

PENUNTUN / MANUAL PRAKTIKUM

# BIOKIMIA STRUKTUR

OLEH:

**TIM BIOKIMIA**



Nama Mahasiswa	
N I M	

JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PATTIMURA  
AMBON  
2023

PENUNTUN / MANUAL PRAKTIKUM

# BIOKIMIA STRUKTUR

*Disusun Oleh:*

**Prof. Dr. Dominggus Malle, M.Sc.**

**Dr. Ivonne Telussa, M.Si.**

**Eirene G. Fransina, S.Si., M.Si.**

**Nelson Gaspersz, S.Si., M.Si.**

**Nurani Hasanela, S.Si., M.Si.**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PATTMIURA  
AMBON  
2023**

## KATA PENGANTAR

Ilmu biokimia merupakan cabang ilmu kimia dan biologi yang mempelajari fenomena atau proses-proses fisiologis pada makhluk hidup yang melibatkan ribuan reaksi kimia dalam pola teratur, atau yang lebih dikenal dengan istilah metabolisme. Pemahaman akan prinsip-prinsip dasar ilmu biokimia oleh mahasiswa harus dapat ditunjukkan dalam suatu model yang lebih nyata, yaitu melalui praktikum di laboratorium sehingga mahasiswa akan lebih memahami materi yang telah dikuliahkan. Untuk membantu proses pemahaman ini maka dibuatlah suatu penuntun praktikum Biokimia Struktur yang dapat memberikan tuntunan bagi mahasiswa dan dosen dalam melakukan praktikum.

Penuntun praktikum ini dirancang berdasarkan ketersediaan fasilitas/peralatan dan bahan kimia pada laboratorium. Sehingga materi praktikum ini masih bersifat mendasar. Diharapkan bila nantinya kondisi laboratorium sudah memungkinkan maka penuntun ini dapat direvisi dengan materi-materi yang lebih aplikatif sesuai perkembangan ilmu biokimia.

Pada akhirnya, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Ketua Jurusan Kimia Fakultas MIPA atas bantuan dan arahnya sehingga penuntun ini dapat diselesaikan. Semoga penuntun ini bermanfaat bagi yang menggunakannya. Penulis juga mengharapkan kritik dan saran yang objektif dari semua pihak demi penyempurnaan penuntun praktikum Biokimia di masa mendatang.

Ambon, September 2023

Tim Penyusun

## DAFTAR ISI

Kata Pengantar .....	i
Daftar Isi .....	ii
Tata Tertib Praktikum .....	iii
Percobaan 1: PEMBUATAN LARUTAN PENYANGGA (BUFFER) .....	1
Percobaan 2: ASAM AMINO dan PROTEIN .....	6
Percobaan 3: ENZIM .....	17
Percobaan 4: KARBOHIDRAT .....	22
Percobaan 5: LIPIDA/LEMAK .....	29
REFERENSI	

## TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Praktikan sudah harus hadir 15 menit sebelum praktek dimulai.
2. Praktikan wajib memiliki jas praktikum (gaun lab) dan sudah dipakai sebelum memasuki ruangan praktikum.
3. Dilarang makan, minum, merokok, dan atau mengkonsumsi permen karet selama berada dalam ruangan praktikum.
4. Sebelum melakukan percobaan, praktikan sudah harus mempersiapkan diri dengan membaca prosedur percobaan dan membuat buku jurnal praktikum.
5. Sebelum memulai percobaan, praktikan harus menyerahkan laporan praktikum dari percobaan sebelumnya. Bila tidak, maka nilai laporan tersebut dinyatakan tidak ada (tidak ada penyerahan laporan susulan).
6. Setelah selesai praktikum, praktikan diwajibkan menyerahkan kopian lembaran data kepada asisten.
7. Sebelum percobaan dimulai, praktikan dianjurkan memeriksa kondisi peralatan praktikum. Apabila ada peralatan yang pecah/rusak sebelum praktikum dimulai segera dilaporkan ke asisten/teknisi/laboran. Dan apabila praktikan secara tidak hati-hati merusak/memecahkan peralatan praktikum, segera dilaporkan ke asisten/teknisi/laboran dan harus diganti.
8. Praktikan diwajibkan untuk menjaga kebersihan, ketenangan dan keselamatan kerja.
9. Hal-hal lain yang belum dicantumkan dalam tata tertib ini akan diatur kemudian.

## Percobaan 1

### PEMBUATAN LARUTAN PENYANGGA (BUFFER)

#### TUJUAN:

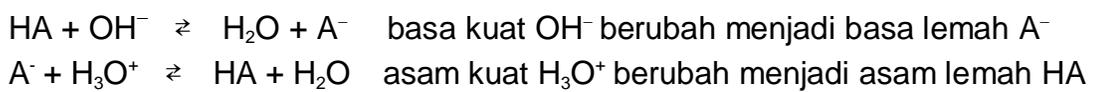
1. Mengetahui prinsip pembuatan larutan buffer.
2. Mengamati peranan buffer dalam menjaga keadaan pH ketika ditambahkan asam atau basa.

#### DASAR TEORI:

Umumnya sistem biologis sangat sensitif terhadap perubahan pH. Sebagai contoh, banyak protein berfungsi dengan baik hanya bila pH sistem sangat dekat dengan lingkungan biologis alaminya. Untuk mempertahankan kondisi pH suatu sistem dari pengaruh lingkungan sekitarnya diperlukan suatu penyangga atau buffer.

Karena konsentrasi ion hidrogen sangat mempengaruhi proses-proses fisiologis tubuh, jadi tidaklah mengherankan bahwa pengaturan pH merupakan suatu hal yang sangat esensial bagi makhluk hidup. Konsentrasi ion hidrogen umumnya diatur/dijaga dalam kisaran sempit. Sebagai contoh, darah manusia normalnya memiliki pH 7,4 (atau 7,35-7,45) meskipun darah mengandung banyak produk atau limbah terlarut yang bersifat asam atau basa.

Buffer umumnya terdiri atas asam lemah dan basa konjugasinya (garam asam lemah) atau basa lemah dan asam konjugasinya (garam basa lemah).



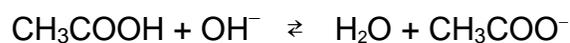
pH suatu buffer dapat dihitung dengan menggunakan persamaan **Henderson-Hasselbalch**:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{basa konjugasi}]}{[\text{asam}]}$$

Berdasarkan persamaan di atas, bila ratio konsentrasi basa konjugasi dan asam adalah sama, maka pH sama dengan  $\text{pK}_a$ .

Sebagai contoh adalah buffer asetat. Campuran asam asetat (asam lemah) dan natrium asetat (garam asam lemah) merupakan suatu buffer yang efektif.

Bila buffer ini ditambahkan dengan basa maka spesies asam akan bereaksi dengan basa dan membentuk ion asetat dan air:



Dan bila ditambahkan asam maka ion asetat akan bereaksi dengan asam membentuk asam asetat dan air:



## ALAT DAN BAHAN

### Alat

Gelas kimia/erlenmeyer 250 mL  
Labu takar 250 mL  
Pipet ukur/gelas ukur 20/25 mL  
Gelas kimia 50 mL  
Timbangan analitik  
pH meter

### Bahan

$\text{CH}_3\text{COOH}$  6 M  
 $\text{CH}_3\text{COONa}$   
HCl 6 M  
NaOH 6M

## PROSEDUR

### Pembuatan larutan buffer asetat:

#### A. Perhitungan

Dengan menggunakan persamaan Henderson-Hasselblach, tentukan masing-masing konsentrasi basa konjugasi ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) dan konsentrasi asam ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) untuk larutan buffer asetat sebanyak 250 mL dan pH 5,0. pKa asam asetat adalah 4,76. Hitung volume asam asetat yang dibutuhkan dari asam asetat 6 M.

#### B. Pembuatan Buffer

- 1) Siapkan 1 labu takar ukuran 250 mL
- 2) Timbang  $x$  gram (dari perhitungan di atas) natrium asetat ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) dan masukkan ke dalam labu takar.
- 3) Tambahkan air hingga kira-kira setengah ukuran labu dan kocok dengan cara mengoyangkan labu secara horizontal hingga semua kristal larut dengan sempurna.
- 4) Tambahkan  $y$  mL (dari perhitungan di atas) asam asetat 6M (gunakan gelas ukur atau pipet ukur kapasitas 10 atau 20 mL) dan kocok (ke poin B.3).
- 5) Tambahkan air hingga batas miniskus/tera.
- 6) Pindahkan ke sebuah gelas kimia/erlenmeyer ukuran 250 mL.
- 7) Ukurlah pH buffer yang telah dibuat.

#### C. Pengaruh Penambahan Asam/Basa

- 1) Siapkan 4 gelas kimia 50 mL dan beri label A, B, C dan D.
- 2) Ambil masing 40 mL larutan buffer yang telah dibuat dan masukkan ke dalam gelas kimia berlabel A dan B.
- 3) Masukkan gelas C dan D dengan masing-masing 40 ml air.
- 4) Ukur dan catat pH awal masing-masing gelas kimia.
- 5) Tambahkan 1 mL larutan HCl 6M ke dalam gelas A dan C. Kemudian diaduk.
- 6) Ukur dan catat pHnya.
- 7) Tambahkan 1 mL larutan NaOH 6M ke dalam gelas B dan D. Kemudian di aduk.
- 8) Ukur dan catat pHnya.

**Pertanyaan:**

1. Apakah nilai pH hasil perhitungan sama dengan nilai pengukuran? Mengapa demikian? Jelaskan.
2. Apa yang terjadi dengan penambahan HCl dan NaOH pada buffer asetat? Bandingkan dengan air.
3. Tuliskan reaksi yang terjadi pada pertanyaan 2.





## Percobaan 2

### ASAM AMINO DAN PROTEIN

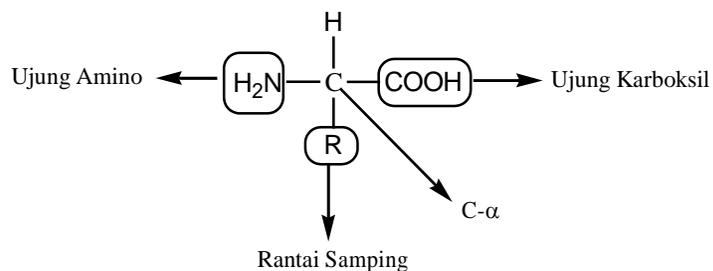
#### TUJUAN:

1. Mengetahui reaksi-reaksi umum asam-asam amino penyusun protein.
2. Memahami faktor-faktor yang mempengaruhi kestabilan protein.
3. Menentukan konsentrasi protein dalam sampel

#### DASAR TEORI:

Protein merupakan polimer asam-asam amino. Asam-asam amino dihubungkan dengan ikatan peptida menjadi rantai linear yang dikenal dengan istilah polipeptida. Apabila rantai polipeptida mengalami pelipatan (folding) maka akan membentuk protein.

Asam amino merupakan suatu kelompok senyawa organik yang terdiri dari gugus amino ( $-\text{NH}_2$ ) yang bersifat basa, gugus karboksil ( $-\text{COOH}$ ) yang bersifat asam dan gugus R atau rantai samping yang menjadi pembeda bagi satu asam amino dengan asam amino lainnya. Rumus umum asam amino adalah seperti gambar berikut:



Protein umumnya tersusun atas 20 jenis asam amino. Asam-asam amino penyusun protein dikelompokkan berdasarkan sifat yang dimiliki oleh rantai samping (R). Pengelompokan asam-asam amino disajikan dalam tabel berikut:

Asam Amino		Struktur	Simbol	
Indonesia	Inggris		Tiga Huruf	Tunggal
<b>Asam Amino Non Polar Netral</b>				
Glisin	Glycine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{H} \end{array}$	Gly	G
Alanin	Alanine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Ala	A
Valin	Valine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Val	V

Leusin	Leucine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Leu	L
Isoleusin	Isoleucine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Ile	I
Fenilalanin	Phenylalanine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	Phe	F
Triptofan	Tryptophan	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{Indole} \end{array}$	Trp	W
Metionin	Methionine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Met	M
Sistin	Cystein	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \end{array}$	Cys	C
Prolin	Proline	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{HN} \\   \\ \text{C}_4\text{H}_7 \end{array}$	Pro	P
<b>Asam Amino Polar Netral</b>				
Serin	Serine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$	Ser	S
Treonin	Threonine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Thr	T

Tirosin	Tyrosine	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{C}_6\text{H}_4 \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Tyr	Y
Asparagin	Asparagine	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{NH}_2  \end{array}  $	Asn	N
Glutamin	Glutamine	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{NH}_2  \end{array}  $	Gln	Q
<b>Asam Amino Asam</b>				
Asam Aspartat	Aspartic acid	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Asp	D
Asam Glutamat	Glutamic acid	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Glu	E
<b>Asam Amino Basa</b>				
Lisin	Lysine	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{NH}_2  \end{array}  $	Lys	K
Arginin	Arginine	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{NH} \\    \\  \text{C}=\text{NH} \\    \\  \text{NH}_2  \end{array}  $	Arg	R

Histidin	Histidine	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{N} \\  \diagup \quad \diagdown \\  \text{C} \\  \diagdown \quad \diagup \\  \text{NH}  \end{array}  $	His	H
----------	-----------	---	-----	---

## ALAT DAN BAHAN

### Alat

Gelas kimia 500 mL

reaksi

NaOH 0,1M; 10%; 30%

### Bahan

Albumen 5% Tabung

CH<sub>3</sub>COOH 6 M; 1% Pipet tetes

CuSO<sub>4</sub> 0,1 M

Ninhidrin 1%

Reagen Milon

Timbal asetat 5%

HNO<sub>3</sub> pekat

NH<sub>4</sub>OH pekat

α-naftol 1%

Hipobromida 2%

AgNO<sub>3</sub> 5%

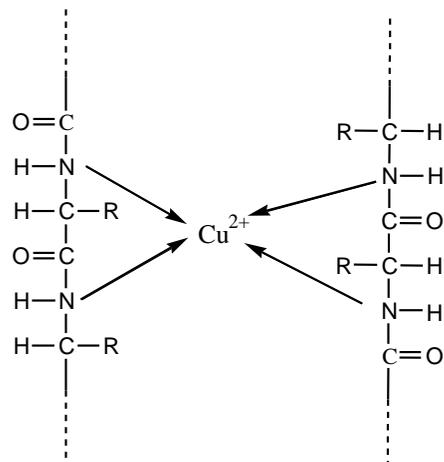
NaCl pekat (30%); kristal

Etanol

## A. Reaksi-Reaksi Khas (Reaksi Warna) Protein dan Asam Amino

### 1. Reaksi Biuret

Reaksi Biuret dapat digunakan untuk menentukan kadar protein terlarut dalam suatu larutan. Pereaksi biuret (tembaga sulfat dalam larutan basa kuat) akan bereaksi dengan ikatan peptide (minimal terdapat dua ikatan peptida atau tripeptida) dan merubah warna larutan menjadi ungu/violet.

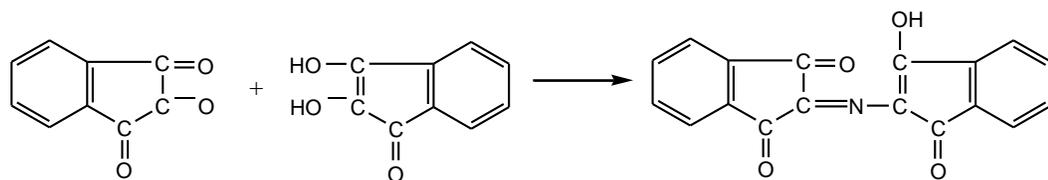
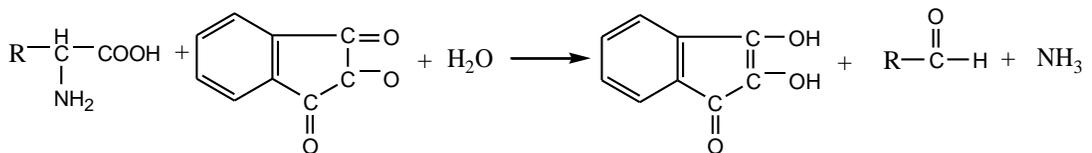


### Prosedur:

- 1) Masukkan 1 mL larutan protein ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 5 tetes larutan NaOH 0.1 M dan 1 tetes larutan CuSO<sub>4</sub> 0.1 M.
- 3) Kocok campuran perlahan-lahan dan amati perubahan yang terjadi. Warna ungu/violet menandakan adanya ikatan peptide dalam larutan.

## 2. Reaksi Ninhidrin

Reaksi ninhidrin merupakan uji untuk asam amino alfa ( $\alpha$ ). Asam amino alfa bereaksi dengan ninhidrin menghasilkan  $\text{CO}_2$ , aldehida, dan senyawa kompleks berwarna biru.



(warna biru/violet)

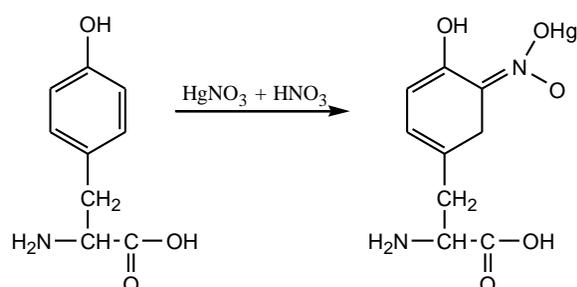
### **Prosedur:**

- 1) Masukkan 1 mL larutan protein/albumen ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 3-5 tetes larutan 1% ninhidrin.
- 3) Panaskan atau tempatkan dalam air mendidih.
- 4) Amati perubahan yang terjadi.

**Catatan:** Ninhidrin merupakan suatu senyawa yang berbahaya. Hati-hati dalam pemakaiannya.

## 3. Reaksi Milon

Reaksi Milon digunakan untuk menentukan adanya asam amino tirosin dalam suatu protein. Pereaksi Milon terdiri dari garam merkuri (ion logam berat) yang dilarutkan dalam larutan  $\text{HNO}_3$  pekat. Tirosin bereaksi dengan pereaksi Milon dan menghasilkan suatu garam merkuri berwarna merah purple.



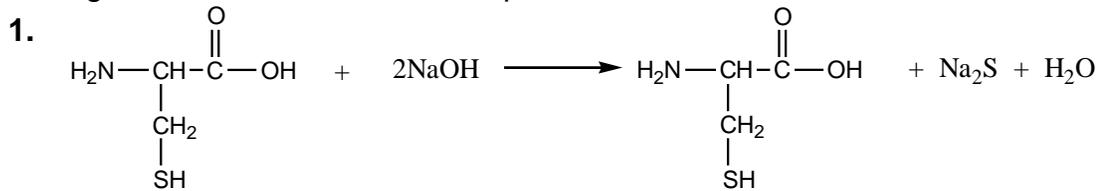
Garam Nitrotirosin Hg  
(warna merah-purple)

### **Prosedur:**

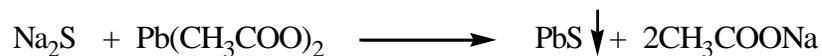
- 1) Masukkan 1 mL larutan protein/albumen ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 2-3 tetes larutan Milon.
- 3) Panaskan dalam air mendidih atau di atas pembakar spiritus.
- 4) Amati perubahan yang terjadi. Endapan protein berwarna merah bata menunjukkan adanya asam amino tirosin.

#### 4. Reaksi Fohl

Reaksi Fohl digunakan untuk menentukan asam amino yang mengandung sulfur/belerang (S). pemanasan larutan protein dalam suasana alkali menyebabkan pembentukan sulfide ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) jika protein mengandung asam amino ber-sulfur seperti sistein, sistin dan metionin. Bila senyawa  $\text{Na}_2\text{S}$  direaksikan dengan timbal asetat, suatu endapan berwarna coklat tua akan terbentuk.



2.

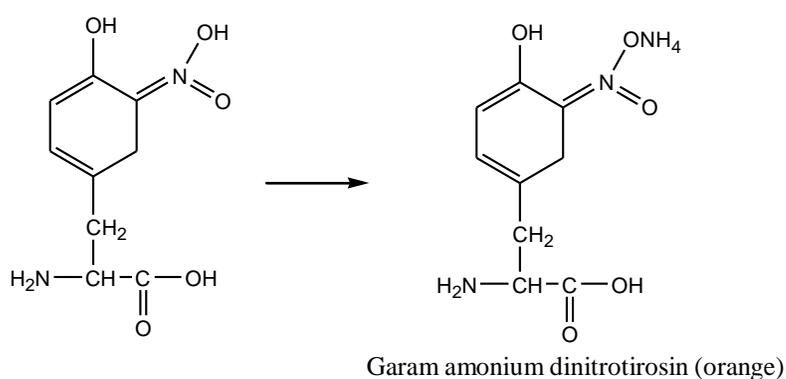
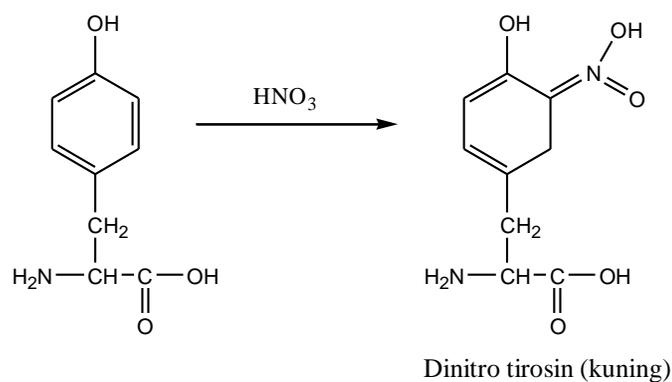


#### Prosedur:

- 1) Masukkan 10 tetes larutan protein/albumen ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 5 tetes  $\text{NaOH}$  30% dan 1 tetes larutan timbal asetat [ $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ].
- 3) Panaskan hingga warna coklat tua terbentuk.

#### 5. Reaksi Xanthoprotein

Reaksi Xanthoprotein merupakan uji spesifik untuk asam-asam amino siklik seperti fenilalanin, tirosin, triptofan dan histidin. Asam-asam amino aromatik bereaksi dengan  $\text{HNO}_3$  menghasilkan senyawa nitrogen berwarna kuning yang merubah warna menjadi orange dalam suasana alkali sedang karena adanya pembentukan garam.



**Prosedur:**

- 1) Masukkan 1 mL larutan protein/albumen ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 2-3 tetes larutan HNO<sub>3</sub> pekat.
- 3) Panaskan campuran hingga warna kuning muncul.
- 4) Dinginkan campuran di atas dan tambahkan 10 tetes larutan NH<sub>4</sub>OH pekat. Warna kuning akan berubah menjadi orange.

**6. Reaksi Sakaguchi**

Reaksi sakaguchi merupakan reaksi khas untuk arginin. Asam amino arginin bereaksi dengan  $\alpha$ -naftol membentuk suatu senyawa turunan berwarna merah.

**Prosedur:**

- 1) Masukkan 10 tetes larutan protein/albumen ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 2-3 tetes larutan  $\alpha$ -naftol 1% dan 2 tetes larutan hipobromida 2%.
- 3) Amati perubahan warna yang terjadi.

**B. Pengendapan Protein**

Sejumlah protein termasuk globulin larut dalam air. Sifat larut dalam air membuat protein ini menjadi stabil. Namun kestabilan protein tersebut sangat ditentukan oleh kondisi fisik atau lingkungan sekitarnya.

Apabila kondisi lingkungan berubah menjadi ekstrim, protein akan mengalami gagal fungsi (mengendap). Kondisi ini dapat bersifat kekal (*irreversible*) atau sementara (*reversible*). Pengendapan protein dianggap kekal apabila telah terjadi modifikasi kimiawi terhadap struktur protein sehingga menyebabkan kehilangan bentuk/struktur asli dan fungsi biologis (denaturasi). Kondisi ini dapat disebabkan oleh pemanasan, perubahan pH yang ekstrim, radiasi, pelarut organik, urea berkonsentrasi tinggi, dan detergen. Sebaliknya, protein yang mengalami gagal fungsi sementara dapat berubah ke keadaan semula. Dengan kata lain, perubahan lingkungan tidak menyebabkan terjadinya perubahan bentuk alami sehingga fungsi biologisnya masih terjaga. Kondisi ini umumnya terjadi bila larutan protein ditambahkan etanol, aseton, dan garam berkonsentrasi tinggi (umumnya ammonium sulfat). Endapan protein dapat larut kembali dalam air. Proses ini disebut renaturasi.

**1. Pengendapan dengan garam logam berat**

**Prosedur:**

- 1) Masukkan masing-masing 1 mL larutan protein/albumen ke dalam 3 tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 2-3 tetes CuSO<sub>4</sub> 5% pada tabung 1, Pb(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> 5% pada tabung 2, dan AgNO<sub>3</sub> 5% pada tabung 3.
- 3) Amati perubahan yang terjadi.
- 4) Tambahkan lagi beberapa tetes larutan garam logam berat secara berlebihan dan amati perubahan yang terjadi.

## 2. Pengendapan dengan pemanasan

### Prosedur:

- 1) Masukkan masing-masing 1 mL larutan protein/albumen ke dalam 5 tabung reaksi dan beri label 1, 2, 3, 4, dan 5.
- 2) Panaskan tabung 1 hingga endapan terbentuk.
- 3) Tambahkan 1 tetes asam asetat 1% pada tabung 2 dan panaskan. Amati perubahan yang terjadi.
- 4) Tambahkan 0,5 mL asam asetat 10% pada tabung 3 dan panaskan. Amati perubahan yang terjadi.
- 5) Tambahkan 0,5 mL asam asetat 10% pada tabung 4 dan tambahkan beberapa tetes NaCl jenuh dan panaskan. Amati perubahan yang terjadi.
- 6) Tambahkan 0,5 mL NaOH 10% pada tabung 5 dan panaskan. Amati perubahan yang terjadi.

## 3. Pengendapan dengan etanol

### Prosedur:

- 1) Masukkan 1 mL larutan protein/albumen ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan kristal NaCl
- 3) Tambahkan beberapa tetes etanol 96%.
- 4) Amati perubahan yang terjadi.
- 5) Pindahkan sebagian larutan bersama endapan ke dalam tabung reaksi lain.
- 6) Tambahkan air tetes demi tetes sambil dikocok.
- 7) Amati perubahan yang terjadi.

## C. Metode Penentuan Konsentrasi Protein

Penentuan konsentrasi protein dengan menggunakan metode kolorimetri (pembentukan warna) merupakan teknik yang sering digunakan karena kemampuan protein/asam amino bereaksi dengan zat lain dan menghasilkan warna spesifik yang dapat diukur intensitasnya dengan metode spektrofotometri. Keuntungan dari cara ini adalah keakuratan yang tinggi dan relatif sederhana, murah dan aman.

### 1. Metode Biuret

**Reagen Biuret:** larutkan 1,5 g tembaga sulfat [ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ] dan 6 g Na-K Tartrat dalam 500 mL  $\text{H}_2\text{O}$ . Tambahkan 300 mL larutan 10% NaOH, dan selanjutnya tambahkan  $\text{H}_2\text{O}$  hingga volume 1 liter. Simpan reagen Biuret dalam botol gelap atau disimpan pada tempat yang gelap. Untuk keperluan jangka waktu lama, tambahkan 1 g KI untuk menghambat reduksi tembaga.

### Prosedur:

- 1) Buatlah satu set larutan standar BSA dengan kisaran konsentrasi antara 20 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Buatlah perhitungan konsentrasi dengan total volume akhir adalah 5 mL.
- 2) Siapkan sampel protein anda (bila konsentrasinya tinggi, dapat diencerkan dengan penambahan air, namun tetap memperhitungkan faktor pengenceran).

- 3) Ke dalam 0,5 mL sampel protein dan 0,5 mL protein standar, tambahkan masing-masing 2,5 mL reagen Biuret. Biarkan tabung-tabung tersebut selama 30 menit pada suhu ruang. Sampel dan standar harus dibuat dalam waktu yang bersamaan.
- 4) Ukurlah absorbansi standar dan sampel pada 550 nm. Blanko untuk instrumen adalah 0,5 mL buffer atau air yang ditambahkan 2,5 mL reagen Biuret.
- 5) Tentukan konsentrasi protein dari sampel anda dengan menggunakan kurva standar.

## 2. Metode Bradford

**Reagen Bradford:** larutkan dengan menggunakan magnetik stirer 100 mg *Coomasie Brilliant Blue G-250* (CBB 250) dalam 50 mL larutan etanol 96%. Selanjutnya, larutan ini tambahkan dengan 100 mL larutan asam fosfat 85% (pekat), encerkan dengan air hingga volume 1 liter dan saring. Simpan reagen Bradford dalam botol gelap.

### Prosedur:

- 1) Buatlah satu set larutan standar BSA dengan kisaran konsentrasi antara 10 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Buatlah perhitungan konsentrasi dengan total volume akhir adalah 5 mL.
- 2) Siapkan sampel protein anda (bila konsentrasinya tinggi, dapat diencerkan dengan penambahan air, namun tetap memperhitungkan faktor pengenceran).
- 3) Ke dalam 0,1 mL sampel protein dan 0,1 mL protein standar, tambahkan masing-masing 2,5 mL reagen Bradford. Kocok dan biarkan tabung-tabung tersebut selama 5-10 menit pada suhu ruang. Sampel dan standar harus dibuat dalam waktu yang bersamaan.
- 4) Ukurlah absorbansi standar dan sampel pada 595 nm. Blanko untuk instrumen adalah 0,1 mL buffer atau air yang ditambahkan 2,5 mL reagen Bradford.
- 5) Tentukan konsentrasi protein dari sampel anda dengan menggunakan kurva standar.

## Pertanyaan

1. Mengapa dipeptida tidak dapat memberikan hasil positif untuk uji biuret?
2. Apakah semua asam amino dapat memberikan reaksi positif dengan uji ninhidrin?
3. Mengapa korban keracunan logam berat sering diberikan susu sebagai bentuk pertolongan pertama?
4. Pada percobaan B.2, mengapa pada penambahan 1% asam asetat menyebabkan protein mengendap namun pada penambahan 10% asam asetat tidak terjadi pengendapan?
5. Ikatan atau interaksi apa saja yang hilang sebagai akibat dari denaturasi protein?

## LEMBARAN DATA

### A. Reaksi Khas/Warna Asam Amino dan Protein

	Jenis Reaksi Warna	Hasil Pengamatan
1.	Reaksi Biuret	
2.	Reaksi Ninhidrin	
3.	Reaksi Milon	
4.	Reaksi Fohl	
5.	Reaksi Xanthoprotein	
6.	Reaksi Sakaguchi	

### B. Pengendapan Protein

#### 1. Dengan Pemanasan

No.	Perlakuan	Hasil Pengamatan
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		

#### 2. Dengan alkohol

### C. Penentuan Konsentrasi Protein (data absorbansi)

Metode Biuret (550 nm)		Metode Bradford (595 nm)	
Blanko		Blanko	
Standar 1		Standar 1	
Standar 2		Standar 2	
Standar 3		Standar 3	
Standar 4		Standar 4	
Standar 5		Standar 5	
Standar 6		Standar 6	
Standar 7		Standar 7	
Sampel 1		Sampel 1	
Sampel 2		Sampel 2	
Sampel 3		Sampel 3	



## Percobaan 3

### ENZIM

#### TUJUAN:

1. Mengetahui faktor-faktor yang mempengaruhi aktifitas enzim
2. Memahami pengaruh pH dan temperature terhadap aktifitas enzim amilase.

#### DASAR TEORI:

Enzim merupakan biokatalis. Enzim meningkatkan kecepatan reaksi dengan cara menyediakan jalur reaksi alternatif yang memerlukan sedikit energi. Bila dibandingkan dengan katalis inorganik, kebanyakan enzim bekerja pada kisaran temperatur moderat.

Pada awalnya, dianggap bahwa semua enzim adalah protein, namun penemuan terakhir menunjukkan bahwa **ribozim** juga bertindak sebagai biokatalis. Ribozim adalah molekul asam ribonukleat (RNA) yang mengkatalis reaksi pada ikatan fosfodiester dari RNA lainnya.

Enzim diklasifikasikan dalam 6 kelas berdasarkan jenis reaksi yang dikatalis.

1. **Oksidoreduktase.** Enzim yang mengkatalis perpindahan atom hidrogen atau oksigen atau elektron. Contohnya; dehidrogenase, oksigenase, peroksidase, dll.
2. **Transferase.** Enzim yang mengkatalis perpindahan gugus fungsi tertentu dari satu molekul ke molekul lain. Contohnya; transkarboksilase, transaminase, transmetilase, dll.
3. **Hidrolase.** Enzim yang mengkatalis reaksi (hidrolisis) dimana pemutusan ikatan melibatkan penambahan molekul air. Contohnya; esterase, fosfatase, peptidase, dll.
4. **Liase.** Enzim yang mengkatalis reaksi (selain hidrolisis) dimana gugus (seperti  $H_2O$ ,  $CO_2$  dan  $NH_3$ ) dihilangkan dan membentuk ikatan rangkap atau ditambahkan ke ikatan rangkap. Contohnya; dekarboksilase, dehidratase, deaminase, dll.
5. **Isomerase.** Enzim yang mengkatalis beberapa tipe reaksi yang terjadi dalam proses penataan intramolekul. Contohnya; mutase, epimerase, dll.
6. **Ligase.** Enzim yang mengkatalis pembentukan ikatan antara two molekul substrat. Contohnya; sintetase, karboksilase, dll.

Aktifitas enzim sangat ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain; pH dan Temperatur.

1. **pH.** Enzim sangat sensitif terhadap perubahan pH dan berfungsi dengan baik dalam kisaran sempit pada pH optimum. Pengaruh dari pH adalah karena perubahan-perubahan keadaan ionik pada residu-residu asam amino dari enzim (pada sisi aktif) dan pada molekul substrat. Perubahan ini dapat mempengaruhi pengikatan substrat dan kecepatan reaksi. Perubahan pH yang drastic/ekstrim dapat menyebabkan denaturasi atau kehilangan fungsi biologis.

2. **Temperatur.** Semua reaksi kimia dipengaruhi oleh temperatur. Kecepatan reaksi meningkat karena banyak molekul memiliki energi yang cukup untuk memasuki keadaan transisi. Kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim juga meningkat seiring dengan meningkatnya suhu. Namun, kenaikan temperatur juga meningkatkan kecepatan denaturasi enzim. Setiap enzim memiliki temperatur optimum. Karena enzim juga merupakan protein, nilai temperatur optimum bergantung pada pH dan kekuatan ionik. Temperatur optimum suatu enzim bergantung pada temperatur dimana organisme itu berada. Contohnya; temperatur optimum untuk enzim-enzim hewan/manusia berada pada kisaran 37°C, sedangkan organisme yang hidup pada daerah bertemperatur tinggi (sumber air panas atau kawah gunung berapi) mempunyai temperatur optimum di atas 50°C.

## ALAT DAN BAHAN

Alat	Bahan
Tabung reaksi	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,2 M
Mikropipet	Asam sitrat 0,1 M
Wadah air es	Larutan Pati 5%
inkubator	Larutan Iodium
	Amilase atau Ekstrak pankreas ayam
	Air es

### A. Pengaruh pH terhadap Aktifitas Enzim Amilase Pankreas

#### Prosedur:

- 1) Siapkan 8 tabung reaksi dan masukkan volume larutan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 M dan asam sitrat 0,1 M seperti ditunjukkan pada tabel.
- 2) Tambahkan 5 mL larutan pati 5% dan kemudian 100µL ekstrak pankreas (gunakan mikropipet). Penambahan ekstrak pankreas harus pada interval waktu yang sama antara tabung pertama hingga tabung terakhir.
- 3) Biarkan tabung selama 5-10 menit pada suhu ruang.
- 4) Evaluasi: ambil beberapa tetes campuran pada tabung 5 dan masukkan pada tabung bersih dan tambahkan 1-2 tetes larutan iodium. Warna biru menunjukkan hidrolisis enzimatik belum sempurna. Lakukan evaluasi hingga menghasilkan warna kuning terang sebelum melakukan langkah berikut.
- 5) Tambahkan 2-3 tetes larutan iodium pada masing masing tabung (sesuaikan interval waktu pada penambahan ekstrak pankreas) dan kocok. Amati tabung mana yang menghasilkan hidrolisis pati secara sempurna.

### B. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim amilase

#### Prosedur:

- 1) Siapkan 6 tabung reaksi dan masukkan larutan buffer berdasarkan nomor tabung dengan hasil terbaik pada percobaan A (pH optimum).
- 2) Tempatkan tabung reaksi dalam air es.

- 3) Tambahkan masing-masing 5 mL larutan pati 5% dan kemudian 100 $\mu$ L ekstrak pankreas (gunakan mikropipet).
- 4) Tempatkan tabung berdasarkan tabel.
- 5) Tambahkan 2-3 tetes larutan iodium pada setiap tabung dan kocok.
- 6) Amati tabung mana yang menghasilkan hidrolisis pati secara sempurna.

### **PERTANYAAN**

1. Jelaskan mengapa enzim sangat sensitif terhadap perubahan pH.
2. Jelaskan mengapa mikroorganisme tertentu dapat hidup pada lingkungan bertemperatur tinggi.

## LEMBARAN DATA

### A. Pengaruh pH

No Tabung.	Larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0.2% (mL)	Larutan asam sitrat 0.1M (mL)	pH	Pengamatan
1	1.29	1.21	5.0	
2	1.51	0.99	5.6	
3	1.65	0.85	6.2	
4	1.82	0.68	6.6	
5	1.93	0.57	6.8	
6	2.06	0.44	7.0	
7	2.27	0.23	7.4	
8	2.53	0.07	8.0	

### B. Pengaruh Temperatur

No Tabung.	Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	Pengamatan
1	4.0	
2	25	
3	35	
4	40	
5	50	
6	60	



## Percobaan 4

# KARBOHIDRAT

### TUJUAN:

1. Mengenal beberapa reaksi khas/warna dari karbohidrat
2. Mampu membedakan jenis karbohidrat berdasarkan uji khasnya.
3. Mampu melakukan analisa karbohidrat dengan reaksi-reaksi khas.

### DASAR TEORI:

Karbohidrat merupakan senyawa organik terbanyak di alam dan lebih setengah dari semua karbon organik terdapat dalam karbohidrat. Kebanyakan dari senyawa-senyawa ini mengandung karbon, hidrogen, dan oksigen. Struktur umumnya adalah  $(\text{HCOH})_n$ , yang juga dapat ditulis  $(\text{C}\cdot\text{H}_2\text{O})_n$  atau  $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_n$ . Oleh karena itu dinamakan *karbo* (C) - *hidrat/air* ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Karbohidrat adalah aldehida atau keton dari alkohol polihidrat atau komponen yang menghasilkan derivat/turunan ini setelah hidrolisis. Dengan kata lain, polisakarida merupakan polihidroksi aldehida (aldosa) atau polihidroksi keton (ketosa).

Karbohidrat diklasifikasikan sebagai monosakarida, disakarida, oligosakarida, dan polisakarida (menurut jumlah unit gula sederhana yang dikandung). Monosakarida adalah karbohidrat yang paling sederhana dan merupakan komponen dari disakarida, oligosakarida dan polisakarida.

Karena karbohidrat (monosakarida) memiliki gugus karbonil pada ujung dari struktur molekulnya, senyawa ini memiliki sifat sebagai senyawa pereduksi. Oleh karena itu monosakarida atau gula sederhana disebut juga sebagai gula pereduksi (reducing sugar), yaitu mampu mereduksi ion tembaga ( $\text{Cu}^{2+}$ ) menjadi  $\text{Cu}^+$  ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ). Disakarida yang memiliki ujung pereduksi juga merupakan gula pereduksi.

Karbohidrat sangat penting bagi makhluk hidup karena merupakan sumber energi dan unsur penyusun struktur. Berdasarkan kebiasaan konsumsi, 50-90% karbohidrat yang dikonsumsi berasal dari biji-bijian, umbi-umbian, sayuran dan kacang-kacangan. Meskipun kegunaan utama karbohidrat adalah sebagai sumber energi, hanya sebagian kecil yang dapat disimpan dalam tubuh. Rata-rata orang dewasa mampu menyimpan sekitar 370 gram karbohidrat dalam bentuk glikogen di hati dan otot. Oleh karena 1 gram karbohidrat hanya menyediakan 4 kalori, cadangan karbohidrat dalam tubuh secara total hanya dapat memberikan 1480 kalori atau setara dengan setengah dari kebutuhan kalori harian.

Jika jumlah kalori yang dikonsumsi melebihi kebutuhan harian, maka kelebihannya akan dikonversi menjadi lemak dan disimpan di jaringan adiposa.

## ALAT DAN BAHAN

### Alat

Tabung reaksi  
Mikropipet  
Wadah air es  
inkubator

### Bahan

Larutan karbohidrat  
Pereaksi Molisch  
Pereaksi Benedict  
Pereaksi Barfoed  
Pereaksi Bial  
Pereaksi Seliwanoff  
HCl pekat  
Larutan iodium  
Asam asetat 1%  
Etanol  
Amilase/Ekstrak pankreas

## A. Reaksi-Reaksi Khas Karbohidrat

### 1. Reaksi Molisch

Reaksi atau uji Molisch merupakan uji umum bagi karbohidrat.

**Pereaksi Molisch:** 10 g  $\alpha$ -naftol dilarutkan dalam 100 mL alkohol 96%

#### Prosedur:

- 1) Masukkan 1 mL larutan karbohidrat (sampel) ke dalam masing masing tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 2-3 tetes larutan  $\alpha$ -naftol (pereaksi Molisch) dan kocok.
- 3) Sedikit miringkan tabung reaksi ( $30-45^\circ$  terhadap bidang datar/meja), dengan perlahan-lahan (tetes demi tetes) dan hati-hati tambahkan 3 mL larutan asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi.
- 4) Amati perubahan yang terjadi. Cincin ungu antara dua permukaan larutan sampel dan asam sulfat menandakan adanya karbohidrat.

### 2. Reaksi Benedict

Reaksi Benedict merupakan uji untuk gula-gula pereduksi.

**Pereaksi Benedict:** 1,73 g  $\text{CuSO}_4$ , 17,3 natrium sitrat dan 10 g natrium karbonat dilarutkan dalam 85 mL air. Tambahkan air hingga volume 100 mL.

#### Prosedur:

- 1) Masukkan 2 mL larutan karbohidrat 1% ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 3 mL pereaksi Benedict dan kocok.
- 3) Tempatkan tabung reaksi dalam air mendidih.
- 4) Amati perubahan yang terjadi.

### 3. Reaksi Barfoed

Reaksi Barfoed merupakan uji untuk membedakan monosakarida dari disakarida. Warna merah bata setelah pemanasan 5 menit menunjukkan adanya monosakarida.

**Pereaksi Barfoed:** 6,65 g kristal tembaga asetat [ $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ] dilarutkan dalam 80 mL air dan ditambahkan dengan 0,6 mL asam asetat glacial. Tambahkan air hingga 100 mL.

**Prosedur:**

- 1) Masukkan 6 mL pereaksi Barfoed ke dalam tabung reaksi (jumlah tabung reaksi disesuaikan dengan jumlah sampel karbohidrat yang tersedia).
- 2) Tambahkan 5 mL larutan sampel dan kocok
- 3) Masukkan semua tabung reaksi ke dalam air mendidih selama 3 menit.
- 4) Amati perubahan yang terjadi.

**Catatan:** Pemanasan lebih dari 3 menit dapat menyebabkan terjadinya hidrolisis disakarida menjadi monosakarida.

#### 4. Reaksi Bial

Reaksi Bial merupakan uji untuk membedakan gula-gula pentosa. Warna biru kehijauan menunjukkan adanya gula pentosa dalam sample.

**Pereaksi Bial:** larutkan 6 g orsinol dalam 200 mL etanol 95%. Kemudian tambahkan 40 tetes larutan  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  10%

**Prosedur:**

- 1) Masukkan 4 mL setiap larutan karbohidrat 1% ke dalam tabung reaksi terpisah.
- 2) Tambahkan 2 mL pereaksi Bial. Kemudian tambahkan 5 mL larutan HCl pekat ke setiap tabung.
- 3) Kocok dan tutup tabung kemudian panaskan dalam air mendidih selama 10 menit.
- 4) Amati perubahan yang terjadi. Uji positif untuk pentosa ditandai dengan munculnya warna hijau hingga biru tua dan untuk heksosa muncul warna coklat tua hingga abu-abu.

#### 5. Seliwanoff

Reaksi Seliwanoff merupakan uji untuk membedakan gula ketosa dari gula aldosa. Endapan merah tua merupakan indikasi adanya gula ketosa.

**Pereaksi Seliwanoff:** Larutkan 0,05 g resorsinol dalam 100 mL HCl encer; HCl pekat: $\text{H}_2\text{O}$ ; 1:2.

**Prosedur:**

- 1) Masukkan 2-3 tetes larutan karbohidrat 1% ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 5 mL larutan resorsinol.
- 3) Tempatkan tabung-tabung reaksi dalam air mendidih dengan posisi sejajar.
- 4) Amati dan catat perubahan warna setiap tabung setelah 1 menit dan setelah 4 menit.

## 6. Reaksi Iodium

Reaksi iodium merupakan uji untuk membedakan polisakarida dari disakarida dan monosakarida.

### **Prosedur:**

- 1) Masukkan larutan pati 1% ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 2-3 tetes larutan iodium.
- 3) Panaskan tabung reaksi dalam air mendidih.
- 4) Dinginkan kembali tabung reaksi dalam air dingin.
- 5) Amati dan catat setiap perubahan yang terjadi.

## B. Isolasi Glikogen dari Daging atau Hati

Glikogen merupakan karbohidrat cadangan pada hewan, mirip dengan amilopektin (pati) pada tumbuhan. Glikogen lebih mudah larut dalam air dibandingkan pati tanaman. Glikogen mudah diendapkan dengan penambahan etanol.

### **Prosedur:**

- 1) Timbang 1-2 gram hati/daging (ayam) dan tempatkan dalam petridish.
- 2) Hancurkan/potong-potong jaringan hati dengan menggunakan gunting hingga hancur.
- 3) Tambahkan 4 mL air mendidih dan campurkan/aduk dengan batang pengaduk.
- 4) Pindahkan campuran ke dalam tabung reaksi dan panaskan di atas pembakar spritus selama 2 menit untuk mengendapkan protein.
- 5) Pindahkan campuran ke dalam mortar dan giling hingga tidak ada gumpalan.
- 6) Tambahkan 1 mL air dan pindahkan ke dalam tabung reaksi.
- 7) Panaskan tabung reaksi dalam air panas selama 30 menit. Gunakan kelereng sebagai penutup tabung reaksi untuk menghindari campuran menjadi kering selama pemanasan.
- 8) Tambahkan 10 tetes larutan asam asetat 1% untuk meningkatkan pengendapan protein.
- 9) Saring campuran dan ambil filtrat.
- 10) Bagikan filtrat ke dalam 3 tabung reaksi dan beri label 1,2 dan 3 untuk pengujian lanjutan.
  - a. tabung 1. Pengendapan glikogen oleh etanol: tambahkan beberapa tetes etanol ke dalam larutan glikogen. Amati perubahan yang terjadi.
  - b. Tabung 2. uji iodium: tambahkan beberapa tetes iodium. Warna merah menunjukkan adanya glikogen.
  - c. Tabung 3. Hidrolisis glikogen oleh enzim amilase pankreas. Tambahkan 100  $\mu$ L ekstrak pankreas. Biarkan 5-10 menit. Ambil 1 mL campuran dan tambahkan beberapa tetes iodium. Ulangi percobaan dengan uji Benedict.

## **PERTANYAAN**

1. Mengapa sukrosa bukan merupakan gula pereduksi?
2. Apa perbedaan antara glikogen dan pati?

## LEMBARAN DATA

### A. Reaksi Khas/Warna Karbohidrat

Karbohidrat	Molisch	Barfoed	Benedict	Bial	Seliwanoff
Glukosa					
Fruktosa					
Maltosa					
Sukrosa					
Laktosa					
Pati					
Sari/jus apel					
Air kelapa muda					
Nira mayang					

### B. Isolasi Glikogen dari Daging atau Hati



## Percobaan 5

### LIPIDA/LEMAK

#### TUJUAN:

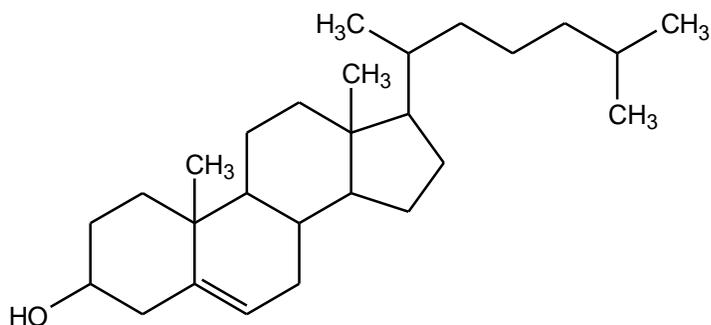
1. Mengetahui sifat-sifat fisik dan kimia lemak.
2. Memahami cara pembuatan sabun secara sederhana.
3. Mampu membedakan sabun dan detergen dari sifat kimia mereka.

#### DASAR TEORI:

Istilah „lipida“ dipakai untuk senyawa berlemak, berminyak dan berlipid dalam sel. Lipida tidak larut dalam air tetapi dengan mudah dapat dilarutkan dalam pelarut organik (*non polar*) seperti kloroform, eter atau benzena. Lemak dan trigliserida (triasilgliserol, TAG) merupakan lipida umum. Mereka merupakan sumber penting energi dalam tubuh, karena metabolisme oksidatif lemak akan menghasilkan ATP dalam jumlah besar. Lipida yang lain merupakan komponen struktural utama dari membran, sebagai prekursor dari senyawa-senyawa esensial lain, sebagai insulator dll. Lipida diklasifikasikan menurut fungsi, lokalisasi dan struktur. Secara struktur, lipida diklasifikasikan sebagai senyawa yang mengandung asam lemak dan yang tidak mengandung asam lemak. Kelompok pertama ditandai dengan golongan lemak netral atau triasilgliserol, gliserolfosfolipida atau gliserolfosfatida, plasmogen, spingolipida, dsb.

Triasilgliserol (TAG) merupakan suatu ester asam lemak dengan gliserol. Dengan demikian, hidrolisis sempurna TAG menghasilkan asam lemak dan gliserol. Asam lemak bila direaksikan dengan suatu basa menghasilkan garam asam lemak (sabun).

Kolesterol merupakan sterol dari hewan dan adalah senyawa siklik dengan struktur kimianya sbb:



Meskipun kolesterol mempunyai kelarutan dalam air yang sangat kecil, kelarutannya dalam darah cukup tinggi karena adanya lipoprotein (plasma lipoprotein) yang mempunyai afinitas yang tinggi terhadap kolesterol. Komponen lipida menyebabkan rendahnya densitas lipoprotein bila dibandingkan dengan densitas albumin atau globulin.

Berdasarkan data ultrasentrifugasi (metode pemisahan lipoprotein), lipoprotein dibagi atas 5 (lima) bentuk densitas (g/mL):

1. Siklomikron (<96)
2. Lipoprotein densitas sangat rendah atau VLDL (<1,006)
3. Lipoprotein densitas sedang atau IDL (1,006 – 1,019)

4. Lipoprotein densitas rendah, LDL (1,019 – 1,063)

5. Lipoprotein densitas tinggi, HDL (1,063 – 1,210)

Kolesterol memegang peranan penting bagi makhluk hidup sebagai:

1. suatu komponen dari membrane sel. Kolesterol membuat membrane menjadi lebih kompak, khususnya pada sel otak dan saraf.
2. prekursor berbagai hormon steroid, seperti progesterone, testosterone, estradiol dan stigmasterol.
3. prekursor asam-asam empedu.

## ALAT DAN BAHAN

### Alat

Gelas kimia 250 mL  
arloji  
es  
saring  
HCl 0,05 N

### Bahan

NaOH 6N  
Gelas  
Minyak goreng  
Wadah air  
Larutan NaCl pekat  
Kertas  
Deterjen cair  
Centrifuge  
  
NaCl 0,02 M  
CaCl<sub>2</sub> 0,02 N  
Minyak tanah  
Isopropanol  
Asam asetat gasial  
FeCl<sub>3</sub>  
Asam sulfat pekat  
Asam asetat anhidrida

## A. Reaksi Penyabunan (Saponifikasi)

### Prosedur:

- 1) Masukkan 10 mL etanol dalam gelas kimia ukuran 250 mL.
- 2) Tambahkan 15 mL NaOH 6N.
- 3) Tambahkan 15 mL minyak kelapa/sawit dan aduk.
- 4) Tambahkan 3-4 potong batu didih dan tutup gelas kimia dengan gelas arloji.
- 5) Panaskan campuran dengan nyala api kecil sambil diaduk. Lakukan pemanasan dan pengadukan selama 15 menit hingga campuran menjadi kental.
- 6) Dinginkan campuran.
- 7) Tambahkan 50 mL larutan NaCl jenuh sambil diaduk.
- 8) Saring produk yang dihasilkan
- 9) Cuci produk (sabun) dengan 15 mL air es. Lakukan pencucian 2 kali.
- 10) Keringkan dan bandingkan dengan produk sabun komersil.

## B. Membandingkan Sabun dan Detergen

Larutkan sedikit sabun (produk di atas) dalam 30 mL air hangat. Lakukan hal yang sama dengan detergen.

**Prosedur:**

**1. Reaksi dengan Asam**

- 1) Masukkan masing-masing 5 mL sample dalam dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 10 mL HCl 0,05 N
- 3) Kocok dan amati.

**2. Reaksi dengan air “lunak” dan air “keras” (air sadah).**

- 1) Masukkan 5 mL larutan NaCl 0,02 M (air lunak) ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 10-15 tetes sampel.
- 3) Ulangi percobaan dengan larutan CaCl<sub>2</sub> 0,02 N (air keras/sadah).

**3. Pengemulsian**

- 1) Masukkan 10 tetes minyak tanah ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 5 mL sampel.
- 3) Kocok tabung reaksi selama 3 menit.
- 4) Biarkan diam selama 5 menit.
- 5) Amati perubahan yang terjadi.
- 6) Ulangi percobaan dengan menggantikan minyak tanah dengan air.

**C. Reaksi Khas Kolesterol**

**Prosedur:**

- 1) Masukkan 5 tetes/gram sampel ke dalam tabung reaksi.
- 2) Tambahkan 5 mL isopropanol.
- 3) Kocok dan sentrifuse.

- **Uji Slatky-Sax**

- (a) Ambil 1 mL supernatan dan masukkan dalam tabung reaksi.
- (b) Tambahkan 1 mL asam asetat glacial dan kocok
- (c) Tambahkan 3 mL pereaksi FeCl<sub>3</sub>.
- (d) Biarkan selama 3-5 menit.
- (e) Amati warna yang terbentuk.

- **Uji Huppert-Salkowsky**

- (a) Ambil 1 mL supernatant dan masukkan ke dalam tabung reaksi.
- (b) Tambahkan 1 mL asam sulfat pekat dan kocok dengan hati-hati.
- (c) Amati perubahan warna pada kedua lapisan campuran.

- **Uji Liebermann-Burchard**

- (a) Ambil 1 mL supernatant dan masukkan ke dalam tabung reaksi.
- (b) Tambahkan 10 tetes asam asetat anhidrida dan kocok. Hati-hati dalam pengocokan. Jauhkan dari mata.
- (c) Tambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat.
- (d) Amati perubahan yang terjadi.

## **PERTANYAAN**

1. Apa perbedaan sabun “lunak” dan sabun “keras”?
2. Apa fungsi etanol dalam reaksi penyabunan?
3. Mengapa membilas tangan bersabun dengan air hujan terasa sangat licin?
4. Apa perbedaan sabun dan detergen?





## REFERENSI

1. Elliot, W.H and D.C. Elliot (1997) Biochemistry and Molecular Biology. Oxford University Press. Oxford.
2. Holme, D.J. and H. Peck (1998) Analytical Biochemistry. 3<sup>rd</sup> edition. Longman. Singapore.
3. Jeffers, J, (2000) Preparing Ethanol by Fermentation. Chemical Education Resources. Pennsylvania.
4. McKee, T. and J. McKee (1999) Biochemistry: An Introduction. WCB McGraw-Hill Companies. Boston.
5. Nimfa, A.J, D.P. Ballou and M. Benore (2009) Fundamental Laboratory Approaches for Biochemistry and Bioteknologi. 2<sup>nd</sup> edition. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey
6. Rosenberg, I.M. (1996) Protein Analysis and Purification: Benchtop Techniques. Birkhauser. Boston.
7. Stryer, L. (1997) Biochemistry. 4<sup>th</sup> Edition. W.H. Freeman and Company, New York.