangsa sapi, pakan, sistem pemerahan, perubahan musim dan periode laktasi. 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.

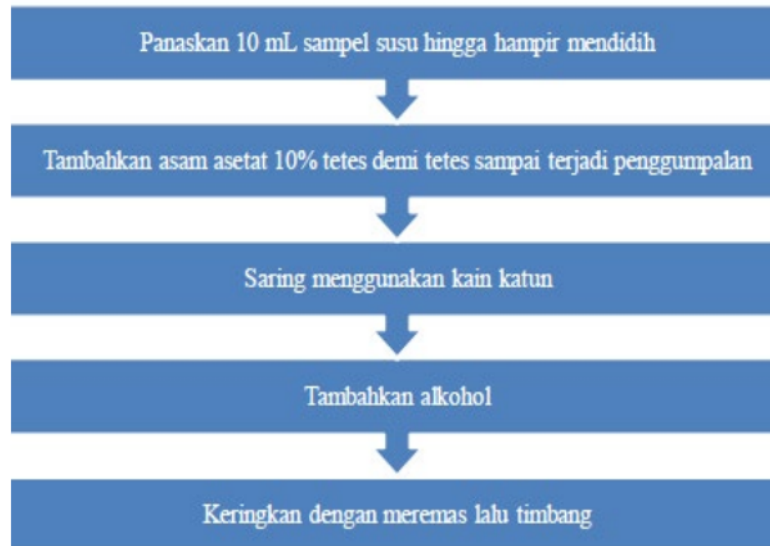
### b. Penstrukturan Ide

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 40. Kasein dari susu

Contoh Penentuan kadar kasein dalam susu

<https://youtu.be/osPZKOTzaD4>

Gambar 41. Video Penentuan kadar kasein dalam susu  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

### c. 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 <sub>2</sub> O hingga 100 mL.
14 gr susu merek B dilarutkan dalam d H <sub>2</sub> O hingga 100 mL.

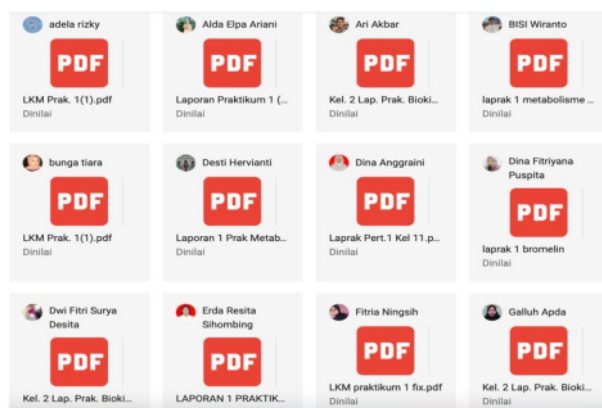
Anda dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui WhatsApp dan media *Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Detailing dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat merinci, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.



## 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 42. 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

- <sup>10</sup> 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.
- <sup>5</sup> 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.
- Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- <sup>4</sup> Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

## 10. Uji Karbohidrat

Hasil Belajar Mata kuliah yang direncanakan adalah agar mahasiswa mampu secara mandiri bertanggung jawab untuk bekerja di bidang keahliannya (CPMK1), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini adalah mahasiswa mampu bertanggung jawab untuk mengelola (merancang, mengimplementasikan, dan pelaporan) pengalaman pengujian karbohidrat (Sub-CPMK5). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

### a. Orientasi

Karbohidrat adalah makromolekul atau polimer dari polihidroksi aldehida (aldosa) atau polihidroksi keton (ketosa) dan turunannya, atau senyawa yang dihasilkan dari hidrolisis salah satu atau kedua komponen tersebut. Senyawa karbohidrat menyumbang 70-80% sumber energi untuk aktivitas manusia. Konsumsi rata-rata karbohidrat dalam makanan adalah sekitar 65% dan energi yang dihasilkan dari metabolisme seluler karbohidrat ini akan digunakan dalam metabolisme biomolekul lain seperti protein, lipid dan asam nukleat. Selain itu, lebih dari 90% komponen penyusun tumbuhan kering adalah karbohidrat. Karbohidrat secara umum merupakan polihidroksialdehida atau polihidroksi keton dan turunannya berupa unit tunggal sederhana atau unit kompleks.

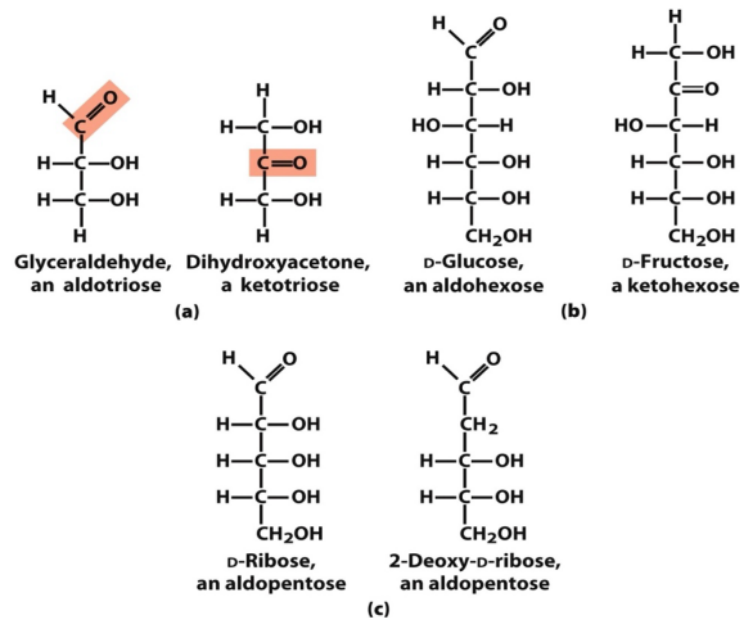
Pada tumbuhan, glukosa disintesis dari karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ) dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) melalui fotosintesis dan disimpan dalam bentuk pati atau selulosa. Hewan membuat karbohidrat dari lemak, gliserol, dan asam amino, tetapi turunan dari karbohidrat yang digunakan berasal dari tumbuhan. Glukosa dapat diserap langsung ke dalam aliran darah dan bentuk gula lainnya akan diubah menjadi glukosa di hati sehingga

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

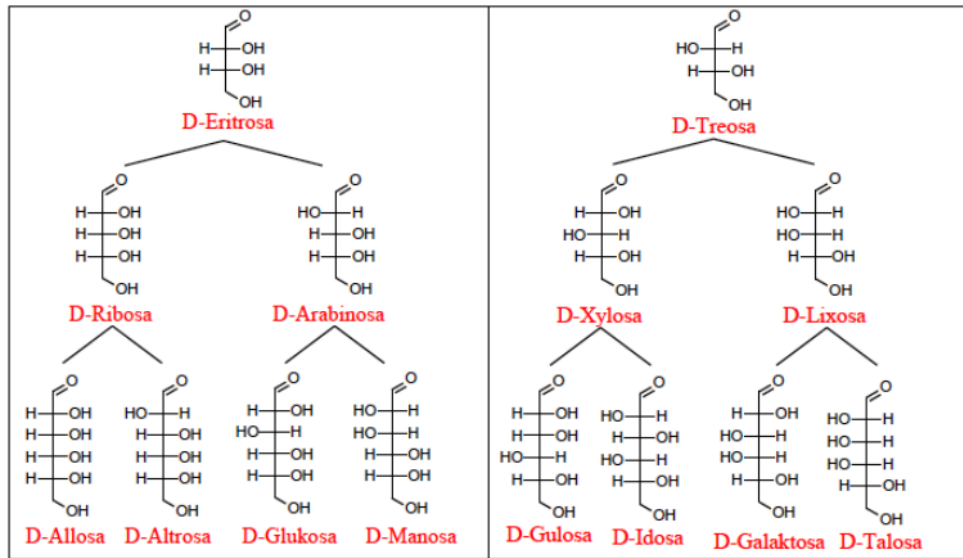
### Klasifikasi Karbohidrat.

#### 1. Monosakarida

Karbohidrat yang tidak dapat diuraikan menjadi gula yang lebih sederhana disebut monosakarida. Berdasarkan gugus fungsinya, terdapat dua jenis monosakarida, yaitu aldosa yang mengandung gugus fungsi aldehida dan ketosa yang mengandung gugus fungsi keton. Berdasarkan jumlah atom karbon, monosakarida terdiri dari triplet, tetra, pentagon, dan heksosa.



Gambar 43. Representatif monosakarida



Gambar 44. Klasifikasi aldosa

13

## 2. Oligosakarida

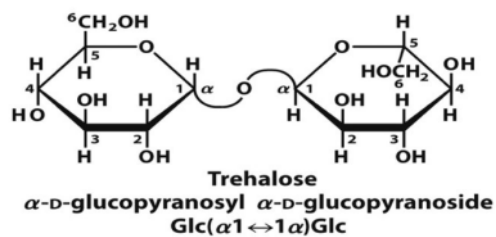
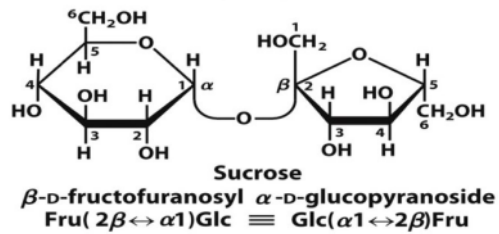
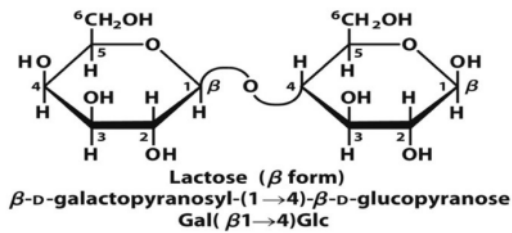
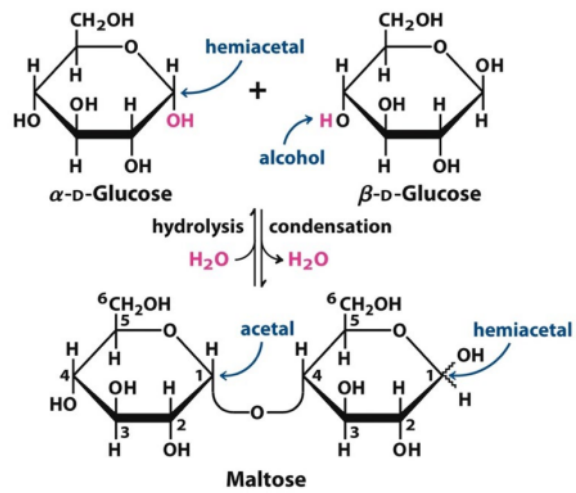
Oligosakarida adalah hasil kondensasi dua sampai sepuluh monosakarida. Oligosakarida dapat berupa disakarida, trisakarida, dan tetrasakarida. Disakarida adalah hasil kondensasi dua unit monosakarida. Contohnya termasuk laktosa, maltosa, dan sukrosa. Trisakarida adalah hasil kondensasi dari tiga unit monosakarida dan tetrasakarida terdiri dari empat unit monosakarida. Oligosakarida terbentuk karena adanya ikatan glikosidik antara molekul monosakarida pada atom C 1 dari satu molekul dan gugus hidroksil (-OH) pada molekul lainnya. Biasanya ikatan glikosidik terbentuk antara C1 dari satu molekul dan C3 dari molekul lainnya (1,3). Ikatan glikosida yang umum adalah 1,3, lalu 1,4 dan 1,6. Namun, ikatan glikosidik 1,1 dan 1,2 juga dimungkinkan. Ikatan dapat terjadi dalam bentuk molekul  $\alpha$  dan  $\beta$ .

a. Disakarida

Disakarida terdiri dari dua molekul monosakarida yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Beberapa contoh senyawa polisakarida dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 10 Beberapa ikatan disakarida

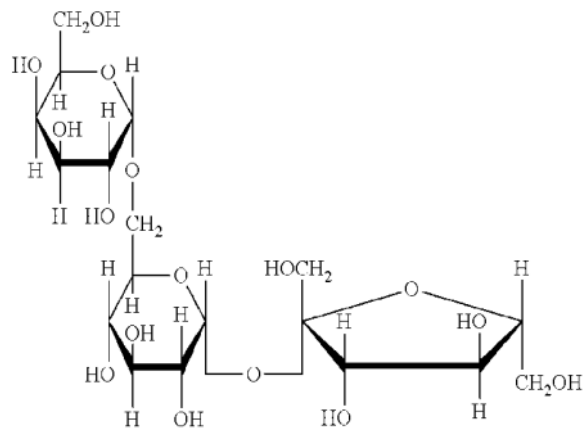
Nama	Monosakarida Penyusun	Ikatan glikosidik	Nama umum
<b>maltosa</b>	Glukosa + Glukosa	1 → 4	$\alpha$ -D-glikopiranosil-(1→4)- $\beta$ -D-glukopiranosida
<b>selobiosa</b>	Glukosa + Glukosa	1 → 4	$\beta$ -D-glikopiranosil-(1→4)- $\beta$ -D-glukopiranosida
<b>gentiobiosa</b>	Glukosa + Glukosa	1 → 6	$\beta$ -D-glikopiranosil-(1→6)- $\beta$ -D-glukopiranosida
<b>sukrosa</b>	Glukosa + fruktosa	2 → 1	$\beta$ -D-fruktofuranosil-(2→1)- $\alpha$ -D-glukopiranosida
<b>laktosa</b>	Glukosa + galaktosa	1 → 4	$\beta$ -D-galaktopiranosil-(1→4)- $\beta$ -D-glukopiranosida
<b>trehalosa</b>	Glukosa + Glukosa	1 → 1	$\alpha$ -D-glikopiranosil-(1→1)- $\alpha$ -D-glukopiranosida



Gambar 45. Disakarida

6  
b. Trisakarida

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

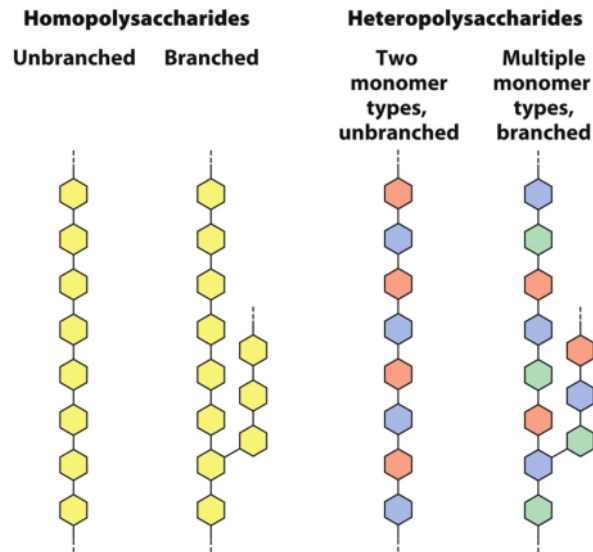


Gambar 46. Struktur Rafinosa

3. Polisakarida

Polisakarida adalah karbohidrat kompleks yang terdiri dari unit monosakarida yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Secara tata nama, polisakarida dibagi menjadi dua bagian, yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Polisakarida yang berperan sebagai cadangan makanan adalah pati dan glikogen, sedangkan yang menyusun struktur molekul adalah kitin dan selulosa.

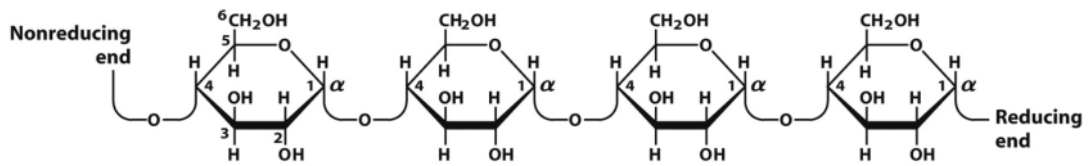




Gambar 47. Homo dan Hetero polisakarida

3  
a. Pati

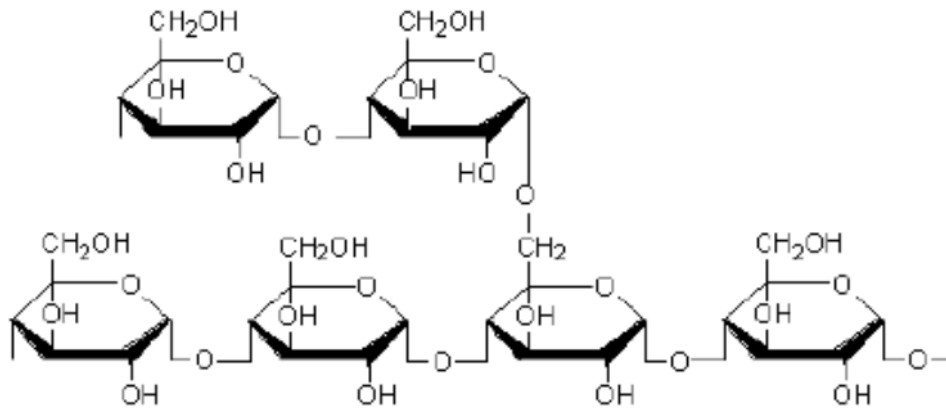
Pati adalah senyawa cadangan pada tanaman yang terdiri dari unit glukosa. Pati terdiri dari dua komponen homopolisakarida, amilosa dan amilopektin. Komposisi komponen tersebut pada tumbuhan adalah 10-30% amilosa dan 70-90% amilopektin. Amilosa memiliki struktur rantai lurus yang terdiri dari 1,4 ikatan glikosidik antara molekul D-glukosa. Amilosa dapat membentuk struktur heliks dimana rata-rata terdapat 8 molekul glukosa per putaran heliks. Sulit melarutkan amilosa di tengah air.



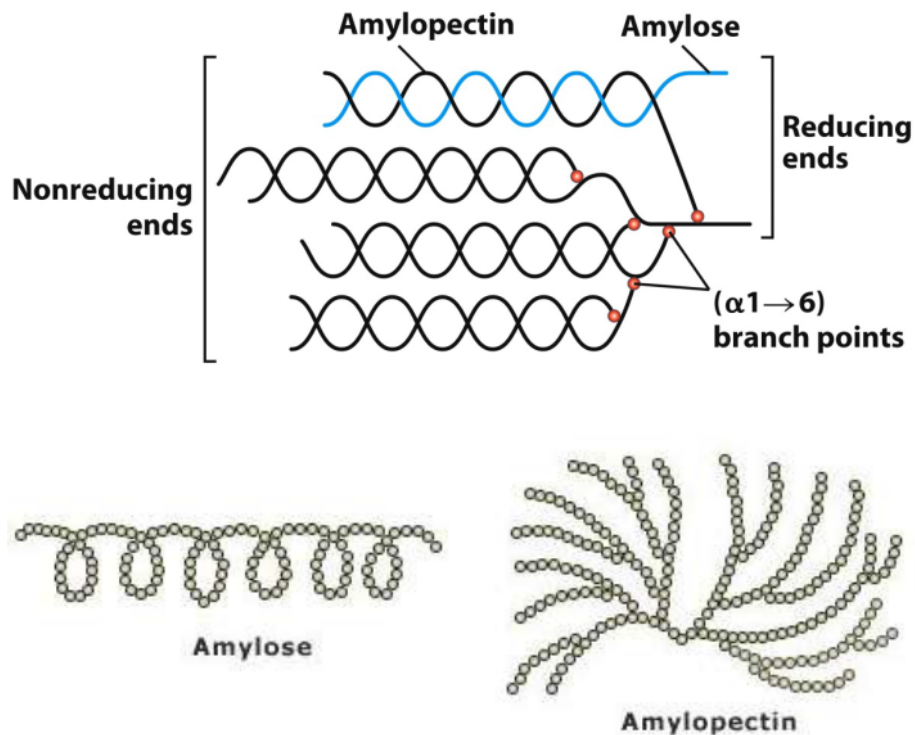
### Amylose

Gambar 48. 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.



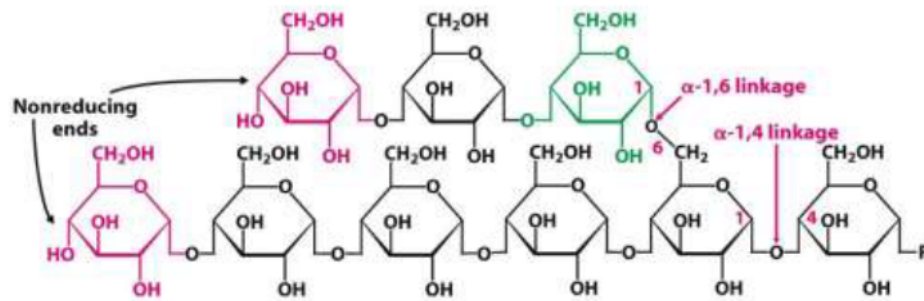
Gambar 49. Amilopeptin



Gambar 50 Amilosa dan Amilopeptin

<sup>6</sup>  
b. Glikogen

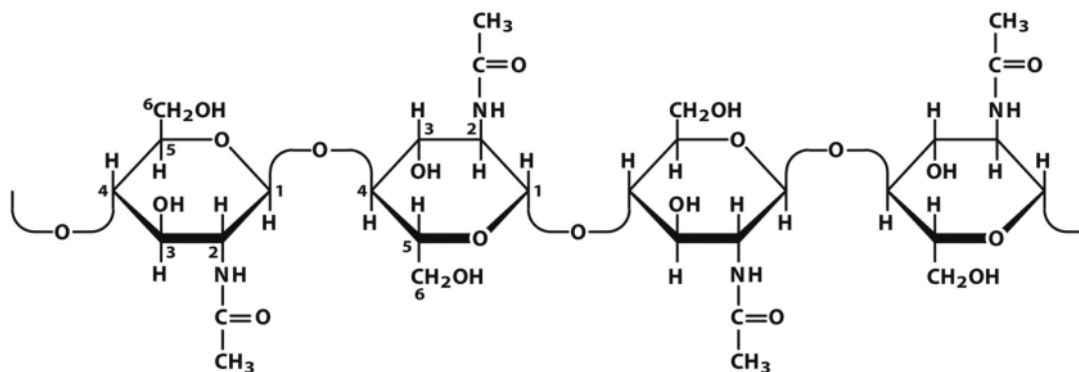
Glikogen merupakan salah satu jenis polisakarida yang berperan sebagai penyimpan makanan pada hewan. Komposisi glikogen di hati adalah 10%, sedangkan di otot 1 - 2%. Struktur glikogen sama dengan amilopektin tetapi mengandung 8-12 residu cincin pada cabang berkait pada 16. Analisis dengan larutan beryodium akan memberikan perubahan warna merah-ungu.



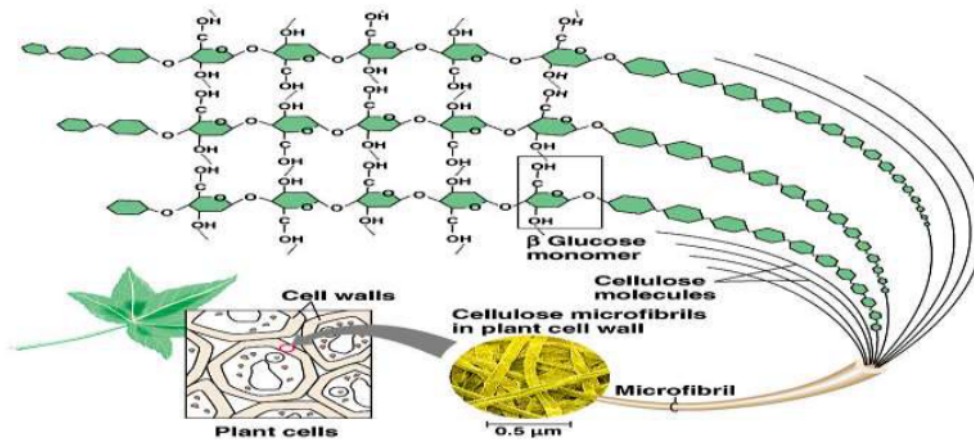
Gambar 51. Ikatan  $\alpha$  1,6 dan  $\alpha$  1,4 glikosidik

c. Selulosa

Selulosa adalah polisakarida homogen yang terdiri dari 100-1000 unit  $\beta$ D-glukosa. Proses polimerisasi berlangsung melalui proses kondensasi dengan 1,4 ikatan glikosidik antarmolekul glukosa. Pada dinding sel tumbuhan, serat selulosa membentuk rantai paralel yang menyilang antar lapisan. Serat ini juga terbentuk Matriks dengan hemiselulosa, pektin dan ekstensi. Rantai paralel serat mikro yang membentuk selulosa memiliki ikatan hidrogen antara rantai.



Gambar 52. Ikatan  $\beta$  Glikosidik



Gambar 53. Selulosa

Ada beberapa metode uji kualitatif karbohidrat, yaitu:

#### 1. Uji Molisch

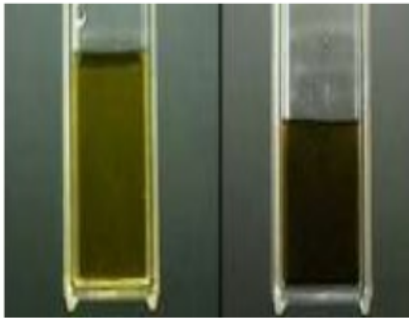
Uji molisch adalah uji kimia kualitatif untuk mengetahui adanya karbohidrat. Uji Molisch dinamai sesuai penemunya yaitu Hans Molisch, seorang ahli botani dari Australia. Uji ini didasari oleh reaksi dehidrasi karbohidrat oleh asam sulfat membentuk cincin furfural yang berwarna ungu. Reaksi positif ditandai 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 54. 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 55 Uji Iodin  
Kiri Negatif dan Kanan Positif

### 3. Uji Benedict

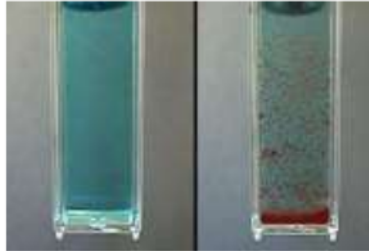
Uji benedict adalah uji kimia untuk mengetahui kandungan gula (karbohidrat) pereduksi. Gula pereduksi meliputi semua jenis monosakarida dan beberapa disakarida seperti laktosa dan maltose. Gula pereduksi adalah gula yang mengalami reaksi hidrolisis dan bisa diurai menjadi sedikitnya dua buah monosakarida. 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 56. Uji Benedict  
Kiri Negatif Kanan Positif

#### 4. Uji Barfoed

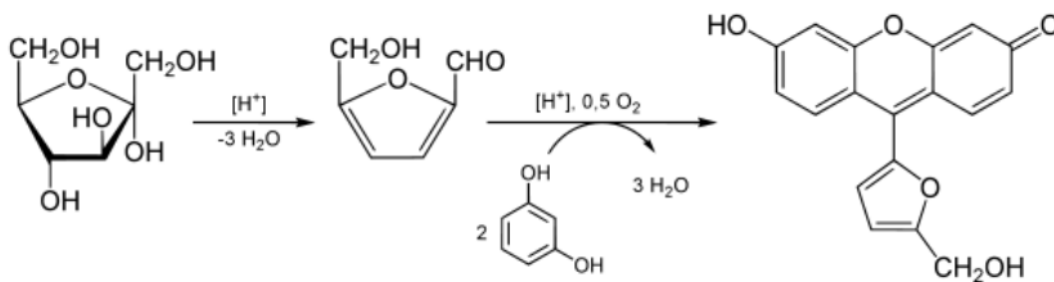
Adalah uji untuk membedakan monosakarida dan disakarida dengan mengontrol kondisi pH serta waktu pemanasan. Prinsipnya berdasarkan reduksi  $\text{Cu}^{2+}$  menjadi  $\text{Cu}^+$ . Reagen Barfoed mengandung senyawa tembaga asetat.



Gambar 57. 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 58. 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  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat pada gelas ukur
- d) Kemudian tuangkan pada tabung reaksi yang telah terisi maltose dan reagen Molisch.
- 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 berisi air mendidih 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 berisi air mendidih yang telah di panaskan pada waterbath
- d) Panaskan selama kurang lebih 3 menit

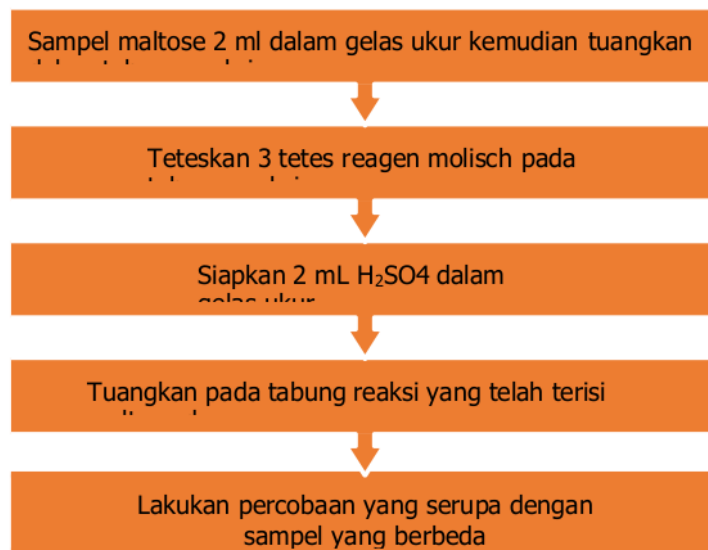
- e) Kemudian tunggu dingin dan amati
- f) Lakukan percobaan yang serupa dengan sampel yang berbeda.

#### 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 regen 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

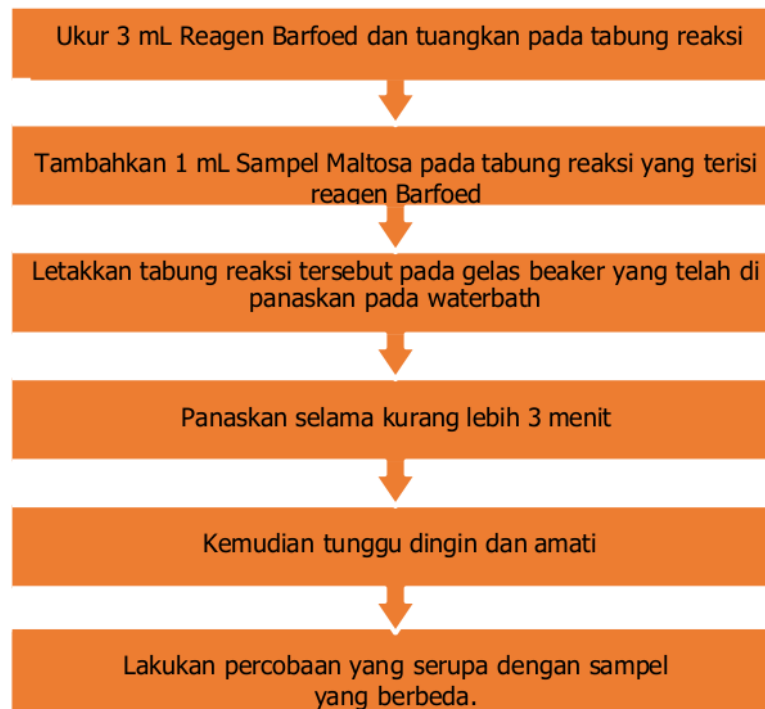
Letakkan tabung reaksi tersebut pada gelas beaker yang telah di panaskan pada waterbath

Panaskan selama kurang lebih

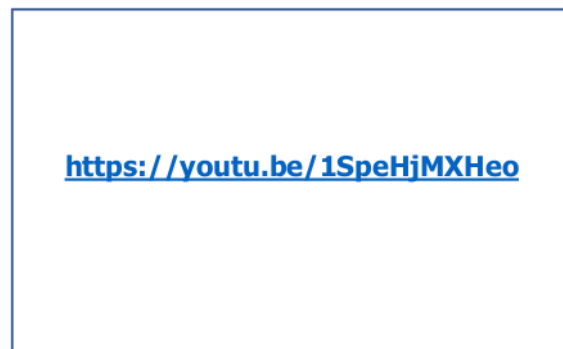
Tunggu hingga dingin dan

Lakukan percobaan yang serupa dengan sampel yang berbeda

Uji Barfoed

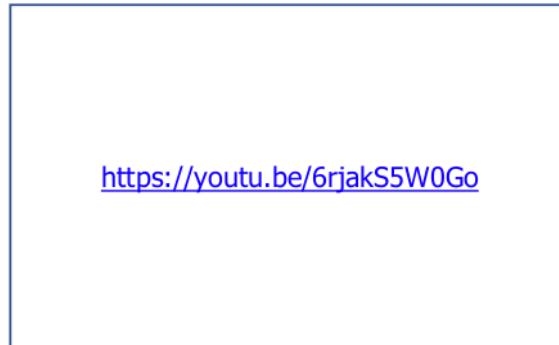


#### Contoh Uji Karbohidrat



Gambar 59. Video Uji Karbohidrat  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

Contoh Uji Iodin



Gambar 60. Video Uji Iodin  
Sumber: <https://youtu.be/6rjakS5W0Go>

Contoh Uji Benedic



Gambar 61. Video Uji Benedic  
Sumber: <https://youtu.be/TDFbtEwbmz0>

## Contoh Uji Barfoed

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

Gambar 62. 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



### c. 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

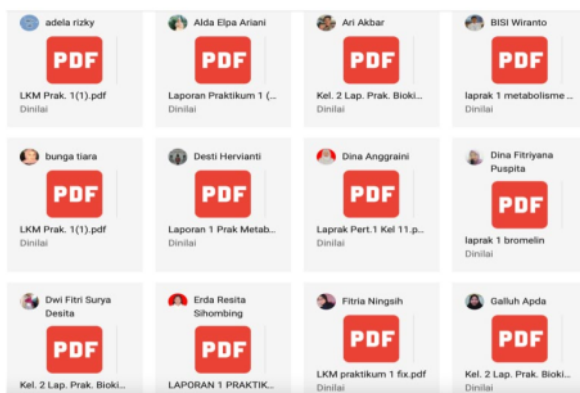
No	Uji Karbohidrat	Sampel Karbohidrat
1	Molisch	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysine
2	Iodin	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysine
3	Benedict	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysine
4	Barfoed	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysine
5	Seliwanoff	Maltosa, Sukrosa, Glukosa, Glysine

Anda dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen pada Kuliah Biokimia 1 melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom asynchronous* mengenai proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Elaborasi dilakukan secara *offline* atau *online* secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat elaborasi, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

## 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 63. Submit Laporan 10 Praktikum Biokimia 1  
Sumber: Praktikum Biokimia 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
- <sup>5</sup> 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.
- Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.
- Voet, D., Voet, J.G. 2011. *Amino Acid, Biochemistry*. 4th. USA: John Wiley & Sons Incorporated.
- <sup>4</sup> Wirahadikusumah, M. 1985. *Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

## 11. Penentuan Kadar Glukosa dengan Metode Antron

Hasil Belajar Mata kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri untuk kelompok kerja yang menjadi tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini mahasiswa mampu melakukan proses penilaian mandiri terhadap kelompok kerja yang menjadi tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di *google classroom*.

### a. Orientasi

Karbohidrat terdiri dari unsur C, H dan O. Jumlah atom hidrogen dan oksigen dengan perbandingan 2 : 1.1 Karbohidrat dapat dibedakan menjadi : monosakarida, oligosakarida dan polisakarida. Monosakarida adalah karbohidrat paling sederhana yang tidak dapat diuraikan menjadi karbohidrat lain. Kebanyakan monosakarida dikenal sebagai heksosa, karena terdiri dari rantai atau cincin 6-karbon. Ada tiga jenis heksosa yang penting dalam dietetik, yaitu glukosa, fruktosa dan galaktosa. Ketiga jenis monosakarida ini memiliki jenis dan jumlah atom yang sama, yaitu 6 atom karbon, 12 atom hidrogen, dan 6 atom oksigen. Perbedaannya hanya terletak pada cara atom hidrogen dan oksigen diatur di sekitar atom karbon.

Glukosa banyak ditemukan di alam dalam jumlah kecil, khususnya dalam sayuran, buah-buahan, dan jus pohon serta fruktosa dalam madu. Terlepas dari sumber-sumber ini, glukosa juga diproduksi sebagai hasil dari pati yang dicerna

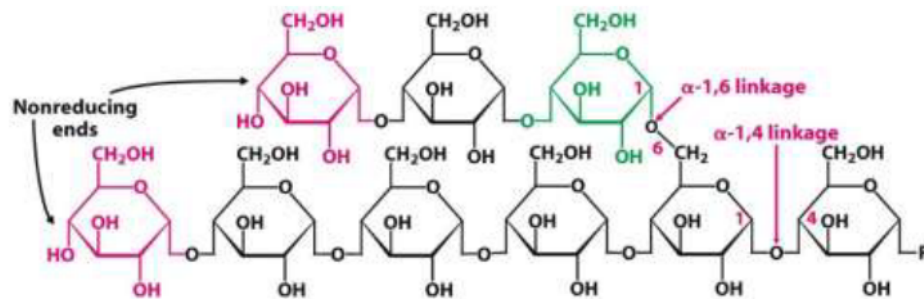
menjadi dekstrin, dan dekstrin diubah menjadi maltosa, dan akhirnya menjadi dua molekul gula glukosa. Glukosa memainkan peran yang sangat penting dalam nutrisi. Dalam proses metabolisme, glukosa merupakan salah satu bentuk karbohidrat yang beredar di dalam tubuh dan di dalam sel merupakan sumber energi. Dalam keadaan normal, sistem saraf 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.

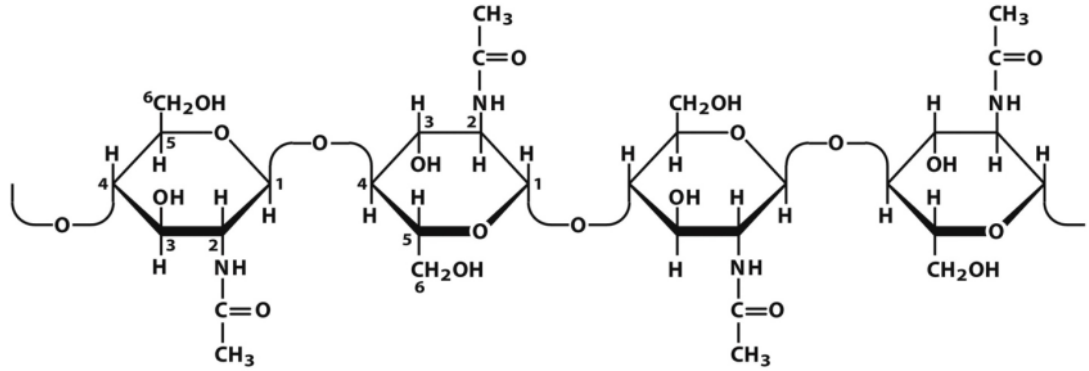
Metode Anthrone sulfat adalah metode yang paling umum digunakan dalam analisis karbohidrat dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Visible. Metode anthrone ini memiliki banyak keunggulan antara lain kesederhanaan ujinya, spektrumnya yang luas dan sensitifitasnya yang cukup baik. Kekurangan dari 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 ( $\text{CO}_2$ ) dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) melalui fotosintesis dan disimpan dalam bentuk pati atau selulosa. Hewan membuat karbohidrat dari lemak, gliserol, dan asam amino, tetapi turunan karbohidrat yang digunakan hewan berasal dari tumbuhan. Polisakarida adalah karbohidrat kompleks yang terdiri dari unit monosakarida yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Secara tata nama, polisakarida dibagi menjadi dua bagian, yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Polisakarida yang berperan sebagai cadangan makanan adalah pati dan glikogen, sedangkan yang menyusun struktur molekul adalah kitin dan selulosa.



Gambar 64. Glikogen



Gambar 65. 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

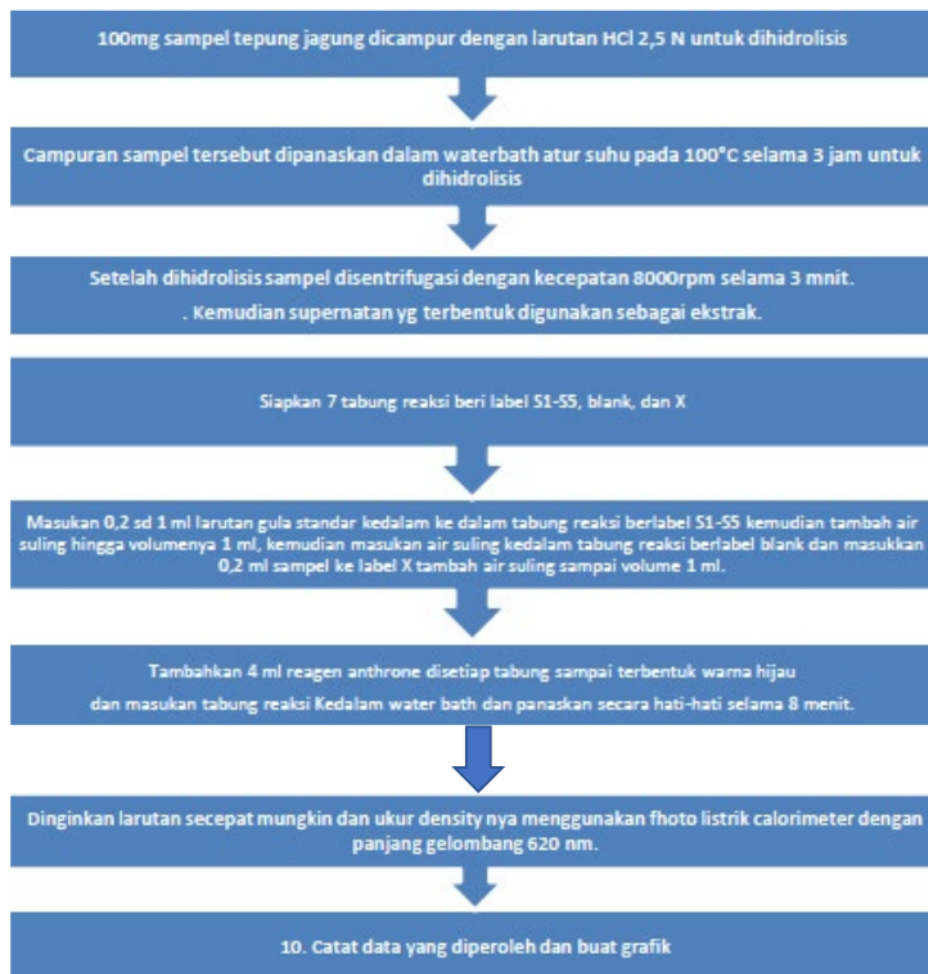
Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan penentuan kadar glukosa melalui metode Antron.

Prosedur percobaan

- a) Prosedur percobaan
1. 100mg sampel tepung jagung dicampur dengan larutan 10 mL 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. Buat Larutan Standar Glukosa dengan konsentrasi 1mg/1mL
  7. Masukkan 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1 mL larutan glukosa standar kedalam tabung reaksi berlabel S1-S5 kemudian tambah air suling hingga volumenya 1 mL.
  8. Masukkan air suling 1 mL kedalam tabung reaksi berlabel blanko.
  9. Masukkan 0,2 ml sampel ke label X tambah air suling sampai volume 1 mL.
  10. Tambahkan 4 mL reagen anthrone setiap tabung sampai terbentuk warna hijau.
  11. Masukkan tabung reaksi Kedalam water bath dan panaskan secara hati-hati selama 8 menit.
  12. Dinginkan larutan secepat mungkin dan ukur density nya menggunakan photo listrik calorimeter dengan panjang gelombang 620 nm.
  13. Catat data yang diperoleh dan buat grafik.

Adapun diagram alimya adalah sebagai berikut.





## Contoh Penentuan kadar glukosa secara Anthrone

<https://youtu.be/fOv4tntxZF4>

Gambar 66. Video penentuan kadar glukosa  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

### 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

## b. 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

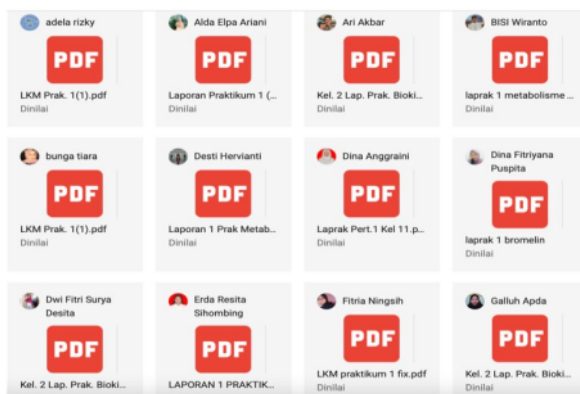
Sampel Karbohidrat
Tepung Jagung

Anda dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom* asynchronous terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Elaborasi dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat elaborasi, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

## 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 67. 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.

5

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.

Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1.* Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.

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

4

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. Uji Lipid

Hasil Belajar Mata kuliah yang direncanakan adalah agar mahasiswa mampu secara mandiri bertanggung jawab atas pekerjaan di bidang keahliannya (CPMK1), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini adalah mahasiswa mampu bertanggung jawab untuk mengelola (merancang, mengimplementasikan dan pelaporan) pengalaman uji (Sub-CPMK6). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan 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.

Lemak adalah biomolekul yang sangat penting dalam kebutuhan nutrisi kita. Salah satu bentuk lemak adalah trigliserida dan lipoprotein. Trigliserol merupakan sumber cadangan kalori energi tinggi. Sebagai perbandingan, metabolisme

karbohidrat dan protein akan menghasilkan energi sekitar 4 sampai 5 kkal/g, sedangkan trigliserida dapat menghasilkan 9 kkal/g. Fungsi biologis lemak tergantung pada komposisi kimianya. Minyak dan lemak adalah cadangan nutrisi di banyak organisme. Fosfolipid dan sterol adalah struktur utama yang membentuk membran. Beberapa jenis lipid dengan jumlah terbatas berfungsi dalam sel organisme hidup sebagai kofaktor, pembawa elektron, pigmen penyerap cahaya, terminator hidrofobik, zat pengemulsi, hormon, dan pembawa pesan intraseluler. Sebagai bentuk umum dari lemak yang berfungsi sebagai cadangan makanan, minyak dan lemak memiliki bentuk seperti asam lemak dan turunannya. Asam lemak adalah turunan hidrokarbon dengan bilangan oksidasi rendah. Lipid relatif tidak larut dalam air dan larut dalam pelarut non-polar seperti eter dan kloroform. Berdasarkan jenis ikatannya, asam lemak dikelompokkan menjadi dua bagian, yaitu asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh. Asam lemak jenuh adalah asam lemak yang semua atom karbon dalam rantai karbonnya merupakan 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, asam linolenat.

#### Klasifikasi lemak

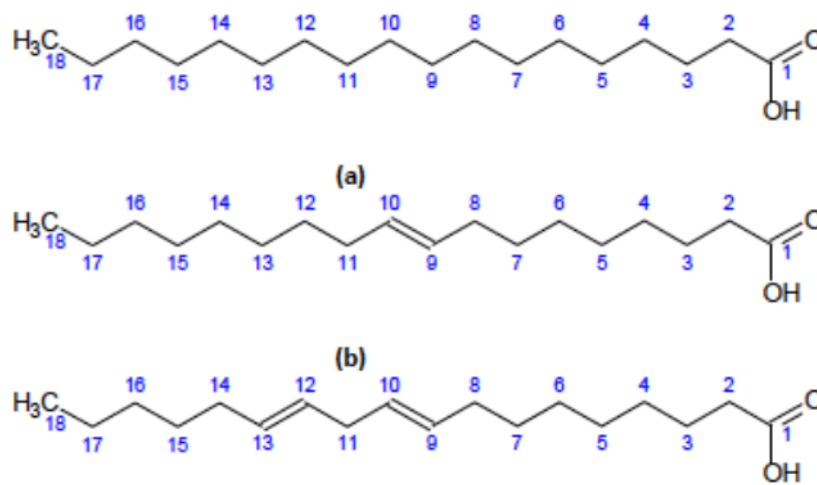
- 1) Lemak sederhana. Ester terdiri dari asam lemak dengan beberapa gugus alkohol.
  - a) Lemak. Ester asam lemak dibentuk dengan gliserol. Minyak adalah bentuk cair dari lemak.
  - b) Lilin. Bentuk ester dari asam lemak memiliki berat molekul yang besar dengan bentuk alkohol monohidrat.

- 2) Lemak kompleks. Ester asam lemak terbentuk yang memiliki kelompok lain yang ditambahkan ke alkohol atau kelompok asam lemak.
- a) fosfolipid. Lemak yang mengandung residu asam fosfat. Molekul ini memiliki basa nitrogen dan substituen lainnya, misalnya gliserofosfolipid memiliki gugus alkohol berupa gliserol dan sfingofosfolipid memiliki gugus alkohol berupa sfingosin.
  - b) Glikolipid (glikosfingolipid). Lemak mengandung asam lemak, sphingosine dan karbohidrat.
  - c) lemak kompleks lainnya. Misalnya, sulfolipid, aminolipid dan lipoprotein.
- 3) Prekursor dan turunan lipid. Contoh lemak dalam kategori ini termasuk asam lemak, gliserol, steroid, aldehida lemak, badan keton, vitamin yang larut dalam lemak, dan hormon.

#### Asam Lemak

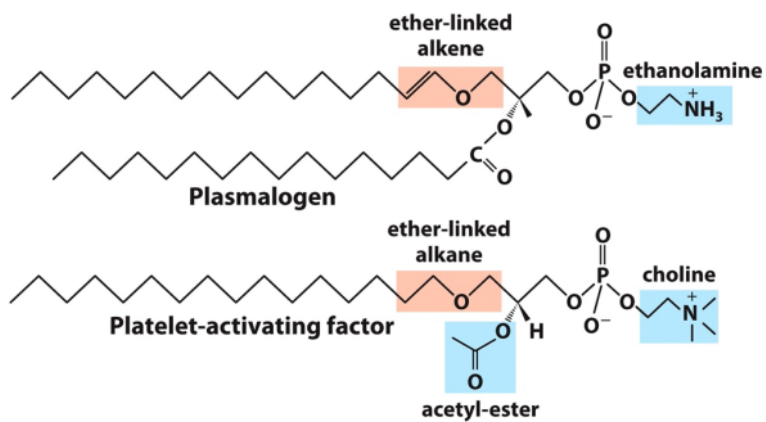
Asam lemak merupakan komponen lemak yang memiliki bentuk kepala dan ekor. Kepala asam lemak adalah gugus karboksil yang mengandung karbon nomor 1 dan ekornya adalah hidrokarbon jenuh atau tak jenuh. Karbon diberi nomor setelah gugus karboksil 2, 3, 4 dan seterusnya. Asam lemak mengandung sekitar 4 sampai 36 atom karbon. Kehadiran ikatan rangkap dalam rantai karbon asam lemak sering dilambangkan dengan  $\Delta$ (delta) diikuti dengan jumlah karbon yang mengandung ikatan rangkap.





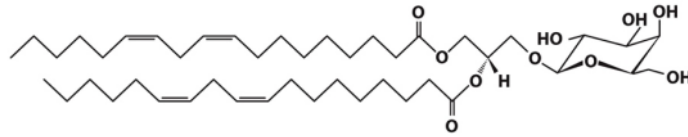
Gambar 68. (a) Asam stearat; (b) Asam Oleat; (c) Asam Linolenat

Eter lipid

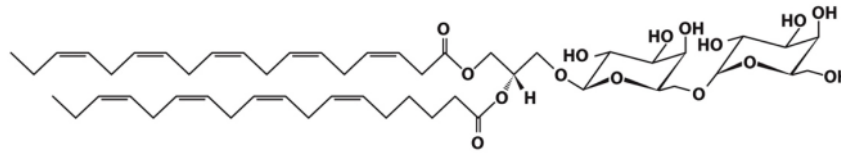


Gambar 69. Eter Lipid

## Galaktolipid

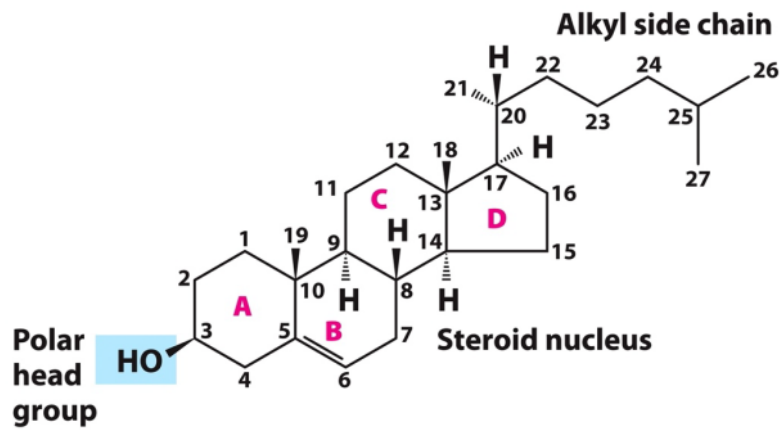


Monogalactosyldiacylglycerol (MGDG)



Digalactosyldiacylglycerol (DGDG)

## Sterol



Gambar 70. 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 seasame minyak wijen). Minyak seasame memberikan warna merah mawar yang khas dengan asam klorida pekat dan larutan furfural. Lemak atau minyak nabati mengandung 5% minyak seaame sedangkan lemak hewan murni tidak mengandung minyak seaame.

#### **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 refrensi 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 Adan 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

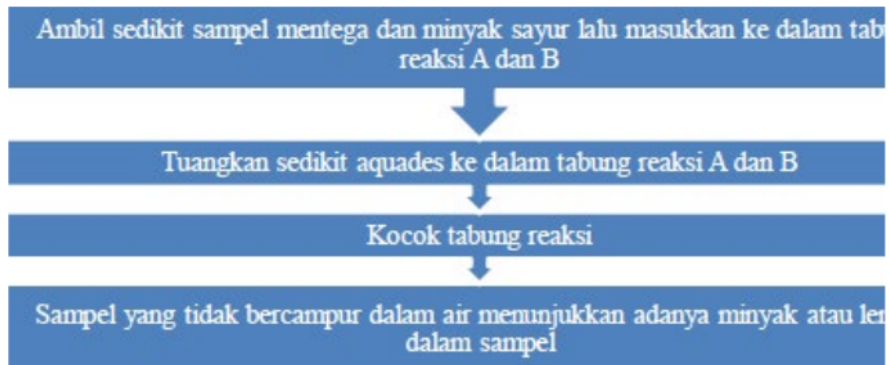
D. Baudouin

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.

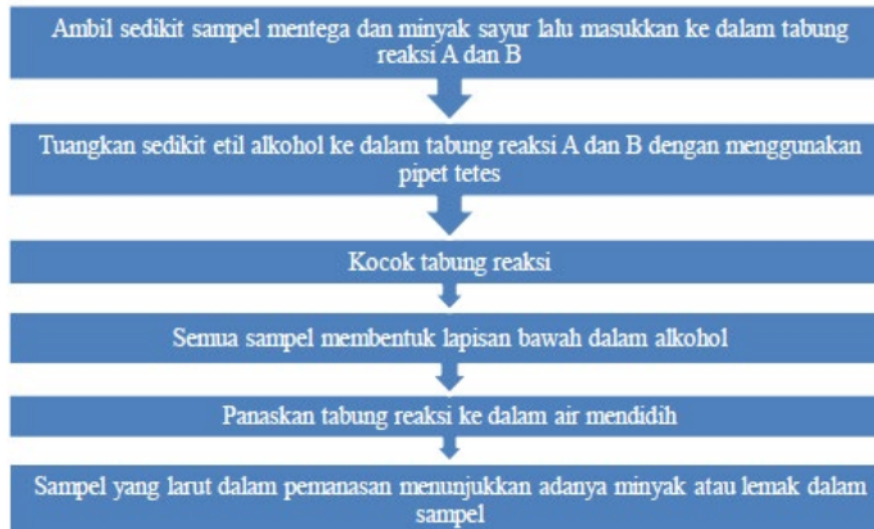
E. Hubel

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 iodin 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.

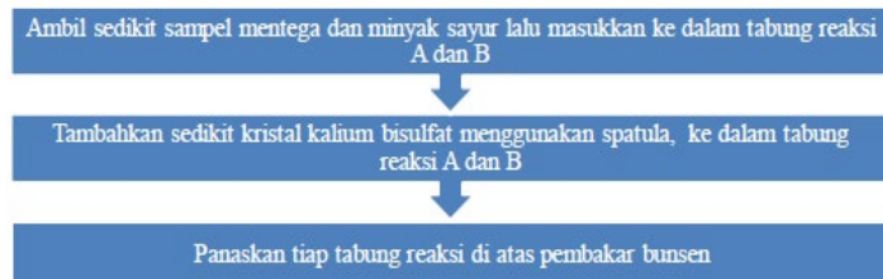
#### Uji Kelarutan Dalam Air



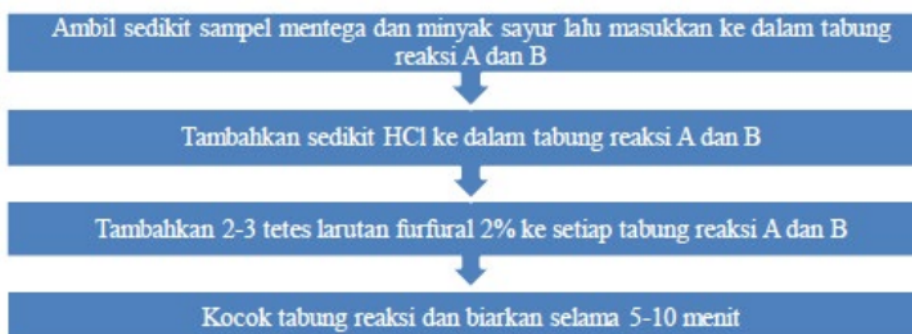
#### Uji kelarutan dalam alkohol



#### 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/cu9yfr86cMU>

Gambar 71. Video Uji Asam Lemak  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri



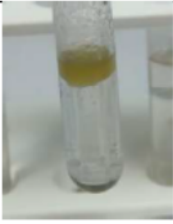
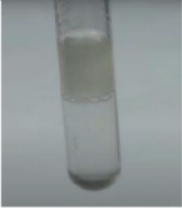


## Alat dan Bahan



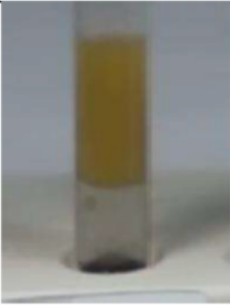
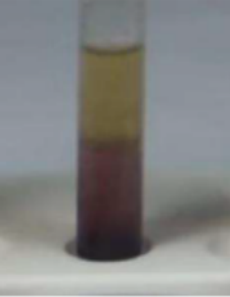
### a. Alat yang digunakan

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

### b. Bahan yang digunakan

- 1) Minyak samín (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	

#### **d. 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

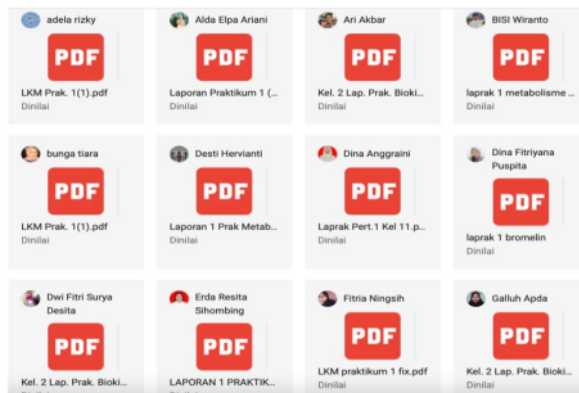
No	Uji Minyak dan Lemak	Sampel Minyak dan Lemak
1	Kelarutan dalam Air	Mentega, Minyak sayur
2	Kelarutan dalam Alkohol	Mentega, Minyak sayur
3	Akrolein	Mentega, Minyak sayur
4	Baudouin	Mentega, Minyak sayur
5	Hubel	Mentega, Minyak sayur

Anda dapat berkolaborasi dengan mahasiswa lain atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Elaborasi dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat elaborasi, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya..

#### **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 72. 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).

<sup>5</sup>  
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.

Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.

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

<sup>4</sup>  
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. Penentuan Kadar Asam Lemak Metode Safonifikasi

Hasil belajar mata kuliah yang direncanakan adalah mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri terhadap kelompok kerja yang menjadi tanggung jawabnya, dan mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (CPMK3), sedangkan kemampuan pamungkas dalam pengalaman ini mahasiswa mampu melakukan proses penilaian diri terhadap kelompok kerja yang ada di dalam kelompok, di bawah tanggung jawabnya, mereka mampu mengelola pembelajaran secara mandiri (Sub-CPMK4). Pengalaman belajar yang diperoleh adalah siswa melaksanakan latihan: merencanakan, mengamati, menganalisis, mengelaborasi, membuat dan melaporkan di <https://elearning.unsri.ac.id> dan di google classroom.

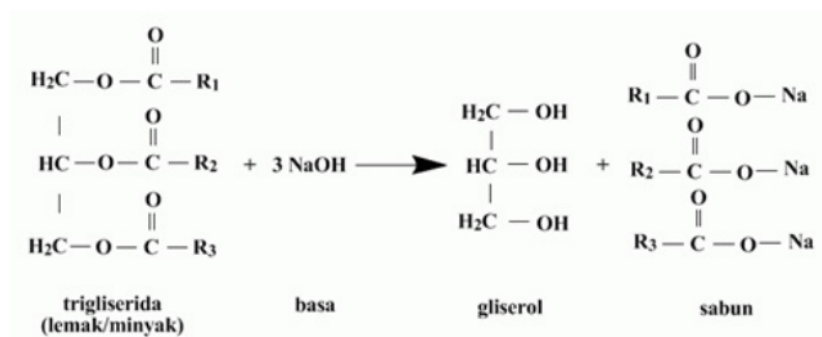
#### a. Orientasi

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,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 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,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (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 referensi jurnal metode yang dapat digunakan untuk menentukan kandungan lipid secara kuantitatif pada pangan tersebut.

### c. Penstrukturan Ide

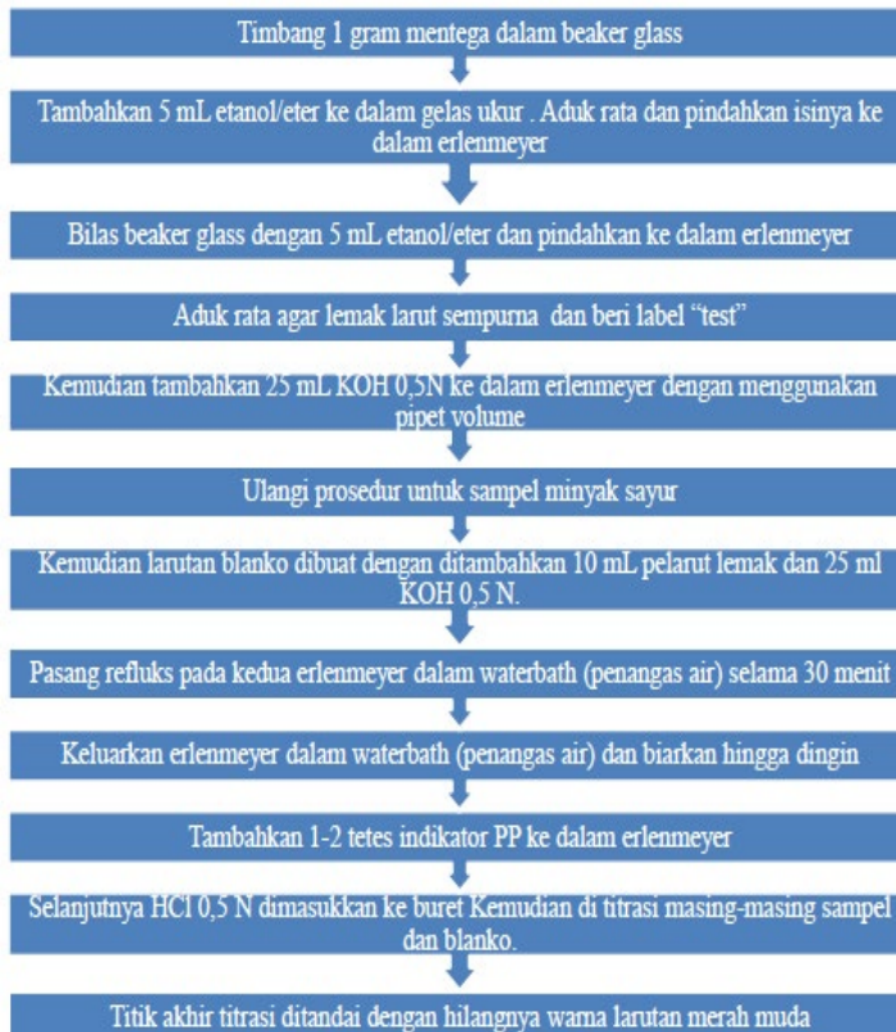
Hasil pencetusan ide bersama dengan kelompok saudara rancanglah percobaan penentuan lipid pada bahan pangan dengan metode Safonifikasi.

#### 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/EcpggC1uPAA>

Gambar 73. Video Uji asam lemak dengan Safonifikasi  
Sumber: Praktikum Biokimia 1 PKimia FKIP Unsri

#### 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

##### **d. 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

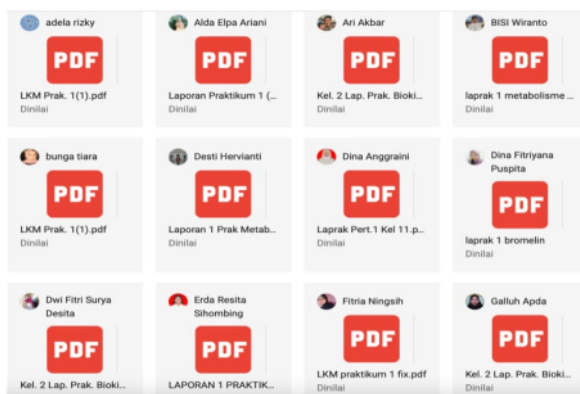
Sampel Lipid
1 Gram mentega, dan 1 Gram minyak sayur

Anda dapat berkolaborasi dengan sesama mahasiswa atau dosen dalam mata kuliah Biokimia 1 Anda melalui *WhatsApp* dan media *Google Classroom asynchronous* terkait proses kerja Anda. Anda mengerjakan sesuai dengan LKS yang telah disiapkan. Apalagi pada hari yang telah ditentukan, kelas akan diasuh oleh kelompok mahasiswa dan dosen. Detailing dilakukan secara offline atau online secara bersamaan melalui aplikasi *e-Learning Unsri* atau melalui *Zoom meeting*. Pada saat merinci, yang paling penting adalah melaporkan proses kerja dan umpan balik yang diberikan. Masalah yang terjadi dan cara mengatasinya.

## 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 74. 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.

5 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.

Sukaryawan, M., Sari, D.K. 2021. *Video Pembelajaran Praktikum Biokimia 1*. Indralaya: Prodi Pendidikan Kimia FKIP Unsri.

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

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

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

# buku ajar praktikum Biokimia K5FN

---

## ORIGINALITY REPORT

---

20%

SIMILARITY INDEX

11%

INTERNET SOURCES

3%

PUBLICATIONS

16%

STUDENT PAPERS

---

## PRIMARY SOURCES

---

1	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	8%
2	docobook.com Internet Source	2%
3	repository.syekhnurjati.ac.id Internet Source	1%
4	es.scribd.com Internet Source	1%
5	digre.pmf.unizg.hr Internet Source	1%
6	docplayer.info Internet Source	1%
7	pspk.fkunissula.ac.id Internet Source	1%
8	kelantan19.blogspot.com Internet Source	1%
9	www.dictio.id Internet Source	1%

---



10	Submitted to Universidad de Costa Rica Student Paper	1 %
11	<a href="http://www.sumberwawasan.com">www.sumberwawasan.com</a> Internet Source	1 %
12	<a href="http://baixardoc.com">baixardoc.com</a> Internet Source	1 %
13	<a href="http://repository.uhamka.ac.id">repository.uhamka.ac.id</a> Internet Source	1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography Off