

Pedoman Praktikum

BIOKIMIA



(BIO 203)



Oleh:

**Nur Annis Hidayati, S.Si.
Idha Susanti, M.Si.**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
Universitas Bangka Belitung
Fakultas Pertanian, Perikanan dan Biologi**

2007

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi ALLAH Yang Maha Pengasih dan Penyayang, yang menciptakan ilmu, kehendak, dan harapan. Atas perkenan-Nyalah Buku PEDOMAN PRAKTIKUM BIOKIMIA (BIO 203) ini dapat disusun dan diterbitkan sebagaimana mestinya. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurah bagi Rasul-Nya.

Buku Pedoman Praktikum ini disusun secara ringkas, padat, dan sistematis sehingga diharapkan mudah dipahami dan dapat digunakan untuk memandu pelaksanaan praktikum mahasiswa. Setiap bab dalam Pedoman Praktikum ini didahului tinjauan pustaka secara singkat untuk memberi gambaran materi yang dipraktikumkan. Namun karena keterbatasan yang ada, diharapkan para mahasiswa dapat belajar secara mandiri melalui literatur-literatur lain.

Buku ini disusun berdasarkan pustaka-pustaka yang umum digunakan dalam praktikum biokimia, disamping itu mengacu pula pada buku-buku manual praktikum biokimia di Perguruan Tinggi lain. Dengan tersusunnya buku ini Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak.

Sebagai sebuah karya manusia, buku ini tentu mengandung kekurangan, meskipun telah diusahakan secara hati-hati untuk menghindarinya. Untuk itu Penulis mengharapkan kritik dan masukan dari para dosen, mahasiswa, dan pihak-pihak lain yang *concern* terhadap kemajuan penelitian dan pengajaran ilmu biokimia untuk perbaikan di masa mendatang. Secara khusus buku ini dipersembahkan kepada para mahasiswa Program Studi Biologi Fakultas Pertanian, Perikanan, dan Biologi Universitas Bangka Belitung.

Sunggailiat, 24 Oktober 2007

Tim Penyusun

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Kata Pengantar	ii
Daftar Isi	iii
Tata Tertib Praktikum	v
ACARA I. KARBOHIDRAT.....	1
1. Uji Molisch.....	5
2. Uji Benedict.....	6
3. Uji Asam Musat.....	7
4. Uji Barfoed.....	8
5. Uji Yodium.....	9
6. Hidrolisis Pati.....	10
7. Penentuan Kadar Glukosa Secara Yodimetri.....	12
ACARA II. LIPIDA.....	13
1. Uji Kelarutan Lipida.....	17
2. Uji Keasaman Minyak.....	18
3. Uji Liebermann-Burchard.....	19
4. Reaksi Penyabunan dan Sifat-Sifat Asam Lemak.....	20
5. Penentuan Kadar Lemak Susu.....	21
6. Penetapan Angka Penyabunan.....	22
ACARA III. PROTEIN.....	23
1. Uji Kelarutan Protein.....	26
2. Uji Biuret.....	27
3. Uji Susunan Elementer Protein.....	28
4. Uji Ninhidrin.....	30
5. Uji Hopkins-Cole.....	31
6. Uji Santoprotein.....	32
7. Uji Pengendapan Protein dengan Logam dan Asam Organik.....	33
8. Uji Pengendapan Protein dengan Larutan Garam Pekat.....	34
9. Pemisahan Protein dengan Etanol Absolut.....	36
ACARA IV. VITAMIN.....	37
1. Uji Vitamin C.....	37
A. Uji Benedict.....	37
B. Oksidasi Senyawa Fenol.....	38
2. Uji Vitamin A (Reagen Carr-Price).....	38
3. Uji Vitamin D (Reagen Carr-Price).....	39
ACARA V. PENCERNAAN.....	41
Pencernaan oleh Empedu.....	41
1. Uji Hay (Penurunan Tegangan Muka).....	41
2. Uji Gmelin (Pigmen-Pigmen Empedu).....	42
ACARA VI. AIR SUSU.....	43
Sifat Umum Air Susu.....	43
1. Pengamatan Butir-Butir Lemak.....	43
2. Pengukuran pH.....	44

Kasein dalam Air Susu.....	44
1. Pengendapan Kasein.....	44
2. Uji Sifat Pengendapan Kasein.....	45
ACARA VII. ENZIM.....	46
1. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim.....	47
2. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim.....	48
3. Pemecahan Urea oleh Urease.....	49
ACARA VIII. URINE.....	51
1. Glukosa dalam Urine.....	52
2. Protein dalam Urine.....	53
2. 1. Uji Heller.....	53
2. 2. Uji Rebus.....	54
3. Pigmen Empedu dalam Urine (Uji Gmelin).....	54
4. Asam Urat dalam Urine (Uji Benedict).....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56

TATA TERTIB PRAKTIKUM

- A. Umum : 1. Setiap praktikan diwajibkan mengikuti semua acara praktikum. Jika berhalangan hadir diwajibkan mengikuti prosedur perijinan yang berlaku di Universitas Bangka Belitung.
2. Jika praktikan dengan sangat terpaksa tidak dapat mengikuti satu atau sebagian mata acara praktikum, praktikan wajib melaporkan kepada Pembimbing Praktikum untuk mendapatkan waktu pengganti atau tugas pengganti yang akan diberikan oleh asisten praktikum.
- B. Ketertiban Alat : 1. Setiap praktikan dimohon bekerja hati-hati.
2. Kerusakan atau kehilangan akibat kecerobohan praktikan menjadi tanggungjawab yang bersangkutan atau regu yang bersangkutan dengan pilihan mengganti alat yang sama (fungsi dan kualitasnya) atau bentuk uang. Laporan disampaikan pada hari kejadian dan diselesaikan paling lambat dalam waktu satu bulan setelah kejadian.
3. Pembimbing praktikum wajib mengecek keutuhan dan kelengkapan alat yang digunakan sesuai praktikum.
4. Ketidakteraturan administrasi dan / atau penggantian alat yang rusak atau pecah menyebabkan nilai praktikum ditunda.
- C. Petunjuk Umum Keselamatan : 1. Praktikan wajib mengenakan jas laboratorium dan alas kaki atau sepatu yang tertutup selama praktikum berjalan.
2. Rambut panjang harus diikat rapi ke belakang, tidak boleh tergerai.
3. Praktikan dilarang keras merokok, makan, dan minum di dalam laboratorium.
4. Semua pekerjaan dan penggunaan bahan-bahan kimia berbahaya dengan uap beracun atau merangsang harus dilakukan di dalam lemari asam.
5. Hati-hati dengan semua pekerjaan pemanasan. Hindari percikan cairan atau terhisapnya uap selama bekerja.
6. Jauhkan semua senyawa organik yang mudah menguap seperti alkohol, eter, kloroform, aseton, dan spirtus dari api secara terbuka karena bahan-bahan demikian mudah terbakar. Sebaiknya, gunakan pemanasan dengan

waterbath.

7. Bila pemanasan menggunakan api terbuka, nyalakan lampu pembakar spirtus dengan korek api biasa. Jangan menyalakan lampu spirtus dengan lampu spirtus lain yang sudah menyala untuk menghindari letupan api.
8. Matikan api pada lampu spirtus dengan menutup sumbunya. Jangan mematikan api dengan meniup untuk mencegah terjadinya kebakaran atau letupan api.
9. Jangan mencoba mencicipi bahan kimia atau mencium langsung asap atau uap dari mulut tabung.
10. Jangan sekali-kali menghisap pipet melalui mulut untuk mengambil larutan asam atau basa kuat seperti HNO_3 , HCl , H_2SO_4 , Asam asetat glasial, NaOH , NH_4OH , dan lain-lain. Gunakan pipet dengan bola penghisap untuk memindahkan bahan-bahan demikian atau bahan beracun lainnya ke dalam alat yang akan digunakan.
11. Segera tutup kembali bahan kimia yang disediakan dalam botol tertutup untuk mencegah terjadinya inhalasi bahan-bahan.
12. Bila terjadi kontak dengan bahan-bahan kimia berbahaya, korosif, atau beracun, segera bilas dengan air sebanyak-banyaknya dan segera laporkan kepada dosen atau asisten.
13. Jangan menggosok-gosok mata atau anggota badan lain dengan tangan yang mungkin sudah terkontaminasi bahan kimia.
14. Berhati-hatilah bila bekerja dengan bahan uji yang berasal dari bahan biologis, seperti saliva, karena mungkin dapat terinfeksi kuman atau virus berbahaya.
15. Buanglah cairan atau larutan yang telah selesai digunakan untuk percobaan melalui bak pencuci. Selanjutnya bilas dengan air sebanyak-banyaknya. Sampah dibuang pada tempatnya dan tidak membuang sampah dan tissue di tempat pencucian (*sink*).
16. Selesai praktikum, tinggalkan meja dan alat kerja dalam keadaan bersih dan rapi.

D. Pelaksanaan : 1. Praktikan diwajibkan menjaga ketenangan, kebersihan, dan kesopanan
Praktikum selama praktikum. Hal-hal lain mengacu pada peraturan Universitas
Bangka Belitung.

2. Selama praktikum, hand phone diatur pada *mode silent*.
3. Pada awal praktikum diadakan *pre-test* selama 10 menit sesuai dengan materi yang akan diberikan pada hari itu.
4. Pada beberapa acara, praktikan diminta mempersiapkan sendiri sebagian bahannya.
5. Hal-hal lain yang belum tercantum dalam tata tertib ini akan diatur kemudian.

- E. Nilai Praktikum :
1. Bobot nilai praktikum pada total sks kuliah 3 (2-1) adalah 33,33% dari total mata kuliah.
 2. Nilai praktikum 100% terdiri atas :
 - 2.1. Laporan – 25%
 - 2.2. Praktikum – 15%
 - 2.3. Kehadiran(H) – 10%
 - 2.4. Nilai Pre-Test(U) – 15%
 - 2.5. Ujian Akhir(N) – 35%
 3. Praktikan yang tidak mengumpulkan Laporan mendapat nilai NOL untuk mata praktikum tersebut.

- F. Laporan Praktikum :
1. Laporan Praktikum dikumpulkan paling lambat satu minggu setelah praktikum kepada Pembimbing Praktikum.
 2. Laporan Praktikum ditulis oleh setiap praktikan sekalipun pada beberapa acara, materi praktikum dilakukan per kelompok.
 3. Laporan Praktikum ditulis tangan di atas kertas A-4 (bukan folio atau F-4)
 4. Sistematika Laporan Praktikum sebagai berikut :
 - 4.1. Judul Praktikum
 - 4.2. Tujuan
 - 4.3. Tinjauan Pustaka
 - 4.4. Metode
 - Alat dan Bahan
 - Cara Kerja
 - 4.5. Hasil dan Pembahasan (gambar, tabel, uraian, dan analisis lain)
 - 4.6. Kesimpulan
 - 4.7. Daftar Pustaka

KARBOHIDRAT

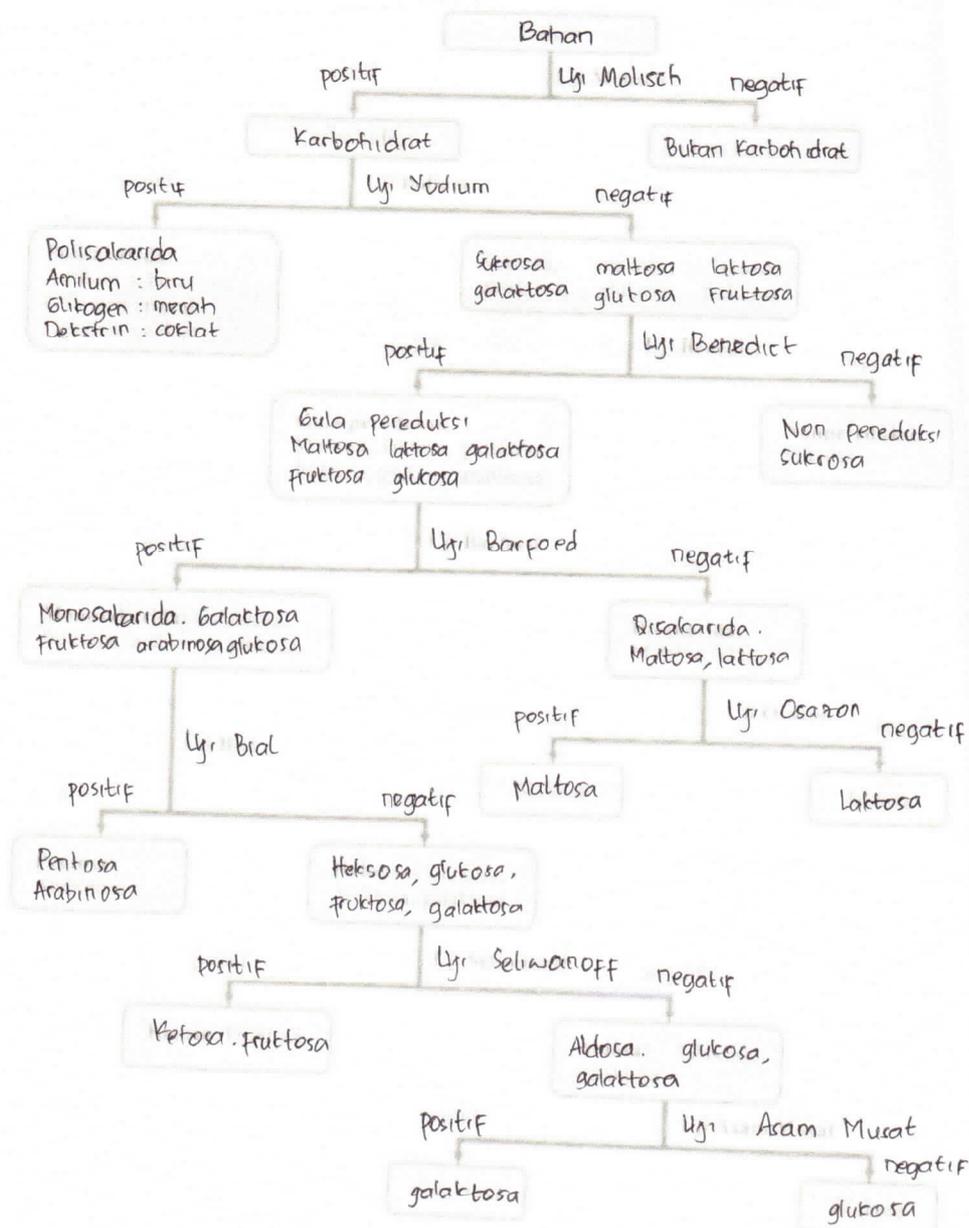
Karbohidrat merupakan senyawa karbon yang banyak dijumpai di alam, terutama sebagai penyusun utama jaringan tumbuh-tumbuhan. Nama lain karbohidrat adalah sakarida (berasal dari bahasa latin *saccharum* = gula). Senyawa karbohidrat adalah polihidroksi aldehida atau polihidroksi keton dengan rumus empiris total $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Karbohidrat paling sederhana adalah monosakarida, di antaranya glukosa yang mempunyai rumus molekul $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.

Pada tumbuhan, karbohidrat disintesis dari CO_2 dan H_2O melalui proses fotosintesis dalam sel berklorofil dengan bantuan sinar matahari. Karbohidrat yang dihasilkan merupakan cadangan makanan yang disimpan dalam akar, batang, dan biji sebagai pati (amilum). Karbohidrat dalam tubuh manusia dan hewan dibentuk dari beberapa asam amino, gliserol, dan sebagian besar diperoleh dari makanan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Karbohidrat dalam sel tubuh disimpan dalam hati dan jaringan otot dalam bentuk glikogen.

Klasifikasi Karbohidrat

Berdasarkan monomer yang menyusunnya, karbohidrat dibedakan menjadi 3 golongan, yaitu:

1. Monosakarida: karbohidrat paling sederhana yang tidak dapat dihidrolisis menjadi karbohidrat lain. Bentuk ini dibedakan kembali menurut jumlah atom C yang dimiliki dan sebagai aldosa atau ketosa. Monosakarida yang terpenting adalah glukosa, galaktosa, dan fruktosa.
2. Oligosakarida: karbohidrat yang tersusun dari dua sampai sepuluh satuan monosakarida. Oligosakarida yang umum adalah disakarida, yang terdiri atas dua satuan monosakarida dan dapat dihidrolisis menjadi monosakarida. Contohnya adalah sukrosa, maltosa, dan laktosa.
3. Polisakarida: karbohidrat yang tersusun lebih dari sepuluh satuan monosakarida dan dapat berantai lurus atau bercabang. Polisakarida dapat dihidrolisis oleh asam atau enzim tertentu yang kerjanya spesifik. Hidrolisis sebagian polisakarida menghasilkan oligosakarida dan dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul polisakarida. Contohnya adalah amilum, glikogen, dan selulosa.



Gambar skema identifikasi karbohidrat secara kualitatif

Sifat-sifat Karbohidrat

Pada umumnya, karbohidrat berupa serbuk putih yang mempunyai sifat sukar larut dalam pelarut nonpolar, tetapi mudah larut dalam air. Kecuali, polisakarida bersifat tidak larut dalam air.

Amilum dengan air dingin akan membentuk suspensi dan bila dipanaskan akan terbentuk pembesaran berupa pasta dan bila didinginkan akan membentuk koloid yang kental semacam gel. Suspensi amilum akan memberikan warna biru dengan larutan yodium. Hal ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya amilum dalam suatu bahan. Hidrolisis sempurna amilum oleh asam atau enzim akan menghasilkan glukosa.

Glikogen mempunyai rumus empiris yang serupa dengan amilum pada tumbuhan. Pada proses hidrolisis, glikogen menghasilkan pula glukosa, karena baik amilum maupun glikogen tersusun dari sejumlah satuan glukosa. Glikogen dalam air akan membentuk koloid dan memberikan warna merah

dengan larutan yodium. Pembentukan glikogen dari glukosa dalam sel tubuh diatur oleh hormon insulin dan prosesnya disebut glikogenesis. Sebaliknya, proses hidrolisis glikogen menjadi glukosa disebut glikogenolisis.

Semua jenis karbohidrat, baik monosakarida, disakarida, maupun polisakarida, akan berwarna merah-ungu bila larutannya dicampur beberapa tetes larutan α -naftol dalam alkohol dan ditambahkan asam sulfat pekat, sehingga tidak bercampur. Warna ungu akan tampak pada bidang batas antara kedua cairan. Sifat ini dipakai sebagai dasar uji kualitatif adanya karbohidrat dalam suatu bahan dan dikenal sebagai uji Molisch.

Monosakarida dan disakarida memiliki rasa manis, sehingga sering disebut gula. Rasa manis dari gula disebabkan oleh gugus hidroksilnya. Kebanyakan monosakarida dan disakarida, kecuali sukrosa, adalah gula pereduksi. Sifat mereduksi disebabkan oleh adanya gugus aldehida atau keton bebas dalam molekulnya. Larutan gula bereaksi positif dengan pereaksi Fehling, pereaksi Tollens, maupun pereaksi Benedict. Sebaliknya, kebanyakan polisakarida adalah gula non pereduksi.

Sifat-sifat Reaksi Karbohidrat

1. Sifat Mereduksi

a. Uji Benedict dan Uji Fehling (dalam larutan alkali)

Gula dengan gugus karbonil bebas (aldehida dan keton), dalam larutan alkali berubah menjadi bentuk enol yang reaktif dan mudah mengalami oksidasi. Dalam hal ini, gula berfungsi sebagai pereduksi, sedang zat yang direduksi dapat berupa Cu, Bi, $\text{Fe}(\text{CN})_6$ dan lain-lain. Reagen yang sering digunakan berdasarkan prinsip dasar ini adalah larutan Benedict (berisi CuSO_4 , Na-sitrat dan Na_2CO_3) dan larutan Fehling (berisi CuSO_4 , K-Na-tartrat dan KOH). Na-sitrat dan K-Na-tartrat mencegah terbentuknya endapan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ atau Cu-karbonat. Alkali berguna untuk merubah gula menjadi bentuk enol yang reaktif dan dapat mereduksi Cu^{2+} dari senyawa kompleks dengan sitrat atau tartrat menjadi Cu^+ . Selanjutnya Cu^+ bersama OH membentuk CuOH yang berwarna kuning dan dengan pemanasan berubah menjadi Cu_2O yang berwarna merah.

b. Uji Barfoed (dalam larutan asam)

Uji ini berguna untuk membedakan monosakarida dan disakarida. Sebagaimana uji Benedict, uji ini didasarkan pada sifat mereduksi gula, namun pada percobaan ini reduksi juga terjadi pada pH asam. Pereaksi ini terdiri dari larutan Cu-asetat yang ditambahi asam laktat. Disakarida juga memberikan hasil positif bila dididihkan cukup lama sehingga terjadi hidrolisis.

2. Pengaruh Asam

a. Uji Molisch

Reaksi ini berlaku untuk semua jenis karbohidrat, baik dalam bentuk bebas maupun terikat. Dasarnya adalah pembentukan cincin furfural atau turunannya disebabkan dehidrasi asam pekat terhadap karbohidrat. Heksosa dengan asam pekat dan pemanasan akan membentuk hidroksimetil furfural, sedang pentosa akan membentuk furfural. Pada reaksi ini, kondensasi 4-hidroksimetilfurfural dengan α -naftol menyebabkan terbentuknya senyawa yang berwarna ungu.

b. Uji Seliwanoff

Pada umumnya reaksi ini spesifik untuk ketosa, sebagaimana uji Molisch dasarnya adalah pembentukan cincin furfural, karena pemanasan dan pengaruh asam. Kondensasi 3-hidroksimetil-furfural dengan resorsinol (1,3 dihidroksi benzen) akan membentuk suatu senyawa yang berwarna merah. Reaksi ini khas untuk levulosa, misal fruktosa, namun dengan pemanasan yang lama atau dengan jumlah banyak glukosa juga memberi reaksi positif. Juga positif untuk sukrosa, karena sukrosa oleh HCl (yang terdapat dalam reagen Selliwanoff) akan dihidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa.

3. Pengaruh Alkali

Dalam larutan alkali, aldosa dan ketosa akan menjadi bentuk enol yang reaktif. Bentuk enol glukosa, fruktosa dan manosa adalah sama. Bila larutan alkali salah satu gula didiamkan akan diperoleh campuran glukosa, fruktosa, dan manosa.

4. Pembentukan Osazon

Monosakarida dan beberapa disakarida yang mengandung gugus aldosa atau ketosa dengan penambahan fenilhidrasin membentuk fenilhidrazon. Selanjutnya fenilhidrazon dengan penambahan fenilhidrasin berlebih akan membentuk osazon. Osazon merupakan kristal kuning, tidak larut dalam air dan bentuknya khas untuk setiap macam gula, sehingga dapat digunakan untuk identifikasi. Osazon dari glukosa dan fruktosa sama. Pada fruktosa, mula-mula yang bereaksi dengan fenilhidrasin adalah gugus ketonnya. Maltosa dan laktosa masing-masing membentuk maltosazon dan laktosazon. Sedang sukrosa tidak membentuk osazon.

5. Senyawa-senyawa Yodiumo

Suatu aldosa bila dipanaskan dengan asam yodiumida (HJ) pekat akan kehilangan semua oksigennya dan diubah menjadi suatu senyawa yodiumo, berwarna ungu. Misalnya glukosa menjadi yodiumoheksan (C_6H_3J).

6. Asetilasi

Kemampuan gula untuk membentuk gula ester, misalnya dengan asetilasi dengan asetil klorida (CH_3COCl), menunjukkan adanya gugus alkohol. Jumlah gugus asetil yang dapat diikat

dapat untuk menghitung banyaknya gugus alkohol. Gula dengan lima gugus OH (misalnya glukosa) akan menghasilkan suatu penta-asetat.

7. Oksidasi

Oksidasi aldosa menghasilkan asam aldonat. Bila gugus aldehida tidak berubah, disebut asam uronat. Dengan HNO_3 akan terjadi gula dikarboksilat, yang mana atom C-1 dan terakhir dioksidkan.

1. UJI MOLISCH

Tujuan : Membuktikan adanya karbohidrat secara kualitatif.

Dasar : Karbohidrat oleh asam anorganik pekat akan dihidrolisis menjadi monosakarida. Dehidrasi monosakarida jenis pentosa oleh asam sulfat pekat menjadi furfural dan golongan heksosa menghasilkan hidroksi-metilfurfural. Pereaksi Molisch yang terdiri atas α -naftol dalam alkohol akan bereaksi dengan furfural membentuk senyawa kompleks berwarna ungu.

Bahan dan Alat : 1. Amilum, glikogen, dekstrin, sukrosa, laktosa, maltosa, galaktosa, fruktosa glukosa, dan arabinosa masing-masing dalam larutan 1 %.
2. Pereaksi Molisch (10% α -naftol)
3. H_2SO_4 pekat
4. Tabung reaksi
5. Pipet tetes

Cara Kerja : 1. Masukkan 15 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 3 tetes pereaksi Molisch. Campurlah dengan baik.
3. Miringkan tabung reaksi, lalu alirkan dengan hati-hati 1 ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung agar tidak bercampur. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas antara kedua lapisan.

2. UJI BENEDICT

Tujuan : Membuktikan adanya gula reduksi.

Dasar : Gula yang mempunyai gugus aldehida atau keton bebas akan mereduksi ion Cu^{2+} dalam suasana alkalis menjadi Cu^+ . Dalam hal ini akan terbentuk endapan Cu_2O . reaksi dinyatakan positif apabila terbentuk endapan berwarna biru kehijauan sampai merah batu bata (tergantung pada kadar gula reduksi yang tersedia).

Bahan dan Alat :

1. Amilum, glikogen, dekstrin, sukrosa, laktosa, maltosa, galaktosa, fruktosa, glukosa, dan arabinosa masing-masing dalam larutan 1%
2. Pereaksi Benedict
3. Alat pemanas atau penangas air
4. Tabung reaksi
5. Pipet tetes

Cara Kerja :

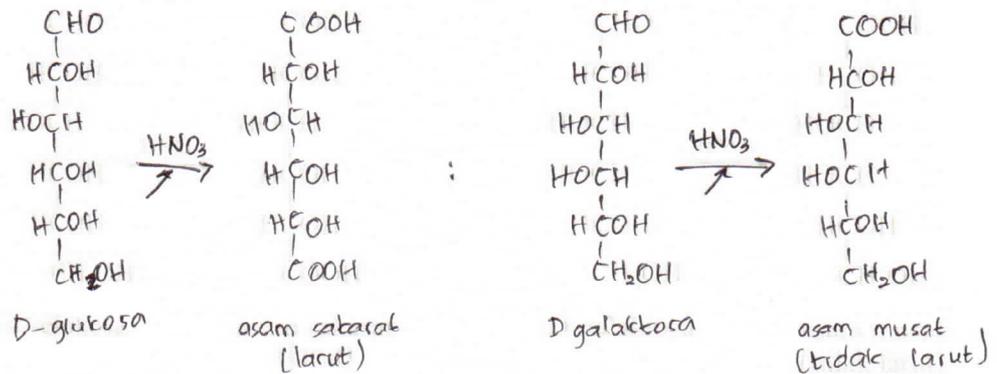
1. Masukkan dalam tabung reaksi 5 tetes larutan uji dan 15 tetes pereaksi Benedict. Campurlah dengan baik.
2. Didihkan di atas api kecil selama 2 menit atau masukkan dalam penangas air mendidih selama 5 menit. Dinginkan. Perhatikan warna atau endapan yang terbentuk.
3. Reaksi positif ditandai dengan timbulnya endapan warna biru kehijauan, kuning, atau merah bata, tergantung pada kadar gula pereduksi yang ada.

Warna	Penilaian	Konsentrasi
Biru/hijau keruh	-	-
Hijau/hijau kekuningan	+1	< 0,5%
Kuning kehijauan/kuning keruh	+2	0,5 – 1,0 %
Jingga	+3	1,0 – 2,0 %
Merah bata	+4	> 2%

3. UJI ASAM MUSAT

Tujuan : Membedakan antara glukosa dan galaktosa.

Dasar : Oksidasi terhadap karbohidrat dengan asam nitrat pekat akan menghasilkan asam yang dapat larut. Namun, laktosa dan galaktosa menghasilkan asam musat yang tidak dapat larut.



Bahan dan Alat :

1. Sukrosa, laktosa, galaktosa, dan glukosa
2. HNO₃ pekat
3. Mikroskop
4. Alat pemanas
5. Tabung reaksi
6. Pipet tetes

Cara Kerja :

1. Masukkan 10 tetes larutan uji dan 2 tetes HNO₃ pekat.
2. Panaskan dalam penangas air mendidih sampai volumenya kira-kira tinggal 2-3 tetes.
3. Dinginkan perlahan-lahan, lalu perhatikan terbentuknya kristal-kristal keras seperti pasir.
4. Amatilah di bawah mikroskop.

4. UJI BARFOED

- Tujuan** : Membedakan antara monosakarida dan disakarida.
- Dasar** : Ion Cu^{2+} (dari pereaksi Barfoed) dalam suasana asam akan direduksi lebih cepat oleh gula reduksi monosakarida daripada disakarida. Dan menghasilkan endapan Cu_2O berwarna merah bata.
- Bahan dan Alat** :
1. Sukrosa, laktosa, maltosa, galaktosa, fruktosa, glukosa, dan arabinosa masing-masing dalam larutan 1%.
 2. Pereaksi Barfoed
 3. Alat pemanas
 4. Tabung reaksi
 5. Pengatur waktu
 6. Pipet tetes
- Cara Kerja** :
1. Masukkan dalam tabung reaksi 10 tetes larutan uji dan 10 tetes pereaksi Barfoed. Campurlah dengan baik.
 2. Panaskan di atas api kecil sampai mendidih selama 1 menit atau masukkan dalam penangas air mendidih selama 5 menit.
 3. Perhatikan warna atau endapan yang terbentuk.
 4. Reaksi positif ditandai terbentuknya endapan Cu_2O berwarna merah bata.

5. UJI YODIUM

- Tujuan** : Membuktikan adanya polisakarida (amilum, glikogen, dan dekstrin).
- Dasar** : Polisakarida dengan penambahan yodium akan membentuk senyawa berwarna yang spesifik. Amilum atau pati dengan yodium menghasilkan warna biru, dekstrin menghasilkan warna merah anggur, sedangkan glikogen dan sebagian pati yang terhidrolisis bereaksi dengan yodium membentuk warna merah coklat.
- Bahan dan Alat** :
1. Amilum, glikogen, dekstrin, sukrosa, laktosa, maltosa, galaktosa, fruktosa, glukosa, dan arabinosa masing-masing dalam larutan 1%
 2. Larutan yodium
 3. Tabung reaksi
 4. Pipet tetes
- Cara Kerja** :
1. Masukkan 3 tetes larutan uji ke dalam tabung reaksi
 2. Tambahkan 2 tetes larutan yodium
 3. Amati warna spesifik yang terbentuk

6. HIDROLISIS PATI

Tujuan : Mengidentifikasi hasil hidrolisis amilum (pati).

Dasar : Pati (*starch*) merupakan polisakarida, yang terdapat pada sebagian besar tanaman, terutama dalam golongan umbi-umbian dan biji-bijian. Pati terbagi menjadi dua fraksi yang dapat dipisahkan dengan air panas. Fraksi terlarut disebut amilosa ($\pm 20\%$), dengan struktur makromolekul linier yang dengan yodium memberikan warna biru. Sebaliknya, fraksi yang tidak larut disebut amilopektin ($\pm 80\%$) dengan struktur bercabang. Dengan penambahan yodium, fraksi memberikan warna ungu sampai merah.

Pati dalam suasana asam bila dipanaskan akan terhidrolisis menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Hasil hidrolisis dapat diuji dengan yodium dan menghasilkan warna biru sampai tidak berwarna. Hasil akhir hidrolisis ditegaskan dengan Uji Benedict. Hasil hidrolisis pati ditunjukkan seperti pada tabel berikut.

Waktu Hidrolisis	Warna dengan Yodium	Hasil hidrolisis
Setelah 3 menit	Biru	Amilosa
Setelah 6 menit	Ungu	Amilopektin
Setelah 9 menit	Violet	Amilopektin
Setelah 12 menit	Merah	Eritrodekstrin
Setelah 15 menit	Kuning coklat	Akrodekstrin
Setelah 18 menit	Kuning pucat	Maltosa
Setelah 21 menit	Kuning pucat	Glukosa

Bahan dan Alat :

1. Larutan amilum 1 %
2. Larutan yodium
3. Pereaksi Benedict
4. Larutan HCl 2 N
5. Larutan NaOH 2%
6. Kertas lakmus
7. Alat pemanas
8. Tabung reaksi
9. Penjepit tabung
10. Pipet ukur

Cara Kerja

- : 1. Masukkan ke dalam tabung reaksi 5 ml amilum 1%, kemudian tambahkan 2,5 ml HCl 2 N.
2. Campurlah dengan baik, lalu masukkan dalam penangas air mendidih.
3. Setelah 3 menit, ujilah dengan yodium dengan mengambil 2 tetes larutan ditambah 2 tetes yodium. Catatlah perubahan warna yang terjadi.
4. Lakukan uji yodium setiap 3 menit sampai hasil berwarna kuning pucat.
5. Lanjutkan hidrolisis selama 5 menit lagi.
6. Setelah didinginkan, ambil 2 ml larutan hasil hidrolisis, lalu netralkan dengan NaOH 2 %. Uji dengan kertas lakmus
7. Kemudian, ujilah dengan Benedict. Simpulkan apa yang dihasilkan hidrolisis pati.

7. PENENTUAN KADAR GLUKOSA SECARA YODIMETRI

Tujuan : Menentukan kadar glukosa secara yodimetri.

Dasar : Glukosa adalah termasuk gula reduksi karena monosakarida yang memiliki gugus -OH laktol bebas dan dapat berubah menjadi glukosa alifatis dengan gugus aldehida sebagai reduktor lemah dan kemudian dapat dioksidasi oleh oksidator lemah seperti yodium membentuk asam glukonat.

Bahan dan Alat :

1. Indikator larutan kanji
2. Larutan natrium karbonat 14,3 %
3. Larutan yodium 0,1 N
4. HCl encer
5. Larutan natrium tiosulfat 0,1 N

Cara Kerja :

1. Sampel padat yang mengandung kira-kira 100 mg glukosa yang tidak mengandung reduktor lainnya dilarutkan di dalam 50 ml air suling di dalam erlenmeyer bertutup.
2. Tambahkan 25 ml yodium 0, 1 N dan 10 ml larutan natrium karbonat 14,3 %, ditutup.
3. Biarkan selama 30 menit ditempat gelap.
4. Tambahkan 15 ml HCl encer dan yodium yang tersisa dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N sampai terjadi warna kuning lemah.
5. Tambahkan lagi indikator kanji dan lanjutkan titrasi sampai warna biru hilang.
6. Lakukan titrasi blanko.
7. Tiap ml yodium 0,1 N setara dengan 9,9185 mg glukosa.

LIPIDA

Lipida adalah sekelompok senyawa organik yang terdapat dalam tumbuhan, hewan, atau manusia dan memegang peranan penting dalam struktur dan fungsi sel. Senyawa lipida tidak mempunyai rumus empiris tertentu atau struktur yang serupa, tetapi terdiri atas beberapa golongan. Berbeda dengan karbohidrat dan protein, lipida mempunyai sifat tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik nonpolar seperti eter, kloroform, aseton, dan benzena. Berdasarkan sifat demikian, lipida dapat diperoleh dengan cara ekstraksi dari jaringan hewan atau tumbuhan menggunakan eter atau pelarut nonpolar lainnya.

Lipida merupakan komponen penting dalam membran sel, termasuk di antaranya fosfolipida, glikolipida, dan dalam sel hewan adalah kolesterol. Fosfolipida memiliki banyak kerangka gliserol (fosfogliserida) atau sfingosin (sfingomyelin). Serebrosida mengandung glukosa dan galaktosa dan dengan kerangka sfingosin termasuk dalam glikolipida. Kolesterol merupakan senyawa induk bagi steroid lain yang disintesis dalam tubuh. Steroid tersebut adalah hormon-hormon yang penting seperti bormon korteks adrenal serta hormon seks, vitamin D, dan asam empedu.

Lemak dan minyak merupakan bagian terbesar dan terpenting kelompok lipida, yaitu sebagai komponen makanan utama bagi organisme hidup. Lemak dan minyak penting bagi manusia karena adanya asam-asam lemak esensial yang terkandung di dalamnya. Fungsinya dapat melarutkan vitamin A, D, E, dan K yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan tubuh. Kemudian, lemak dan minyak merupakan sumber energi yang lebih efisien dibandingkan karbohidrat dan protein. Satu gram lemak atau minyak dapat menghasilkan 9 kkal, sedangkan karbohidrat dan protein hanya menghasilkan 4 kkal setiap gram.

Secara kimiawi, lemak dan minyak adalah trigliserida yang merupakan ester dari gliserol dan asam lemak rantai panjang. Senyawa terbentuk dari hasil kondensasi satu molekul gliserol dengan tiga molekul asam lemak.

Klasifikasi Lipida

Lipida dapat diklasifikasikan menjadi tiga golongan besar, yaitu:

1. Lipida sederhana: senyawa ester asam lemak dan berbagai alkohol. Contoh: lemak atau minyak dan lilin (wax).
2. Lipida kompleks (gabungan): senyawa ester asam lemak yang mempunyai gugus lain di samping alkohol dan asam lemak, misalnya karbohidrat atau protein. Contoh: fosfolipida, glikolipida, dan lipoprotein.
3. Derivat lipida: senyawa yang dihasilkan oleh proses hidrolisis lipida. Contoh: asam lemak, gliserol, aldehida lemak, keton, hidrokarbon, sterol, vitamin larut lemak, dan beberapa hormon.

Selain menurut penggolongan di atas, berdasarkan sifat kimianya lipida dapat pula dibedakan menjadi dua, yaitu: lipida yang dapat disabunkan atau dapat dihidrolisis dengan basa, contohnya: lemak atau minyak, dan lipida yang tidak dapat disabunkan, contohnya: sterol dan terpena.

Asam Lemak

Asam lemak dapat dibentuk dari senyawa-senyawa yang mengandung karbon seperti asam asetat, asetaldehida, dan etanol yang merupakan hasil respirasi tanaman. Asam lemak dalam tanaman disintesis dalam keadaan anaerob dengan bantuan bakteri tertentu seperti *Clostridium kluyveri*. Asam-asam lemak yang ditemukan di alam umumnya merupakan asam-asam monokarboksilat dengan rantai yang tidak bercabang dan mempunyai jumlah atom karbon genap.

Asam lemak di alam dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu:

1. Asam lemak jenuh: asam lemak yang tidak mempunyai ikatan rangkap. Contoh: asam palmitat, asam stearat, dan asam kaprat. Sumber: sebagian besar pada lemak hewani.
2. Asam lemak tidak jenuh: yaitu asam lemak yang mempunyai satu atau lebih ikatan rangkap. Contoh: asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat. Sumber: minyak nabati pada biji-bijian atau kacang-kacangan.

Sifat-sifat Lemak atau Minyak

Sifat fisikokimia lemak dan minyak berbeda satu sama lain, tergantung pada sumbernya. Secara umum, bentuk trigliserida lemak dan minyak sama, tetapi wujudnya berbeda. Dalam pengertian sehari-hari, disebut lemak jika berbentuk padat pada suhu kamar dan disebut minyak jika berbentuk cair pada suhu kamar.

Trigliserida dapat berbentuk padat atau cair berhubungan dengan asam lemak penyusunnya. Minyak nabati sebagian besar berbentuk cair karena mengandung sejumlah asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat ($C_{17}H_{33}COOH$), asam linoleat ($C_{17}H_{31}COOH$), dan asam linolenat ($C_{17}H_{29}COOH$). Asam-asam lemak termasuk asam lemak esensial yang dapat mencegah timbulnya gejala arteriosclerosis karena penyempitan pembuluh darah akibat penumpukan kolesterol. Sebaliknya, asam lemak hewani umumnya pada suhu kamar berbentuk padat karena banyak mengandung asam lemak jenuh seperti asam stearat ($C_{17}H_{35}COOH$) dan asam palmitat ($C_{15}H_{31}COOH$).

Lemak dan minyak yang teroksidasi akan membentuk peroksida dan hidroperoksida yang dapat terurai menjadi aldehida, keton, dan asam-asam lemak bebas. Hasil oksidasi tidak hanya mengakibatkan rasa dan bau yang tidak enak, tetapi dapat pula menurunkan nilai gizi karena kerusakan vitamin dan asam-asam lemak esensial dalam lemak. Reaksi oksidasi dipercepat dengan adanya cahaya, pemanasan, atau katalis logam seperti Cu, Fe, Co, dan Mn.

Sifat-sifat Reaksi Lipida

1. Titik didih

Titik didih asam lemak ditentukan oleh panjang rantai atom C dan derajat ketidakjenuhan. Asam lemak jenuh mempunyai titik lebur lebih tinggi daripada asam lemak tidak jenuh. Makin panjang rantai atom C dan makin jenuh asam lemak, maka titik didihnya makin tinggi.

2. Kelarutan

Derajat kelarutan juga ditentukan oleh panjang rantai atom C. Makin panjang rantai atom C, maka makin rendah kelarutannya. Di samping itu adanya gugus hidroksil juga dapat menaikkan derajat kelarutan.

3. Aktivitas optis

Sifat optis aktif terjadi karena adanya ikatan rangkap. Ikatan ini menyebabkan terbentuknya stereoisomer, yaitu bentuk *cis* dan *trans* isomer.

4. Pembentukan membran, misel, dan emulsi

a. Pembentukan membran dalam air

Membran lipida dapat terbentuk di permukaan air karena bagian hidrokarbon (non polar) yang lebih banyak. Namun beberapa lipida tertentu, seperti fosfolipida dan sfingolipida kandungan bagian polar lebih banyak dibanding bagian non polar, sehingga disebut lipida polar. Molekul-molekul polar pada lipida tersebut sebagian larut dalam air dan sebagian larut dalam pelarut non polar. Pada *oil-water interface*, bagian polar terdapat pada fase air, sedang bagian non polar terdapat pada fase minyak. Lapisan lipida ganda ini (*lipid bilayer*) merupakan struktur dasar membran sel biologi.

b. Misel

Pada konsentrasi tertentu, bagian polar lipida yang terdapat pada medium air akan membentuk misel. Kemampuan garam empedu membentuk misel, penting untuk penyerapan lemak dalam usus halus, karena lemak menjadi mudah dicerna.

c. Emulsi

Emulsi adalah partikel-partikel besar yang dibentuk dari lipida non polar di dalam air. Untuk menstabilkan emulsi biasanya digunakan emulgator (*emulsifying agent*), seperti lesitin.

5. Hidrolisis

Salah satu jenis lipida yang banyak terdapat dalam tubuh, yaitu triasilgliserol dapat dihidrolisis oleh enzim lipase pankreas (steapsin) menjadi gliserol dan asam lemak. Enzim fosfolipase mampu menghidrolisis fosfolipida.

6. Penyabunan

Penyabunan adalah proses hidrolisis lemak oleh alkali. Hasilnya berupa gliserol dan garam alkali dari asam lemak, yang disebut sabun. Sabun larut dalam air, kecuali air sadah (*hard water*),

yaitu air yang mengandung banyak ion-ion Ca dan Mg. Ion-ion ini dapat menggantikan Na atau K dalam sabun, membentuk garam yang tidak larut dalam air.

7. Bahan tidak tersabunkan

Bahan yang tidak tersabunkan yang terdapat pada lemak dapat dipisahkan dari asam lemak dengan cara penyabunan. Asam lemak akan berubah menjadi sabun yang larut dalam air, sedang bahan yang tidak tersabunkan tidak larut dalam air dan tetap larut dalam lemak, sehingga dapat diekstraksi dengan bahan-bahan pelarut lemak. Bahan yang tidak tersabunkan antara lain keton, hidroksi karbon, alkohol dengan berat molekul tinggi dan steroid.

8. Hidrogenasi (penjenuhan)

Lemak yang tidak jenuh dapat dijenuhkan dengan katalisator Pt atau Ni, sehingga menjadi lebih keras. Hal ini biasa untuk menjenuhkan lemak tumbuh-tumbuhan dalam pembuatan mentega.

9. Ketengikan (*rancidity*)

Lemak dan minyak dapat mengalami ketengikan (*rancidity*), karena O_2 dari udara mengoksidkan ikatan rangkap dari lemak, sehingga timbul peroksida bila dibiarkan terlalu lama kontak dengan udara. Pada proses hidrolisis, lemak atau minyak akan diubah menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Reaksi hidrolisis dapat mengakibatkan kerusakan lemak atau minyak karena terdapat sejumlah air di dalamnya, sehingga menimbulkan bau tengik. Timbal dan mentega mempercepat proses ini, sedangkan antioksidan seperti vitamin E, vitamin C, polifenol, dan hidroquinon menghambatnya. Lemak dan minyak yang sangat tengik mempunyai keasaman yang rendah.

10. Oksidasi spontan

Minyak yang berisi asam lemak dengan derajat ketidakjenuhan tinggi, misalnya minyak biji kapas, dapat teroksidasi secara spontan oleh O_2 atmosfer pada suhu kamar dan membentuk bahan yang keras dan tahan air, sehingga disebut juga *drying oil*.

1. UJI KELARUTAN LIPIDA

Tujuan : Mengetahui kelarutan lipida pada pelarut tertentu.

Dasar : Pada umumnya, lemak dan minyak tidak larut dalam air, tetapi sedikit larut dalam alkohol dan larut sempurna dalam pelarut organik seperti eter, kloroform, aseton, benzena, atau pelarut nonpolar lainnya.

Minyak dalam air akan membentuk emulsi yang tidak stabil karena bila dibiarkan, maka kedua cairan akan memisah menjadi dua lapisan. Sebaliknya, minyak dalam soda (Na_2CO_3) akan membentuk emulsi yang stabil karena asam lemak yang bebas dalam larutan lemak bereaksi dengan soda membentuk sabun. Sabun mempunyai daya aktif permukaan, sehingga tetes-tetes minyak menjadi tersebar seluruhnya.

Bahan dan Alat :

1. Minyak kelapa
2. Alkohol 96%
3. Kloroform
4. Eter
5. Air suling (aquades)
6. Larutan Na_2CO_3 0,5%
7. Tabung reaksi
8. Penjepit tabung
9. Pipet ukur
10. Pipet tetes

Cara Kerja :

1. Siapkan 5 tabung reaksi yang bersih dan kering. Berturut-turut isilah dengan: air, alkohol 96%, eter, NaOH 1N, dan larutan Na_2CO_3 0,5% sebanyak 1 ml.
2. Tambahkan pada setiap tabung 2 tetes minyak kelapa.
3. Kocoklah sampai homogen, lalu biarkan beberapa saat.
4. Amati sifat kelarutannya.

2. UJI KEASAMAN MINYAK

Tujuan : Mengetahui sifat asam basa minyak kelapa.

Dasar : Minyak mumi umumnya bersifat netral, sedangkan minyak yang sudah tengik bersifat asam. Hal ini disebabkan minyak mengalami hidrolisis dan oksidasi menghasilkan, aldehida, keton, dan asam-asam lemak bebas.

Proses ketengikan pada lemak atau minyak dapat dipercepat oleh adanya: cahaya, kelembaban, pemanasan, aksi mikroba, dan katalis logam tertentu, seperti Fe, Ni, atau Mn. Sebaliknya, zat-zat yang dapat menghambat terjadinya proses ketengikan disebut antioksidan, misalnya: tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), polifenol, hidroquinon, dan flavonoid.

Bahan dan Alat :

1. Minyak kelapa (bagus dan tengik)
2. Kertas lakmus merah atau biru
3. Porselin tetes
4. Pipet tetes

Cara Kerja :

1. Teteskan sedikit minyak kelapa pada porselin tetes
2. Ujilah dengan kertas lakmus
3. Amati perubahan warna yang terjadi pada kertas lakmus.
4. Ulangi percobaan dengan menggunakan minyak kelapa tengik.

3. UJI LIEBERMANN-BURCHARD

Tujuan : Mengetahui adanya sterol (kolesterol) dalam suatu bahan secara kualitatif.

Dasar : Kelompok lipida seperti fosfolipida dan sterol merupakan komponen penting yang terdapat dalam membran semua sel hidup. Kolesterol adalah sterol utama yang banyak terdapat di alam. Untuk mengetahui adanya sterol dan kolesterol, dapat dilakukan uji kolesterol menggunakan reaksi warna. Salah satu di antaranya ialah reaksi Lieberman-Burchard.

Uji ini positif bila reaksi menunjukkan warna yang berubah dari merah, kemudian biru dan hijau. Warna hijau yang terjadi sebanding dengan kolesterol dalam bahan.

Bahan dan Alat :

1. Kolesterol 0,5% dalam kloroform
2. Minyak kelapa
3. Minyak ikan
4. Asam asetat anhidrid
5. Kloroform
6. H₂SO₄ pekat
7. Tabung reaksi
8. Pipet ukur
9. Pipet tetes

Cara Kerja :

1. Siapkan 3 tabung reaksi yang bersih dan kering. Isilah tabung pertama dengan 1 ml minyak kelapa, tabung kedua dengan 5 tetes minyak ikan, dan tabung ketiga dengan 5 tetes kolesterol 0,5%.
2. Pada setiap tabung, tambahkan kloroform sebanyak 2 ml.
3. Tambahkan pula 10 tetes asam asetat anhidrid.
4. Melalui dinding tabung, tambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat.
5. Kocoklah hati-hati dan diamkan beberapa detik.
6. Perhatikan warna-warna yang muncul. Warna ini bersifat tidak tetap. Amati perubahan warna yang terjadi.

4. REAKSI PENYABUNAN DAN SIFAT-SIFAT ASAM LEMAK

Tujuan : Mengetahui prinsip penyabunan dan sifat-sifat asam lemak.

Dasar : Sabun merupakan garam alkali dari asam lemak rantai panjang yang bersumber dari minyak atau lemak, dimana jumlah rantai karbon mulai dari asam lemak pembentuk sabun dari atom C10-C16. Kebanyakan sabun dibuat dengan jalan penyabunan antara lemak dengan suatu basa monovalen seperti natrium hidroksida melalui reaksi penyabunan.

Bahan dan Alat :

1. Larutan NaOH 1N, HCl 1N, etanol 96%, bensin, minyak kelapa
2. Beker glass
3. Erlenmeyer
4. Batang pengaduk

Cara Kerja :

1. 5 gram minyak kelapa dimasukkan ke dalam beker glas.
2. Tambahkan NaOH 1 N sedikit demi sedikit sambil dipanaskan pada suhu 70°C sebanyak $5 \times 0,142 \text{ g} = 1,71 \text{ g}$ (yang terdapat dalam sekitar 42 ml 1N NaOH).
3. Pemanasan dilanjutkan sampai terbentuk sabun.
4. Kedalam larutan sabun yang telah terbentuk ditambahkan HCl 1N.
5. Amati apa yang terjadi.
6. Kedalam campuran yang telah ditambahkan HCl ditambahkan bensin atau alkohol 96 % dan amati apa yang terjadi.

5. PENENTUAN KADAR LEMAK SUSU

- Tujuan** : Menetapkan kadar lemak susu.
- Dasar** : Susu dicampur dengan H_2SO_4 dan amil alkohol dalam tabung Gerber khusus lalu disentrifuse sehingga lemak susu terpisah dan menempati bagian atas tabung. Lemak yang terpisah ini dapat ditentukan kadarnya dengan melihat panjang kolom lemak yang terbentuk.
- Bahan dan Alat** :
1. Asam sulfat 90% (w/w), BJ 1,815
 2. Amil alkohol
 3. Tabung butirometer Gerber
 4. Sentrifuse Gerber berdiameter 50 cm
 5. Pipet volumetri 10,75 ml
- Cara Kerja** :
1. Masukkan 10 ml H_2SO_4 ke dalam tabung butirometer dengan tanpa membasahi leher tabung.
 2. Pipet 10,75 ml susu, masukkan ke dalam tabung butirometer dengan tanpa membasahi leher tabung.
 3. Tambahkan 1 ml amil alkohol. Tutup tabung dengan penutupnya, kocok merata, sentrifuge selama 4 menit pada 1100 rpm.
 4. Tempatkan tabung dalam penangas air $65^\circ C$, selama 3 menit.
 5. Baca persentase kadar lemak (w/w), sesuai dengan panjang kolom tabung yang telah dikalibrasi.
- Jangan tambahkan amil alkohol sedemikian rupa sehingga kontak langsung dengan asam.
- Persiapkan kain dan sodium bikarbonat. Kedua bahan ini berguna jika tabung butirometer yang berisi H_2SO_4 pekat pecah.

6. PENETAPAN ANGKA PENYABUNAN

Tujuan : Menetapkan angka penyabunan lemak/minyak.

Dasar : Angka penyabunan adalah jumlah mg KOH yang diperlukan untuk menyabunkan 1 gram lemak atau minyak. Angka penyabunan dapat digunakan untuk menentukan berat molekul lemak atau minyak.

Bahan dan Alat :

1. Labu erlenmeyer 250 ml
2. Pipet volume
3. Refluks kondensor
4. Penangas air
5. Pipet volumetri 10,75 ml
6. Minyak
7. KOH dalam alkohol 90%, HCl 0,5N
8. Larutan pp 1% dalam alkohol

Cara Kerja :

1. Siapkan 2 labu erlenmeyer 250 ml dan pipet yang kering serta bersih.
2. Labu erlenmeyer pertama diisi 5 ml minyak. Lalu ditambah 150 ml KOH dalam alkohol 90% (0,5 N) dengan pipet.
3. Isi labu kedua dengan 150 ml KOH dalam alkohol 90% (sebagai blanko).
4. Kedua labu ditutup dengan refluks kondensor dan keduanya dipanaskan dalam penangas air selama kurang lebih $\frac{1}{2}$ jam sambil sewaktu-waktu diaduk. Dinginkan.
5. Masukkan ke dalam kedua labu erlenmeyer 1 ml larutan fenofthalin (pp) 1% dalam alkohol.
6. Lakukan titrasi dengan HCl 0,5 N. Kurangi angka yang didapat pada blanko dari yang didapat pada titrasi minyak yang dipakai.
7. Tentukan jumlah mg KOH yang dibutuhkan untuk penyabunan 1 gram minyak. Jumlah ini disebut angka penyabunan.
8. Satu ml HCl yang dipakai untuk titrasi sebanding dengan 0,02805 gram KOH.

PROTEIN

Protein merupakan komponen utama dalam semua sel hidup, baik tumbuhan maupun hewan. Pada sebagian besar jaringan tubuh, protein merupakan komponen terbesar setelah air. Kira-kira lebih dari 50% berat kering sel terdiri atas protein. Protein adalah senyawa organik kompleks yang terdiri atas unsur-unsur Karbon (50-55%), Hidrogen ($\pm 7\%$), Oksigen ($\pm 13\%$), dan Nitrogen ($\pm 16\%$). Banyak pula protein yang mengandung Belerang (S) dan Fosfor (P) dalam jumlah sedikit (1-2%). Ada beberapa protein lainnya, mengandung unsur logam seperti tembaga dan besi.

Di dalam tubuh, protein mempunyai peranan yang sangat penting. Fungsi utamanya sebagai zat pembangun atau pembentuk struktur sel, misalnya untuk pembentukan kulit, otot, rambut, membran sel, jantung, hati, ginjal, dan beberapa organ penting lainnya. Terdapat pula protein yang mempunyai fungsi khusus, yaitu protein yang aktif. Beberapa di antaranya adalah enzim yang berperan sebagai biokatalisator, hemoglobin sebagai pengangkut oksigen, hormon sebagai pengatur metabolisme tubuh, dan antibodi untuk mempertahankan tubuh dari serangan penyakit. Kekurangan protein dalam jangka waktu lama dapat mengganggu berbagai proses metabolisme di dalam tubuh serta mengurangi daya tahan tubuh terhadap serangan penyakit.

Protein dalam tubuh manusia diperoleh dari bahan makanan, baik yang berasal dari hewan maupun tumbuhan. Protein yang berasal dari hewan disebut protein hewani, sedangkan yang berasal dari tumbuhan disebut protein nabati. Sumber protein dari beberapa bahan makanan adalah daging, telur, susu, ikan, beras, kacang, dan buah-buahan. Protein dalam makanan yang dikonsumsi manusia akan dipecah menjadi asam-asam amino dalam proses pencernaan dengan dibantu oleh enzim seperti pepsin dan tripsin. Asam-asam amino yang dihasilkan kemudian diserap oleh usus dan dibawa darah ke hati atau didistribusikan ke jaringan-jaringan yang membutuhkan. Selain untuk pembentukan sel-sel tubuh, protein dapat pula digunakan sebagai bahan bakar apabila keperluan energi tubuh tidak terpenuhi oleh karbohidrat dan lemak. Secara kimiawi, protein merupakan senyawa polimer yang tersusun atas satuan asam-asam amino sebagai monomernya. Asam-asam amino terikat satu sama lain melalui ikatan peptida, yaitu ikatan antara gugus karboksil ($-\text{COOH}$) asam amino yang satu dengan gugus amino ($-\text{NH}_2$) dari asam amino yang lain dengan melepaskan satu molekul air. Peptida yang terbentuk atas dua asam amino disebut dipeptida. Sebaliknya, peptida yang terdiri atas tiga, empat, atau lebih asam amino masing-masing disebut tripeptida, tetrapeptida, dan seterusnya.

Protein adalah suatu polipeptida yang memiliki kira-kira 100 sampai 1.800 atau lebih residu asam amino. Protein alamiah memiliki 20 jenis asam amino. Untuk setiap protein tertentu, urutan dan jenis-jenis asam amino yang menyusunnya sangat spesifik. Suatu protein yang hanya tersusun atas asam amino dan tidak mengandung gugus kimia lain disebut protein sederhana. Contohnya: enzim

ribonuklease dan khimotripsinogen. Namun, banyak protein yang mengandung bahan lain selain asam amino seperti derivat vitamin, lipida, atau karbohidrat. Protein disebut protein konjugasi. Bagian yang bukan asam amino dari jenis protein ini disebut gugus prostetik. Contohnya, lipoprotein mengandung lipida dan glikoprotein mengandung gula.

Klasifikasi Protein

Berdasarkan struktur molekulnya, protein dapat dibagi menjadi dua golongan utama, yaitu:

1. Protein globuler, yaitu protein berbentuk bulat atau elips dengan rantai polipeptida yang berlipat. Umumnya, protein globuler larut dalam air, asam, basa, atau etanol. Contoh: albumin, globulin, protamin, semua enzim, dan antibodi.
2. Protein fiber, yaitu protein berbentuk serat atau serabut dengan rantai polipeptida memanjang pada satu sumbu. Hampir semua protein fiber memberikan peran struktural atau pelindung. Protein fiber tidak larut dalam air, asam, basa, maupun etanol. Contoh: keratin pada rambut, kolagen pada tulang rawan, dan fibroin pada sutera.

Sifat-sifat protein

Berat molekul protein sangat besar, ribuan sampai jutaan, sehingga merupakan suatu makromolekul. Seperti senyawa polimer lain (misalnya: pati), protein dapat pula dihidrolisis oleh asam, basa, atau enzim tertentu dan menghasilkan campuran asam-asam amino.

Sifat fisikokimia protein berbeda satu sama lain, tergantung pada komposisi dan jenis asam amino penyusunnya. Sebagian besar protein bila dilarutkan dalam air akan membentuk dispersi koloidal dan tidak dapat berdifusi bila dilewatkan melalui membran semipermeabel. Beberapa protein mudah larut dalam air, tetapi ada pula yang sukar larut. Namun, semua protein tidak dapat larut dalam pelarut organik seperti eter, kloroform, atau benzena.

Pada umumnya, protein sangat peka terhadap pengaruh-pengaruh fisik dan zat kimia, sehingga mudah mengalami perubahan bentuk. Perubahan atau modifikasi pada struktur molekul protein disebut denaturasi. Hal-hal yang dapat menyebabkan terjadinya denaturasi adalah: panas, pH, tekanan, aliran listrik, dan adanya bahan kimia seperti urea, alkohol, atau sabun. Proses denaturasi kadang berlangsung secara reversibel, tetapi ada pula yang irreversibel, tergantung pada penyebabnya. Protein yang mengalami denaturasi akan menurunkan aktivitas biologisnya dan berkurang kelarutannya sehingga mudah mengendap.

Molekul protein mempunyai gugus amino ($-NH_2$) dan gugus karboksilat ($-COOH$) pada ujung-ujung rantainya. Hal ini menyebabkan protein mempunyai banyak muatan (polielektrolit) dan bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam dan basa. Dengan larutan asam atau pH rendah, gugus amino pada protein akan bereaksi dengan ion H^+ , sehingga protein bermuatan positif. Sebaliknya dalam

larutan basa, gugus karboksilat bereaksi dengan ion OH⁻, sehingga protein bermuatan negatif. Adanya muatan pada molekul protein menyebabkan protein bergerak di bawah pengaruh medan listrik.

Setiap jenis protein dalam larutan mempunyai pH tertentu yang disebut titik isoelektrik (TI). Pada pH isoelektrik (pI), molekul protein mempunyai muatan positif dan negatif yang sama, sehingga saling menetralkan atau bermuatan nol. Akibatnya, protein tidak bergerak di bawah pengaruh medan listrik. Pada titik isoelektris, protein akan mengalami pengendapan (koagulasi) paling cepat dan prinsip ini dapat digunakan untuk pemisahan atau pemurnian suatu protein.

Sifat-sifat Reaksi Protein

1. Reaksi pengendapan

- a. Pengendapan dengan amonium sulfat dan alkohol pekat
- b. Pengendapan dengan ion positif dengan logam berat (Cu, Fe, Pb, Hg, Zn)
- c. Pengendapan dengan ion negatif dengan reagen alkaloid
- d. Pengendapan oleh alkohol dan pelarut organik
- e. Penggumpalan (koagulasi) oleh pemanasan

2. Reaksi warna

- a. Reaksi biuret
- b. Reaksi santoprotein
- c. Reaksi Millon-Nasse
- d. Reaksi Hopkins-Cole
- e. Reaksi reduksi sulfur

3. Reaksi dengan asam nitrit

Asam nitrit akan membebaskan gugus amino bebas dari protein atau asam amino menjadi gas nitrogen (N₂).

4. Reaksi dengan formaldehida

Formaldehida akan bergabung dengan protein membentuk endapan yang tidak larut dan mengeras. Pengaruh formaldehida terhadap asam amino menyebabkan asam amino bereaksi asam (kehilangan sifat basanya) karena formaldehida terikat pada gugus aminonya dan membentuk asam amino dimetil. Reaksi ini disebut Reaksi Sorensen. Reaksi ini merupakan metode Sorensen untuk penetapan asam amino secara kuantitatif.

5. Denaturasi protein

Denaturasi adalah perubahan sifat fisik dan fisiologik protein. Denaturasi biasanya disebabkan oleh bahan-bahan kimiawi, sinar X dan ultraviolet, serta pemanasan. Denaturasi menyebabkan perubahan konfigurasi protein, karena rusaknya ikatan hidrogen dan ikatan non polar. Perubahan akibat denaturasi antara lain:

- a. perubahan titik isoelektris,
- b. perubahan kelarutan,
- c. perubahan tegangan permukaan,
- d. hilangnya aktivitas enzimatis, hormon, antibodi, dan
- e. hilangnya aktivitas antigenik.

1. UJI KELARUTAN PROTEIN

Tujuan : Mengetahui daya kelarutan protein terhadap pelarut tertentu.

Dasar : Protein bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan larutan asam maupun basa. Daya larut protein berbeda di dalam air, asam, dan basa. Sebagian ada yang mudah larut dan ada pula yang sukar larut. Namun, semua protein tidak larut dalam pelarut lemak seperti eter atau kloroform. Apabila protein dipanaskan atau ditambah etanol absolut, maka protein akan menggumpal (terkoagulasi). Hal ini disebabkan etanol menanik mantel air yang melingkupi molekul-molekul protein.

Bahan dan Alat :

1. Albumin telur, gelatin, air suling (aquades)
2. Larutan HCl 10%
3. Larutan NaOH 40%
4. Alkohol 96%
5. Kloroform
6. Tabung reaksi
7. Pipet ukur

Cara Kerja :

1. Sediakan 5 tabung reaksi, masing-masing isilah dengan: air suling, HCl 10%, NaOH 40%, alkohol 96%, dan kloroform sebanyak 1 ml.
2. Tambahkan 2 ml larutan albumin telur pada setiap tabung.
3. Kocoklah dengan kuat, kemudian amati sifat kelarutannya.
4. Ulangi percobaan menggunakan gelatin.

2. UJI BIURET

- Tujuan** : Memperlihatkan, bahwa protein mempunyai ikatan peptida yang bereaksi positif dengan uji biuret.
- Dasar** : Ion Cu^{2+} (dari pereaksi Biuret) dalam suasana basa akan bereaksi dengan polipeptida dan ikatan-ikatan peptida yang menyusun protein membentuk senyawa kompleks berwarna ungu (violet). Reaksi Biuret positif terhadap dua buah ikatan peptida atau lebih, tetapi negatif untuk asam amino bebas atau dipeptida. Reaksi ini juga positif terhadap senyawa-senyawa yang mengandung dua gugus $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CSNH}_2$, $-\text{C}(\text{NH})\text{NH}_2$, dan $-\text{CONH}_2$. Reaksi ini tidak terjadi pada makromolekul lain.
- Biuret adalah senyawa dengan dua ikatan peptida yang terbentuk pada pemanasan dua molekul urea.
- Bahan dan Alat** :
1. Larutan albumin atau putih telur
 2. Air liur
 3. Larutan pati 1 %
 4. NaOH 10%
 5. Larutan CuSO_4 0,2%
- Cara Kerja** :
1. Sediakan 4 tabung reaksi, masing-masing isilah dengan larutan albumin (putih telur), saliva, larutan pati, dan air suling sebanyak 2 ml.
 2. Tambahkan 2 ml NaOH 10% dan 1 tetes larutan CuSO_4 pada setiap tabung.
 3. Bila belum terbentuk warna lembayung, CuSO_4 dapat ditambahkan lagi, sampai 10 tetes.

3. UJI SUSUNAN ELEMENTER PROTEIN

Tujuan : Mengidentifikasi adanya unsur-unsur penyusun protein.

Dasar : Semua jenis protein tersusun atas unsur-unsur karbon (C), hidrogen (H), oksigen (O), dan nitrogen (N). Ada pula protein yang mengandung sedikit belerang (S) dan fosfor (P).
Dengan metode pembakaran atau pengabuan, akan diperoleh unsur-unsur penyusun protein, yaitu C, H, O, dan N.

Bahan dan Alat :

1. Albumin telur
2. Gelatin
3. Larutan NaOH 10%
4. Larutan Pb-asetat 5%
5. Larutan HCl pekat
6. Kertas lakmus
7. Tabung reaksi
8. Alat pemanas
9. Cawan Porselin
10. Gelas objek

Cara Kerja :

A. Uji Adanya Unsur C, H, dan O

1. Masukkan 1 ml albumin telur ke dalam cawan porselin.
2. Taruhlah kaca obyek di atasnya, kemudian panaskan.
3. Perhatikan adanya pengembunan pada gelas obyek, yang menunjukkan adanya hidrogen (H) dan oksigen (O).
4. Ambil gelas obyek, lalu amati bau yang terjadi. Bila tercium bau rambut terbakar, berarti protein mengandung unsur Nitrogen (N).
5. Bila terjadi pengarangn, berarti ada atom Karbon (C).
6. Ulangi percobaan menggunakan serbuk gelatin.

B. Uji Adanya Atom N

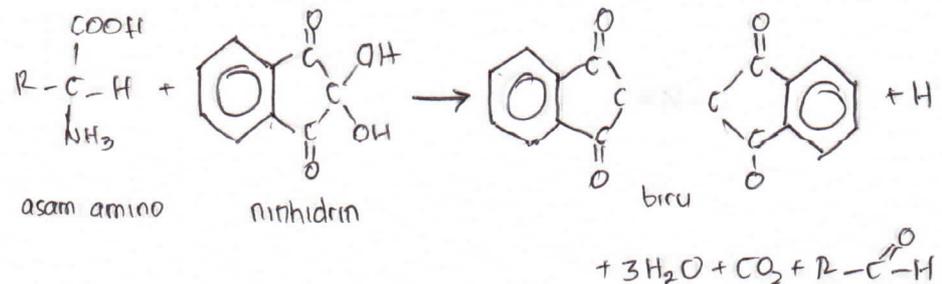
1. Masukkan 1 ml larutan albumin telur ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 1 ml NaOH 10%, kemudian panaskan.
3. Perhatikan bau amonia yang terjadi dan ujilah uapnya dengan kertas lakmus merah yang telah dibasahi aquades.

4. Terbentuknya bau amonia menunjukkan adanya N.
 5. Ulangi percobaan menggunakan serbuk gelatin.
- C. Uji Adanya Atom S
1. Masukkan 1 ml albumin telur ke dalam tabung reaksi.
 2. Tambahkan 1 ml NaOH 10%, kemudian panaskan.
 3. Tambahkan 4 tetes larutan Pb-asetat 5%.
 4. Bila larutan menghitam, berarti PbS terbentuknya. Kemudian, tambahkan 4 tetes HCl pekat dengan hati-hati.
 5. Perhatikan bau khas belerang dari belerang yang teroksidasi.
 6. Ulangi percobaan menggunakan serbuk gelatin.

4. UJI NINHIDRIN

Tujuan : Membuktikan adanya asam amino bebas dalam protein.

Dasar : Semua asam amino atau peptida yang mengandung asam α -amino bebas akan bereaksi dengan ninhidrin membentuk senyawa kompleks berwarna biru. Namun, prolin dan hidroksiprolin menghasilkan senyawa berwarna kuning.



Bahan dan Alat :

1. Larutan albumin 2%, gelatin 2%, kasein 0,5%, dan pepton 0,5%.
2. Pereaksi ninhidrin 0,1%
3. Alat pemanas atau penangas air
4. Pengatur waktu
5. Pipet ukur atau tetes

Cara Kerja :

1. Sediakan 4 tabung reaksi yang bersih, lalu masing-masing isilah dengan larutan albumin, gelatin, kasein, dan pepton sebanyak 2 ml.
2. Tambahkan 5 tetes pereaksi ninhidrin pada setiap tabung.
3. Kemudian, panaskan di atas penangas air hingga mendidih selama 5 menit.
4. Amati perubahan warna yang terjadi.

5. UJI HOPKINS-COLE

Tujuan : Mendeteksi adanya gugus triptofan pada protein.

Dasar : Reaksi Hopkins-Cole ditandai dengan terjadinya cincin ungu pada bidang batas, karena terjadinya kondensasi dua inti indol dari triptofan dengan aldehida (misalnya asam glioksalat). Reaksi ini positif untuk protein yang mengandung triptofan.

Bahan dan Alat : 1. Albumin, kasein, gelatin
2. Formaldehida encer
3. Reagen merkuri sulfat (HgSO_4), H_2SO_4 pekat
4. Pipet tetes, pipet volume, tabung reaksi

Cara Kerja : 1. Masukkan 2 ml larutan protein ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 1 tetes larutan formaldehida encer (diencerkan 500 kali).
3. Tambahkan 1 tetes reagen merkuri sulfat. Gojok.
4. Tambahkan 1 ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung perlahan-lahan, sehingga terbentuk dua lapisan cairan.
5. Diamkan beberapa saat, maka akan terbentuk lingkaran ungu pada batas kedua cairan tersebut. Jika digojok, seluruh larutan akan berwarna ungu. Reaksi positif untuk senyawa-senyawa yang mengandung gugus triptofan.
6. Lakukan terhadap albumin, kasein, dan gelatin.

6. UJI SANTOPROTEIN

- Tujuan** : Mendeteksi adanya protein yang mengandung asam amino dengan inti benzen.
- Dasar** : Reaksi santoprotein positif ditandai dengan terjadinya warna kuning setelah penambahan HNO_3 dan dipanaskan. Pada penambahan alkali akan memberikan warna oranye. Reaksi ini terjadi karena adanya inti benzen (cincin fenil). Karena itu reaksi ini positif untuk protein yang mengandung asam amino dengan inti benzen misalnya tirosin, fenilalanin, dan triptofan.
- Bahan dan Alat** :
1. Gelatin, kasein, fenol 2%
 2. HNO_3 pekat
 3. NH_4OH atau NaOH pekat
 4. Tabung reaksi
 5. Pipet tetes
 6. Penangas air
- Cara Kerja** :
1. Masukkan 2 ml larutan protein ke dalam tabung reaksi.
 2. Tambahkan 1 ml larutan HNO_3 pekat. Terbentuk endapan putih.
 3. Panaskan dengan penangas air, maka larutan akan menjadi kuning. Dinginkan.
 4. Bagi menjadi dua tabung. Salah satu tabung diberi amoniak (NH_4OH atau NaOH pekat), maka akan berwarna kuning tua atau oranye. Reaksi positif untuk asam amino yang mengandung inti benzen.
 5. Lakukan terhadap gelatin, kasein, dan fenol 2%.

7. UJI PENGENDAPAN PROTEIN DENGAN LOGAM DAN ASAM ORGANIK

- Tujuan** : Mengetahui pengaruh logam berat dan asam organik terhadap sifat kelarutan protein.
- Dasar** : Sebagian besar protein dapat diendapkan dengan penambahan asam-asam organik seperti asam pikrat, asam trikloroasetat, dan asam sulfosalisilat. Penambahan asam-asam menyebabkan terbentuknya garam proteinat yang tidak larut. Kemudian protein dapat pula mengalami denaturasi irreversibel dengan adanya logam-logam berat seperti Cu^{2+} , Hg^{2+} , atau Pb^{2+} , sehingga mudah mengendap.
- Bahan dan Alat** :
1. Albumin telur
 2. Asam trikloroasetat (TCA) 10%
 3. Asam sulfosalisilat 5%
 4. Larutan HgCl_2 5%
 5. Larutan CuSO_4 5%
 6. Larutan Pb-asetat 5%
 7. Tabung reaksi
 8. Pipet ukur atau tetes
- Cara Kerja** :
1. Sediakan 5 tabung reaksi yang bersih, masing-masing isilah dengan 2 ml larutan albumin telur.
 2. Pada tabung 1, 2, 3, 4, dan 5, berturut-turut tambahkan 10 tetes larutan asam trikloroasetat 10%, asam sulfosalisilat 5%, CuSO_4 5%, HgCl_2 5%, dan Pb-asetat 5%.
 3. Kocoklah setiap tabung dan amati perubahan yang terjadi.

8. UJI PENGENDAPAN PROTEIN DENGAN LARUTAN GARAM PEKAT

Tujuan : Memperlihatkan bahwa protein dapat dipisahkan satu dari yang lain, dengan menggunakan larutan garam divalen konsentrasi tinggi.

Dasar : Untuk larut dalam air, suatu molekul harus dapat berinteraksi dengan molekul air dengan cara membentuk ikatan hidrogen sehingga molekul tersebut tersebar rata di antara molekul-molekul air. Adanya muatan listrik pada molekul terlarut sangat membantu kelarutan, karena muatan yang sama saling menjauhi, sehingga agregasi molekul tidak terjadi.

Protein merupakan makromolekul karena memiliki BM (berat molekul) besar. Pada umumnya, protein mudah larut dalam air karena protein mempunyai kedua sifat berikut. Gugus -CO- dan -NH- yang ada pada ikatan peptida dapat berinteraksi dengan molekul air melalui ikatan hidrogen, sedangkan berbagai rantai samping, yang di antaranya ada yang hidrofilik, bahkan juga bermuatan, sangat mudah berinteraksi dengan molekul air. Selain itu, muatan listrik yang sama dalam 2 partikel molekul protein yang sama, akan bertolakan, sehingga membantu meningkatkan kelarutan protein (*salting in*).

Setiap keadaan yang menyebabkan ditariknya air yang mengelilingi molekul protein, sangat mengurangi kelarutan protein, sehingga protein mengendap. Larutan garam berkonsentrasi tinggi bersifat demikian. Selain itu, larutan garam berkonsentrasi tinggi akan menetralkan muatan listrik, sehingga kelarutan akan makin berkurang.

Oleh karena pengendapan dengan cara ini hanya bersifat menarik air di sekeliling protein, sedangkan molekul protein sendiri tidak mengalami perubahan kimia, maka perubahan tersebut bersifat reversibel. Kelarutan dan fungsi protein pada umumnya akan pulih kembali bila dikembalikan ke keadaan semula.

Larutan garam divalen lebih efisien dalam mengendapkan protein, karena di dalam air garam tersebut akan berdisosiasi menjadi 3 ion, yang masing-masing berinteraksi sempurna dengan air. Sebagai contoh, globulin dapat diendapkan oleh $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ setengah jenuh, sedangkan NaCl baru dapat mengendapkan protein tersebut bila berada dalam larutan jenuh. Albumin, yang baru akan mengendap oleh $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ jenuh, tidak dapat diendapkan oleh NaCl jenuh, kecuali dengan penambahan asam mineral dalam jumlah yang sangat kecil.

- Bahan dan Alat** :
1. Serum sapi
 2. Larutan ammonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ jenuh
 3. Larutan NaOH 10%
 4. Larutan CuSO_4 0,3%

- Cara Kerja** :
1. Sediakan 3 tabung reaksi yang bersih.
 2. Pada tabung 1 masukkan 2 ml serum sapi. Tambahkan 2 ml ammonium sulfat jenuh tetes demi tetes.
 3. Amati apakah terbentuk endapan atau tidak.
 4. Pisahkan endapan dengan menyaring.
 5. Lakukan uji biuret terhadap filtrat dan endapan.

9. PEMISAHAN PROTEIN DENGAN ETANOL ABSOLUT

Tujuan : Menunjukkan bahwa protein dapat dipisahkan dengan mengendapkannya dengan penambahan etanol absolut.

Dasar : Etanol absolut bersifat sangat kuat menarik air (**higroskopis**). Penambahan etanol absolut pada suatu larutan protein, akan menyebabkan molekul air yang berinteraksi dengan molekul protein melalui ikatan hidrogen ditarik oleh etanol. Akibatnya molekul-molekul protein beragregasi satu sama lain sehingga mengendap. Bila agregat partikel protein tersebut dibiarkan bersentuhan dengan etanol untuk waktu yang lama endapan yang terbentuk tidak dapat dilarutkan lagi sehingga denaturasi yang terjadi **ireversibel**.
Dengan menggunakan etanol berbagai konsentrasi dan suhu yang rendah, Cohn pada tahun empat puluhan telah berhasil memisahkan protein serum dalam 5 fraksi, dan fraksi V yang diperoleh sebagian besar terdiri atas albumin.

Bahan dan Alat : 1. Serum
2. Larutan albumin telur
3. Etanol absolut
4. Larutan NaOH encer
5. Larutan CuSO_4

Cara Kerja : 1. Sediakan 3 tabung reaksi yang bersih.
2. Pada tabung 1 masukkan 2 ml serum sapi dan 2 ml larutan albumin telur pada tabung 2.
3. Tambahkan 2 ml etanol absolut pada masing-masing tabung.
4. Amati apakah terbentuk endapan atau tidak.
5. Pisahkan endapan dengan menyaring.
6. Lakukan uji biuret terhadap filtrat dan endapan.

VITAMIN

Vitamin tidak dapat menghasilkan energi dan tidak dapat disintesis tubuh, sehingga harus diperoleh dari luar tubuh dalam bentuk bahan makanan. Vitamin merupakan senyawa organik yang memegang peranan penting dalam fungsi tubuh. Setiap vitamin memiliki fungsi spesifik, jumlah yang diperlukan setiap hari relatif sedikit, hanya berkisar antara beberapa mikrogram hingga beberapa miligram. Vitamin umumnya berperan sebagai koenzim dalam metabolisme tubuh, sehingga kekurangan vitamin menyebabkan terganggunya proses-proses biokimia dalam tubuh. Berdasarkan kelarutannya, vitamin dibedakan menjadi dua golongan yaitu vitamin yang larut dalam lemak (yaitu vitamin A, D, E, dan K) dan vitamin yang larut dalam air (yaitu vitamin B kompleks dan C).

1. UJI VITAMIN C

Tujuan : Mengetahui sifat mereduksi vitamin C.

Dasar : Vitamin C di alam terdapat baik dalam bentuk reduksi (asam L-askorbat) dan oksidasi (asam dehidroaskorbat). Keduanya sama-sama aktif. Fungsi utama vitamin C adalah mempertahankan keadaan zat-zat interseluler dalam jaringan kartilago, gigi, dan tulang. Defisiensi vitamin C menyebabkan penyakit scorbut, dengan tanda-tanda pendarahan pada gusi dan tulang, gigi goyah, dan tulang mudah patah. Vitamin C memiliki daya reduksi sehingga positif untuk reagen Benedict.

A. UJI BENEDICT

Bahan dan Alat :

1. Larutan asam askorbat 1%
2. Reagen Benedict
3. Tabung reaksi, pipet tetes
4. Penangas air
5. Stopwatch

- Cara Kerja** : 1. Masukkan 5 ml reagen Benedict ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 8 tetes larutan asam askorbat 1%.
3. Panaskan dalam penangas air selama 5 menit atau panaskan langsung selama 1 menit.
4. Reaksi positif bila terbentuk warna hijau, merah, oranye, merah bata atau endapan merah bata tergantung banyaknya Cu_2O yang terbentuk.

B. OKSIDASI SENYAWA FENOL

- Bahan dan Alat** : 1. Larutan asam askorbat 1%
2. Air
3. Pisang
4. Tabung reaksi
5. Stopwatch

- Cara Kerja** : 1. Ambil 2 potong pisang yang masih segar.
2. Potongan pertama masukkan dalam air, lainnya masukkan dalam asam askorbat 1%.
3. Diamkan 30 menit.
4. Amati perbedaannya dan cari tahu mengapa.

2. UJI VITAMIN A (REAGEN CARR-PRICE)

Tujuan : Mengetahui adanya vitamin A dalam suatu larutan.

Dasar : Vitamin A merupakan suatu alkohol dengan berat molekul tinggi. Vitamin ini memiliki inti β -ionan dan terdapat di dalam jaringan tubuh hewan, terutama di hati dalam bentuk retinol. Vitamin A dapat pula berasal dari provitamin A yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan sebagai karoten atau karotenoid. Dalam tubuh manusia, provitamin A diubah menjadi vitamin A di dalam hati. Vitamin A stabil di bawah atmosfer, tetapi cepat kehilangan aktivitasnya bila dipanaskan dengan adanya oksigen, terutama pada suhu tinggi. Vitamin A dapat rusak bila dioksidasi atau dihidrogenasi.

- Bahan dan Alat** : 1. Minyak ikan
2. Reagen Carr-Price
3. Tabung reaksi
4. Pipet tetes

- Cara Kerja** : 1. Masukkan 2-3 ml reagen Carr-Price (larutan antimon triklorida dalam kloroform) ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 1 ml minyak ikan. Kocok perlahan-lahan. Perhatikan warna yang timbul.
3. Catatan: Vitamin A murni akan memberikan warna biru apabila diberi reagen Carr-Price. Warna biru ini cepat mencapai intensitas maksimum, lalu berubah menjadi coklat-merah. Intensitas warna biru sesuai dengan tingkat kemurnian vitamin A secara kolorimetri.

3. UJI VITAMIN D (REAGEN CARR-PRICE)

- Tujuan** : Mengetahui adanya vitamin D dalam suatu larutan.

- Dasar** : Vitamin D termasuk golongan sterol. Di alam vitamin D terutama terdapat dalam jaringan hewan sebagai 7-dehidroksikolesterol (=kolekalsiferol; provitamin D3) dan ergosterol (=viosterol; ergokalsiferol=provitamin D2). Pengaktifan 7-dehidroksi kolesterol menjadi vitamin D3 dan ergosterol menjadi vitamin D2 dipacu oleh sinar ultraviolet.
- Pada umumnya, vitamin D stabil terhadap pemanasan, asam, dan oksigen. Vitamin D secara lambat dapat didestruksi bila lingkungannya alkalis, terutama bila terdapat udara dan cahaya. Pemanasan dengan hidrogen peroksida tidak merusak vitamin D, tetapi vitamin A akan rusak.

- Bahan dan Alat** : 1. Minyak ikan
2. Reagen Carr-Price
3. Tabung reaksi
4. Pipet tetes

Cara Kerja

- : 1. Masukkan 1 ml minyak ikan ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 1 ml larutan H₂O₂ 5%.
3. Kocok sekitar 1 menit. Panaskan perlahan-lahan (jangan sampai mendidih), hingga tidak ada lagi gelembung udara yang muncul.
4. Dinginkan di bawah air mengalir.
5. Tuangkan beberapa tetes reagen Carr-Price. Perhatikan warna yang timbul.
6. Catatan: Vitamin D murni memberikan warna jingga-kuning apabila diberi reagen Carr-Price. Intensitas warna ini dapat digunakan untuk mengetahui derajat kemurnian vitamin D secara kolorimetri. Vitamin ini tahan terhadap oksidasi.

PENCERNAAN

Makanan yang masuk dalam saluran pencernaan tidak dapat digunakan tubuh apabila tidak diserap aliran pencernaan. Saluran ini hanya mampu menyerap makanan apabila ukuran molekul-molekul lebih kecil, sehingga harus ada proses pemecahan. Pemecahan bahan makanan menjadi bentuk yang dapat diabsorpsi merupakan pekerjaan sistem pencernaan. Pencernaan dilakukan secara mekanis dengan dibantu enzim dan ekresi pencernaan lainnya. Enzim menghidrolisis karbohidrat, protein dan lemak menjadi monomer-monomer yang lebih sederhana. Vitamin dan mineral juga akan diserap. Vitamin yang larut dalam lemak tidak dapat diserap apabila terjadi gangguan pencernaan lemak atau diet tidak mengandung lemak.

PENCERNAAN OLEH EMPEDU

Tujuan : Mengetahui sifat- sifat empedu.

Dasar : Empedu dihasilkan oleh hati dan disimpan di dalam kantong empedu. Kalau pencernaan berlangsung, empedu disekresi ke dalam usus untuk membantu pencernaan dan bercampur dengan getah pankreas. Empedu berupa zat cair kental, rasanya pahit, reaksinya basis. Empedu manusia berwarna kuning emat atau agak coklat edang pada hewan herbivora biasanya berwarna hijau.

1. UJI HAY (PENURUNAN TEGANGAN MUKA)

Bahan dan Alat : 1. Larutan empedu
2. Air
3. Serbuk belerang
4. Tabung reaksi

Cara Kerja : 1. Sediakan 2 tabung reaksi yang bersih dan kering.
2. Isi tabung pertama dengan air dan tabung kedua dengan larutan empedu encer.
3. Taburkan serbuk belerang di atas permukaan cairan.
4. Amati keadaan serbuk itu.

2. UJI GMELIN (PIGMEN-PIGMEN EMPEDU)

Bahan dan Alat : 1. Larutan empedu encer
2. HNO₃ pekat
3. Tabung reaksi
4. Pipet ukur

Cara Kerja : 1. Masukkan 3 ml HNO₃ pekat ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan dengan hati-hati 1 ml larutan empedu encer melalui dinding tabung sehingga terjadi 2 lapisan.
3. Catatlah warna yang timbul pada bidang batas lapisan tadi (hijau, biru, ungu, dan merah).

AIR SUSU

Air susu merupakan satu-satunya makanan bayi, sehingga secara biokimia komposisinya sangat menarik karena mengandung semua senyawa yang diperlukan bagi pertumbuhan dan kesehatan bayi, kecuali vitamin D dan besi. Komposisi air susu banyak dipengaruhi oleh perbedaan jenis (spesies), periode laktasi dan lingkungan hidup manusia atau mamalia lain yang menghasilkannya. Hormon laktogenik yang disebut prolaktin berpengaruh terhadap laktasi pada betina.

Secara umum, air susu mengandung protein, lipida, karbohidrat, vitamin, dan senyawa-senyawa anorganik. Komposisi air susu ini bervariasi pada setiap spesies yang berbeda.

SIFAT UMUM AIR SUSU

Tujuan : Mengetahui sifat-sifat air susu.

1. PENGAMATAN BUTIR-BUTIR LEMAK

Bahan dan Alat : 1. Susu segar dan susu kental
2. Mikroskop
3. Gelas benda dan penutup

Cara Kerja : 1. Sediakan 2 gelas benda beserta penutupnya.
2. Letakkan masing-masing 1 tetes air susu segar/murni (*whole milk*) dan susu kental (*evaporated milk*) pada kedua gelas benda. Tutup dengan gelas penutup.
3. Amati di bawah mikroskop. Bandingkan bedanya.
4. Perhatikan adanya butir-butir lemak kecil yang tersuspensi dalam plasma. Jika didiamkan bola lemak ini akan mengapung membentuk *room*.
5. Bandingkan bentuk, kerapatan, dan ada tidaknya *room* pada keduanya.

2. PENGUKURAN pH

- Bahan dan Alat** :
1. Air susu segar
 2. Kertas lakmus atau pH meter
 3. Tabung reaksi
 4. Pipet ukur

- Cara Kerja** :
1. Masukkan 10 ml air susu segar ke dalam tabung reaksi.
 2. Ukurlah pH-nya dengan kertas lakmus atau pH meter.
 3. Biarkanlah sekitar 30 menit, kemudian ukur lagi pH-ya.
 4. Perhatikan proses pengasaman, dari air susu segar ber-pH netral menjadi asam karena bakteri yang mampu menghidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa, selanjutnya menjadi asam laktat.

KASEIN DALAM AIR SUSU

- Tujuan** : Mengetahui sifat- sifat kasein air susu.

1. PENGENDAPAN KASEIN

- Bahan dan Alat** :
1. Susu segar
 2. Asam asetat 2%
 3. Pipet ukur
 4. Kertas saring

- Cara Kerja** :
1. Masukkan 10 ml air susu segar ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 10 ml air.
 2. Tambahkan asam asetat 2% tetes demi tetes sambil diaduk, hingga terjadi gumpalan dan endapan kasein yang mengandung lemak.
 3. Pisahkanlah endapan dari filtratnya dengan kertas saring. Gunakanlah untuk percobaan berikutnya.

2. UJI SIFAT PENGENDAPAN KASEIN

- Bahan dan Alat** :
1. Air susu segar
 2. Kertas lakmus atau pH meter
 3. Tabung reaksi
 4. Pipet ukur

- Cara Kerja** :
1. Ambil sebagian endapan dari percobaan sebelumnya untuk pengujian reaksi warna, antara lain Millon-Nasse, Hopkins-Cole, santoprotein, ninhidrin, Uji sulfat, dan uji NH_3 .
 2. Lakukan pula uji fosfat dan uji grease spot (uji noda lemak) terhadap endapan tersebut.

ENZIM

Enzim adalah golongan protein yang paling banyak terdapat dalam sel hidup. Sekarang, kira-kira lebih dari 2.000 enzim telah teridentifikasi, yang masing-masing berfungsi sebagai katalisator reaksi kimia dalam sistem hidup. Sintesis enzim terjadi di dalam sel dan sebagian besar enzim dapat diperoleh dengan ekstraksi dari jaringan tanpa merusak fungsinya.

Sebagai katalisator, enzim berbeda dengan katalisator anorganik dan organik sederhana yang umumnya dapat mengatalisis berbagai reaksi kimia. Enzim mempunyai spesifitas yang sangat tinggi, baik terhadap reaktan (substrat) maupun jenis reaksi yang dikatalisirkan. Pada umumnya, suatu enzim hanya mengatalisis satu jenis reaksi dan bekerja pada suatu substrat tertentu. Kemudian, enzim dapat meningkatkan laju reaksi yang luar biasa tanpa pembentukan produk samping dan molekul berfungsi dalam larutan encer pada keadaan biasa (fisiologis) tekanan, suhu, dan pH normal. Hanya sedikit katalisator nonbiologi yang dilengkapi sifat-sifat demikian.

Enzim merupakan unit fungsional dari metabolisme sel. Enzim bekerja dengan urutan-urutan yang teratur dan mengatalisis ratusan reaksi dari reaksi yang sangat sederhana seperti replikasi kromosom sampai ke reaksi yang sangat rumit, misalnya reaksi yang menguraikan molekul nutrien, menyimpan, dan mengubah energi kimiawi. Masing-masing reaksi dikatalisis oleh sejenis enzim tertentu. Di antara sejumlah enzim tersebut, ada sekelompok enzim yang disebut enzim pengatur. Enzim dapat mengenali berbagai isyarat metabolis yang diterima. Melalui aktivitasnya, enzim pengatur mengkoordinasikan sistem enzim dengan baik, sehingga menghasilkan hubungan harmonis di antara sejumlah aktivitas metabolis yang berbeda.

Pada keadaan abnormal atau aktivitas berlebihan suatu enzim dapat menimbulkan penyakit. Analisis enzim dalam serum dapat digunakan untuk diagnosis penyakit, seperti: infarkus otot jantung, prostat, hepatitis, dan lain-lain. Ditemukannya suatu enzim dalam darah dengan tingkat berlebihan seringkali menunjukkan adanya kerusakan sel di dalam organ yang sakit. Penyakit tertentu seperti hepatitis terinfeksi menyebabkan jaringan hati mengalami kerusakan akibat infeksi, sehingga terjadi pelepasan enzim hati ke dalam darah.

Semua enzim pada hakikatnya adalah protein. Beberapa di antaranya mempunyai struktur agak sederhana, sedangkan sebagian besar lainnya memiliki struktur rumit. Namun, kebanyakan enzim baru berfungsi sebagai katalis apabila disertai zat lain yang bukan protein, yang disebut kofaktor. Suatu kofaktor dapat berupa ion logam sederhana, seperti Fe^{2+} , atau Cu^{2+} , tetapi dapat pula berupa molekul organik kompleks yang disebut koenzim. Bagian protein dari enzim disebut apoenzim. Kemudian, gabungan apoenzim dan kofaktornya sehingga enzim menjadi aktif disebut holoenzim.

Banyak faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim. Beberapa di antaranya yang penting adalah suhu, pH, konsentrasi enzim, dan konsentrasi substrat.

Klasifikasi Enzim

Berdasarkan jenis reaksi yang dikatalisis, enzim dapat dibagi menjadi 6 golongan utama, yaitu:

1. Oksidoreduktase: kelompok enzim, yang mengerjakan reaksi oksidasi dan reduksi.
2. Transferase: kelompok enzim yang berperan dalam reaksi pemindahan suatu gugus dari suatu senyawa kepada senyawa lain.
3. Hidrolase: kelompok enzim yang berperan dalam reaksi hidrolisis.
4. Liase: kelompok enzim yang mengatalisis reaksi adisi atau pemecahan ikatan rangkap.
5. Isomerase: kelompok enzim yang mengatalisis perubahan konformasi molekul (isomerisasi).
6. Ligase (sintetase): sekelompok enzim yang mengatalisis pembentukan ikatan kovalen.

1. PENGARUH SUHU TERHADAP AKTIVITAS ENZIM

Tujuan : Mengetahui pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim.

Dasar : Pada suhu sangat rendah, aktivitas enzim dapat terhenti secara reversibel. Kenaikan suhu lingkungan akan meningkatkan energi kinetik enzim dan frekuensi tumbukan antara molekul enzim dan substrat, sehingga enzim menjadi aktif.

Pada suhu di mana enzim masih aktif, umumnya kenaikan suhu 10°C menyebabkan kecepatan reaksi enzimatik bertambah 1,1 hingga 3,0 kali lebih besar. Pada suhu optimum, kecepatan reaksi enzimatik berlangsung maksimal. Bila suhu ditingkatkan terus, maka enzim akan mengalami denaturasi, sehingga aktivitas katalitiknya terhenti. Sebagian besar enzim memiliki suhu optimum 30°C sampai 40°C dan mengalami denaturasi secara irreversibel pada pemanasan di atas suhu 60°C .

Bahan dan Alat :

1. Larutan amilum 2%
2. Enzim amilase (saliva)
3. Larutan yodium
4. Reagen Benedict
5. Alat pemanas atau pendingin

6. Tabung reaksi, gelas beker
7. Pipet ukur
8. Stopwatch

- Cara Kerja** :
1. Sediakan 5 tabung reaksi yang bersih dan kering. Masing-masing isilah dengan 2 ml larutan amilum.
 2. Tambahkan 1 ml enzim amilase pada setiap tabung.
 3. Tabung 1, masukkan ke dalam gelas beker yang berisi es.
 4. Tabung 2, simpan pada suhu kamar.
 5. Tabung 3, masukkan ke dalam penangas air dengan suhu 37-40°C.
 6. Tabung 4, masukkan ke dalam penangas air dengan suhu 75-80°C.
 7. Tabung 5, masukkan dalam penangas air mendidih.
 8. Biarkan masing-masing tabung pada tempatnya selama 15 menit.
 9. Selanjutnya uji dengan larutan yodium.
 10. Uji pula dengan pereaksi Benedict.
 11. Catat dan amati perubahan warna yang terjadi.

2. PENGARUH pH TERHADAP AKTIVITAS ENZIM

- Tujuan** : Mengetahui pengaruh pH terhadap aktivitas enzim.

- Dasar** : Enzim bekerja pada kisaran pH tertentu dan umumnya tergantung pada pH lingkungannya. Enzim menunjukkan aktivitas maksimal pada pH optimum, umumnya antara pH 6-8. Jika pH rendah atau tinggi, maka dapat menyebabkan enzim mengalami denaturasi, sehingga menurunkan aktivitasnya. Terjadinya penurunan aktivitas enzim dapat dilihat dari hasil hidrolisis substrat yang dikatalisis. Misalnya amilum terhidrolisis menjadi maltosa atau glukosa. Hasil hidrolisis dapat dibuktikan dengan uji Benedict. Bila positif, berarti amilum terhidrolisis, sehingga dapat diasumsikan enzim memiliki aktivitas tinggi. Sebaliknya bila negatif, berarti amilum tidak terhidrolisis karena enzim tidak aktif atau mengalami penurunan aktivitas.

- Bahan dan Alat** : 1. Larutan amilum 2%
2. Enzim amilase
3. Larutan HCl 0,4% (pH 1), akuades (pH 7), dan Na₂CO₃ 1% (pH 9)
4. Larutan yodium
5. Reagen Benedict
6. Tabung reaksi
7. Penangas air, stopwatch
8. Pipet ukur

- Cara Kerja** : 1. Sediakan 3 tabung reaksi yang bersih, kemudian isilah tabung pertama dengan 2 ml larutan HCl 0,4%; tabung kedua dengan 2 ml akuades; dan tabung ketiga dengan 2 ml Na₂CO₃ 1%.
2. Ke dalam setiap tabung, tambahkan 2 ml larutan amilum dan 1 ml enzim.
3. Campurlah sampai homogen, kemudian biarkan selama 15 menit.
4. Selanjutnya uji dengan larutan yodium dan pereaksi Benedict.
5. Amati dan catat perubahan warna yang terjadi.

3. PEMECAHAN UREA OLEH UREASE

- Tujuan** : Membuktikan adanya enzim urease dalam suspensi kedelai.

- Dasar** : Substrat urea oleh enzim urease di dalam suspensi kedelai akan diuraikan menjadi amonia (NH₃) dan gas karbondioksida (CO₂). Senyawa amonia yang dihasilkan bersifat basa, sehingga pH larutan menjadi naik. Akibatnya, fenolptalein dalam larutan yang semula tidak berwarna berubah menjadi merah muda. Aktivitas enzim urease dapat dihambat oleh inhibitor logam berat, seperti Hg²⁺ atau Pb²⁺, dan rusak pada pemanasan 100°C.

- Bahan dan Alat** : 1. Tepung kedelai
2. Urine
3. Akuades
4. Asam asetat 2%
5. Tabung reaksi
6. Bunsen

Cara Kerja

- : 1. Sediakan 2 tabung reaksi yang bersih dan kering. Isil tabung pertama dengan 2 ml urine yang telah disaring. Tabung kedua diisi 2 ml akuades.
2. Tambahkan 1 tetes fenol merah pada setiap tabung.
3. Tambahkan asam asetat 2% sampai warna tepat kuning jerami.
4. Panaskan hingga suhu mencapai sekitar 60°C, dimana tabung masih dapat dipegang tangan.
5. Tambahkan sedikit tepung kedelai pada masing-masing tabung. Kocok.
6. Diamkan beberapa lama. Apa yang terlihat? Bagaimana proses pemecahan urea oleh urease?

URINE

Urine merupakan cairan sisa-sisa metabolisme tubuh. Komposisi utama urine adalah air, disamping itu terlarut pula beberapa jenis mineral dan garam, bahkan pada penderita penyakit tertentu, senyawa-senyawa yang masih dibutuhkan dalam proses metabolisme ikut disekresikan bersama dengan urine, baik karbohidrat, protein, maupun lemak. Urin dibentuk oleh ginjal. Ginjal merupakan organ yang sangat khusus dengan 2 fungsi utama yaitu mengeliminasi sisa-sisa metabolisme dalam bentuk larutan serta mempertahankan homeostasis cairan tubuh.

Dalam keadaan normal pada orang dewasa akan dibentuk 1200 - 1500 ml urin dalam satu hari. Secara fisiologis maupun patologis volume urin dapat bervariasi. Pembentukan urin dipengaruhi oleh cairan yang masuk dan jenis makanan. Diet tinggi protein akan meningkatkan pembentukan urin sebab urea yang terbentuk pada proses metabolisme protein mempunyai efek diuretik. Pada suhu lingkungan tinggi, volume urin berkurang. Volume urin yang diperlukan untuk mengekskresi produk metabolisme tubuh adalah 500 mL.

Poliuria (volume urin meningkat) ditemukan pada berbagai keadaan. Pada diabetes insipidus, akibat tidak adanya hormon anti diuretik, volume urin tiap hari dapat mencapai 10 - 20 L. Pada diabetes melitus, volume urin dapat mencapai 5 - 6 L dalam 1 hari. Sedangkan oligouria (volume urin berkurang) ditemukan pada keadaan demam, nefritis akut, glomerulonefritis kronis, gangguan hari akut, diare dan gagal jantung. Anuria (tidak terbentuk urin) pada suatu periode tertentu dapat terjadi pada keadaan syok, nefritis akut, keracunan air raksa atau batu ginjal.

Pada keadaan normal, urin yang dibentuk berwarna kuning muda dan jernih dengan bau khas dan juga turut dipengaruhi oleh jenis makanan. Berat jenis urin 24 jam adalah 1,003-1,030, pH bersifat asam (pH 6,0) dan sangat bervariasi antara 4,9 sampai 8,0.

Kandungan zat padat dalam urin 24 jam antara lain klorida sebagai NaCl : ± 10 g; Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ dan yodium: sedikit; urea: $\pm 20 - 30$ g; kreatinin : 1,5 g dan kreatin; amonia: 0,7 g; asam urat: 0,7 g; sulfat, fosfat, oksalat, asam-asam amino, allantoin, mineral, vitamin, hormon, dan enzim.

Pada keadaan abnormal dapat ditemukan protein, glukosa, benda-benda keton (asam asetoasetat, betahidroksibutirat, aseton), dan berbagai senyawa lain, seperti billirubin dan garam-garam kolat, darah, porfirin, dan indikan yang dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis penyakit tertentu.

1. GLUKOSA DALAM URINE

Tujuan : Menentukan kadar glukosa urin secara semikuantitatif (uji Benedict semikuantitatif).

Dasar : Gugus aldehida atau keton bebas gula akan mereduksi kuprioksida dalam pereaksi Benedict menjadi kuprooksida yang berwarna.
Adanya glukosa dalam urin dapat dinyatakan berdasarkan sifat glukosa yang dapat mereduksi ion-ion logam tertentu dalam larutan alkalis. Uji ini tidak spesifik terhadap glukosa, gula lain yang mempunyai sifat mereduksi dapat juga memberi hasil yang positif. Dengan uji ini dapat diperkirakan secara kasar (semikuantitatif) kadar gula dalam urin.

Bahan dan Alat : 1. Urin normal
2. Larutan glukosa 0,3%, 1%, dan 5%
3. Pereaksi Benedict

Cara Kerja : 1. Sediakan 4 tabung reaksi yang bersih dan kering. Masing-masing isilah dengan 2,5 ml pereaksi Benedict.
2. Tabung 1, masukkan 4 tetes urine.
Tabung 2, masukkan 4 tetes glukosa 0,3%.
Tabung 3, masukkan 4 tetes glukosa 1%.
Tabung 4, masukkan 4 tetes glukosa 5%.
3. Panaskan dalam penangas air mendidih selama 5 menit atau, dididihkan di atas api kecil selama 1 menit. Biarkan dingin perlahan-lahan.
4. Endapan berwarna hijau, kuning atau merah menandakan reaksi positif, sedangkan perubahan warna larutan saja tidak berarti reaksi positif.
Kadar glukosa dapat diperkirakan berdasarkan tabel berikut.

Warna	Penilaian	Kadar
Biru jernih	Negatif	0
Hijau/kuning hijau	+	< 0,5%
Kuning/kuning kehijauan	++	0,5 – 1,0%
Jingga	+++	1,0 – 2,0%
Merah	++++	> 2,0%

2. PROTEIN DALAM URINE

Tujuan : Menentukan ada tidaknya protein dalam urin.

Dasar : Adanya protein dalam urine umumnya diketahui melalui reaksi pengendapan (presipitasi). Pengendapan menyebabkan urine menjadi keruh, sehingga untuk mengetahui adanya presipitasi urine harus dijernihkan lebih dahulu dengan penyaringan. Adanya protein dalam urine dapat diketahui dengan beberapa percobaan berikut.

2.1. UJI HELLER

Bahan dan Alat : 1. Urine
2. Asam nitrat pekat
3. Kertas saring
4. Tabung reaksi

Cara Kerja : 1. Saringlah urine dengan kertas saring.
2. Isilah tabung reaksi dengan 3 ml HNO_3 (asam nitrat) pekat.
3. Tambahkan dengan hati-hati 3 ml urine jernih sehingga membentuk lapisan terpisah. Terbentuknya cincin putih menyatakan adanya protein.
4. Pereaksi dapat dimodifikasi dengan asam nitrat pekat dan Mg-sulfat jenuh.
5. Urine pekat, asam urat, garam-garam urat, dan urea juga dapat menyebabkan terbentuknya cincin putih. Untuk itu percobaan dapat diulang memakai urine yang telah diencerkan 3-4 kali, sehingga gangguan oleh zat-zat tersebut dapat dinafikan.

2.2. UJI REBUS

- Bahan dan Alat** : 1. Urine
2. Asam asetat 2%
3. Kertas saring
4. Tabung reaksi
5. Bunsen

- Cara Kerja** : 1. Saringlah urine dengan kertas saring.
2. Periksa pH urine. Jika bersifat basa, tambahkan beberapa tetes asam asetat encer sehingga pHnya netral.
3. Ambil 2 tabung reaksi, isi masing-masing dengan 5 ml urine. Tabung pertama direbus di atas api sedangkan tabung kedua dibiarkan sebagai kontrol. Amati bahwa pada tabung yang direbus urine menjadi keruh.
4. Tambahkan asam asetat encer pada tabung yang direbus. Jika tetap keruh, maka kekeruhannya disebabkan adanya protein. Jika kekeruhannya disebabkan garam-garam fosfat, maka akan terjadi pengendapan namun kemudian urine kembali menjadi jernih.
5. Bandingkan antara tabung yang dipanaskan dan tabung kontrol agar jelas terjadinya pengeruhan atau tidak.

3. PIGMEN EMEDU DALAM URINE (UJI GMELIN)

- Tujuan** : Menentukan ada tidaknya pigmen empedu dalam urin.

- Dasar** : Billirubin dan garam-garam kolat terdapat sebagai akibat sumbatan saluran empedu, sehingga empedu banyak masuk ke dalam darah dan disekresikan lewat urine, sehingga urine berwarna seperti air teh. Di jaringan-jaringan subkutan dapat tertimbun pigmen ini dan keadaan ini disebut ikterus. Adanya bilirubin dapat dibuktikan dengan reaksi Gmelin dan adanya garam-garam kolat dibuktikan dengan uji Hay.

- Bahan dan Alat** : 1. Urine
2. Asam nitrat pekat
3. Kertas saring
4. Tabung reaksi

- Cara Kerja** : 1. Saringlah urine dengan kertas saring.
2. Isilah tabung reaksi dengan 2 ml HNO_3 (asam nitrat) pekat.
3. Tambahkan dengan hati-hati 2 ml urine jernih sehingga membentuk lapisan terpisah.
4. Amati perubahan warna yang terjadi.
5. Reaksi positif ditunjukkan oleh adanya perubahan warna dimulai dengan hijau, berubah menjadi biru, ungu, merah, dan jingga.

4. ASAM URAT DALAM URINE (UJI BENEDICT)

- Tujuan** : Menentukan ada tidaknya asam urat dalam urin.

- Dasar** : Asam urat merupakan hasil akhir oksidasi purin dalam tubuh, berasal dari nukleoprotein sel tubuh. Asam urat mempunyai kelarutan yang kecil dalam air tetapi larut dalam garam alkali. Pengeluaran asam urat naik dalam leukimia, penyakit hati, dan penyakit gout. Dengan arseno-fosfotungstat natrium sianida memberikan warna biru dan ini merupakan dasar penetapan secara kolorimetris menurut Folin. Dapat juga dengan pemberian enzim uricase, asam urat akan dirubah menjadi allantoin.

- Bahan dan Alat** : 1. Urine
2. Asam nitrat pekat
3. Kertas saring
4. Tabung reaksi

- Cara Kerja** : 1. Masukkan 2 ml urine ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan beberapa tetes reagen Benedict untuk asam urat (arsenofosfowolframat) dan sedikit Na_2CO_3 anhidrid. Campur. Akan terjadi warna biru.
3. Catatan: warna biru yang muncul juga dapat digunakan untuk mengetahui kadar asam urat secara kuantitatif dengan kolorimetri.

DAFTAR PUSTAKA

- Girindra, A. 1993. Biokimia I. Gramedia. Jakarta
- Hawab, M., M. Bintang, dan E. Kustaman. 1989. Petunjuk Praktikum Biokimia lanjutan. PAU IPB. Bogor
- Lehninger, A.L. 1982. Dasar-Dasar Biokimia. Erlangga. Jakarta
- Murray, R.K. et al. 1992. Harper's Biochemistry. 23th ed. Appleton and Lange. California
- Setyawan, A. D. dan Sutarno. 2003. Petunjuk Praktikum Biokimia. Jurusan Biologi UNS. Surakarta
- Simanjuntak, M. T. dan J. Silalahi. 2007. Penuntun Praktikum Biokimia. Jurusan Farmasi USU. Medan
- Yazid, E. dan L. Nursanti. 2006. Penuntun Praktikum Biokimia untuk Mahasiswa Analis. Penerbit Andi.
Yogyakarta

