

BAB I KARBOHIDRAT

Tujuan Percobaan :

Menentukan senyawa-senyawa karbohidrat secara kualitatif dan kuantitatif

Dasar Teori :

Karbohidrat didefinisikan sebagai senyawa yang unsur-unsurnya terdiri dari karbon (C), hidrogen (H), oksigen (O), dengan perbandingan empiris unsur-unsurnya $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Senyawa karbohidrat dibagi dalam tiga golongan utama yang terdiri dari monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida.

Monosakarida merupakan suatu senyawa polihidroksi aldehid (aldosa) dan polihidroksil keton. Pada umumnya monosakarida bersifat optis aktif, mudah larut dalam air, berupa zat padat putih, bila dipanaskan akan berbau karamel dan mempunyai sifat mereduksi. Contoh dari senyawa monosakarida yaitu glukosa, galaktosa, fruktosa, dan sebagainya. Oligosakarida terdiri dari dua atau lebih monosakarida yang dihubungkan dengan ikatan glikosida. Senyawa tersebut dapat dihidrolisa dalam suasana asam menghasilkan monosakarida. Contoh dari senyawa ini antara lain adalah sukrosa, laktosa, dan maltosa.

Polisakarida merupakan polimer dari monosakarida. Contoh dari monosakarida antara lain amilum, selulosa, dan glikogen. Amilum merupakan zat tepung dalam tumbuhan yang dapat dijumpai pada beras, gandum, maupun umbi-umbian. Amilum terdiri dari amilosa dan amilopektin. Amilosa mengandung 300 unit glukosa dengan ikatan α -1,4 glikosidik, sedangkan amilopektin terdiri dari 1000 unit glukosa yang bergabung membentuk rantai lurus dengan ikatan α -1,6 glikosidik.

Alat :

- Beaker glass
- Tabung reaksi
- Labu ukur
- Pipet ukur

- Bola hisap
- Pipet tetes
- Pemanas air
- Spektrofotometri
- Erlenmeyer
- Corong
- Kertas saring

1.1 Analisa Kualitatif Karbohidrat

Reagen dan Bahan :

- Larutan gula (1 %) terdiri dari :
Glukosa
Laktosa
Sukrosa
- Larutan polisakarida
Pati
- Larutan Fehling (Fehling A 3,5 g CuSO_4 /50 ml, Fehling B terdiri dari campuran : Na-K-Tartarat 17,3 g/ 50 ml dan NaOH 6 g/ 50 ml. Fehling A : B = 1:1)
- Larutan iodin
- Larutan standar glukosa

1.1.1 Uji Fehling

1. Mencampur 1 ml dari masing-masing larutan uji dengan 1 ml larutan fehling pada tabung reaksi
2. Memanaskan dalam air mendidih selama 1 menit
3. Mencatat perubahan warna yang terjadi

1.1.2 Uji Iodin

1. Memipet 1 ml masing-masing larutan gula uji ke dalam tabung reaksi
2. Menambahkan 2 tetes larutan iodin
3. Amati perubahan yang terjadi

1.2 Analisa kuantitatif gula reduksi dengan metode *Dinitro Salicylic Acid* (DNS)

Pembuatan kurva standar

Cara kerja :

Untuk membuat kurva standar terlebih dahulu dibuat larutan glukosa dengan konsentrasi 0, 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm. Setelah itu diambil 1 mL dari masing-masing konsentrasi dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan ke dalam tabung reaksi 1 mL reagen DNS dan dihomogenkan. Ditutup mulut tabung dengan alumunium foil dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5-15 menit sampai larutan berwarna merah-coklat. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan KNa-Tartrat 40 %. Tabung reaksi didinginkan dan ditambahkan dengan aquades hingga volumenya menjadi 10 mL dan dihomogenkan. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

Penetapan kadar gula reduksi dalam sampel :

- Timbang sampel buah 1 g dan diekstrak dengan 20 ml air
- Saring dan masukkan labu ukur 100 ml, tera sampai tanda batas
- Pipet 1 ml larutan jernih sampel dan encerkan sampai 100 ml
- Siapkan 2 tabung reaksi. Masukkan 1 ml aquades (blanko) pada salah satu tabung dan tabung yang lain diisi dengan 1 ml sampel
- Tambahkan masing-masing tabung dengan 1 ml reagen DNS dan dihomogenkan.
- Ditutup mulut tabung dengan alumunium foil dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit sampai larutan berwarna merah-coklat.
- Kemudian ditambahkan 1 mL larutan KNa-Tartrat 40 %.
- Tabung reaksi didinginkan dan ditambahkan dengan aquades hingga volumenya menjadi 10 mL dan dihomogenkan
- Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

Kadar gula reduksi dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Kadar gula reduksi} = \frac{\text{konsentrasi glukosa sampel berdasarkan kurva standar}}{\text{konsentrasi sampel untuk analisa}} \times fp \times 100 \%$$

fp = faktor pengenceran

Tugas :

Tentukan jumlah gula reduksi pada sampel saudara !

Pertanyaan :

1. Apakah tujuan pembuatan kurva standar pada percobaan di atas
2. Sebutkan cara analisa kualitatif dan kuantitatif yang lainnya untuk analisa karbohidrat

BAB II

PROTEIN

Tujuan Percobaan:

Mempelajari sifat protein dan menentukan kadar protein secara kuantitatif.

Dasar Teori:

Protein merupakan komponen utama semua sel hidup. Protein ini berfungsi sebagai pembentuk struktur sel yang menghasilkan hormone, enzim, dll. Ditinjau dari segi kimia protein merupakan suatu senyawa polimer dari asam-asam amino dengan berat molekul yang tinggi. Ditinjau dari unsur yang menyusun protein terdiri atas unsure-unsur C,H,O dan N. Beberapa diantara protein juga mengandung belerang, fosfor dan beberapa logam seperti seng, besi dan tembaga. Banyaknya unsure N dalam suatu bahan pangan merupakan criteria penetapan kadar protein.

Pada umumnya protein mempunyai sifat sebagai senyawa amorf, tidak berwarna, mempunyai titik leleh dan titik didih yang tidak tetap, tak larut dalam pelarut organik dan apabila dilarutkan dalam air membentuk suatu larutan koloid. Protein mudah rusak karena pengaruh panas, penambahan logam dan pengaruh asam atau basa.

Alat :

Reagen Dan Bahan :

2.1 Isolasi Protein dari Bahan Pangan

Isolasi protein dari putih telur:

Campurkan 25 ml putih telur ayam dengan 150 ml aquades, kocok campuran tersebut dengan kuat sehingga diperoleh koloid yang baik, menyaring endapannya dan filtrate yang diperoleh siap digunakan untuk percobaan berikutnya.

2.2 Denaturasi karena Penambahan Asam Asetat

Tepatkanlah 5 ml larutan protein kedalam tabung reaksi dan tambahkan 10 tetes asam asetat 10% sambil dikocok, amati perubahan yang terjadi. Panaskan tabung dalam penangas air selama 5 menit. Amati perubahannya.

2.3 Analisa Kuantitatif Protein

Metode biuret salah satu cara menentukan kadar protein. Dalam larutan basa, Cu^{2+} membentuk kompleks dengan ikatan peptide dan suatu protein menghasilkan warna ungu pada absorbansi maksimum 540 nm.

Reagen dan Bahan:

Reagen beuret larutkan 1.5 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan 6 g Kalium natrium tartrat dengan sedikit air kemudian tambahkan 300 ml NaOH 10%, kocok dan lartkan, diencerkan sampai 1 L larutan.

Analisa kuantitatif protein dengan metode biuret

Metode biuret merupakan salah satu cara terbaik untuk menentukan kadar protein suatu bahan, dalam larutan basa Cu^{2+} akan membentuk kompleks dengan ikatan peptida (-CO-NH-) dari suatu protein yang menghasilkan warna ungu dengan absorbansi maksimum pada 540 nm.

Pereaksi :

- ✓ Pereaksi biuret
- ✓ Larutan protein standar (bovin serum albumin) 5 mg/ml

Cara kerja :

Pembuatan kurva standar

- ✓ Masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 0 (blanko); 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 ml larutan protein standar. Tambahkan air sampai volume total masing-masing 4 ml
- ✓ Tambahkan 6 ml pereaksi biuret ke dalam masing-masing tabung reaksi dan campur merata
- ✓ Diamkan tabung reaksi pada suhu ruang selama 30 menit sampai membentuk warna ungu sempurna

- ✓ Ukur absorbansinya (OD) pada 540 nm
- ✓ Buat kurva standar hubungan antara konsentrasi protein dan OD

Penetapan kadar protein dalam sampel

- ✓ Timbang sampel 1 g dan diekstrak dengan 20 ml air
- ✓ Saring dan masukkan labu ukur 100 ml, tera sampai tanda batas
- ✓ Pipet 1ml larutan sampel dan tambahkan air sampai volume total masing-masing 4 ml
- ✓ Tambahkan 6 ml pereaksi biuret ke dalam masing-masing tabung reaksi dan campur merata
- ✓ Diamkan tabung reaksi pada suhu ruang selama 30 menit sampai membentuk warna ungu sempurna
- ✓ Ukur absorbansinya pada 520 nm
- ✓ Jumlah protein dapat ditentukan berdasarkan kurva standar

Kadar protein dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{kadar protein} = \frac{\text{konsentrasi protein sampel berdasarkan kurva standar}}{\text{konsentrasi sampel untuk analisa}} \times fp \times 100 \%$$

fp = faktor pengenceran

Tugas :

Tentukan kadar protein pada sampel saudara !

BAB III

ENZIM dan UJI AKTIVITASNYA

Tujuan Percobaan:

Mendeteksi mikroorganisme penghasil enzim amilase secara kualitatif dan menguji aktivitas enzimnya.

Dasar Teori:

Makhluk hidup dapat memperoleh dan menggunakan energy dengan cepat disebabkan oleh adanya enzim (biokatalisator). Seperti halnya katalis organik, enzim dapat mempercepat reaksi, tetapi tidak mempengaruhi kesetimbangan akhir, untuk transformasi sejumlah besar molekul hanya diperlukan sejumlah kecil enzim.

Amilase merupakan enzim yang berfungsi memecah pati dan glikogen. Enzim ini banyak terdapat dalam hasil tanaman dan hewan. Disamping itu amilase juga dapat diisolasi dari mikroorganisme, misalnya *Aspergillus oryzae* dan *Bacillus subtilis*. Enzim amilase dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan yaitu: a-amilase, p-amilase dan glukoaminase.

Kerja enzim sangat khusus dan spesifik. Artinya, suatu enzim hanya menjalankan satu fungsi saja. Misalnya adalah enzim a-amilase yang bekerja spesifik di dalam mulut, enzim ini terdapat bersama dengan air liur (saliva), enzim a-amilase berperan dalam melakukan hidrolisis awal makanan terutama yang mengandung pati. Disamping kerjanya sangat spesifik, kerja enzim juga sangat dipengaruhi oleh factor-faktor lain. Diantaranya adalah konsentrasi substrat pH, suhu, kofaktor. Karena organism di alam, termasuk manusia dapat mencerna pati, maka enzim a-Amilase secara alamiah banyak ditemukan, seperti dalam air liur manusia dan system sekresi pancreas.

Alat:

- Beaker glass
- Tabung reaksi
- Cawan petri
- Pipet ukur
- Erlenmeyer

- Pipet tetes
- *Shaker incubator*
- Spektrofotometer

Bahan:

- Larutan iodine
- Kapas
- Media screening bakteri menghasil enzim amilase

Solube starch	1 % (b/v)
Yeast extract	0,2 %
Peptone	0,5 %
MgSO4	0,05 %
NaCl	0,05 %
CaCl2	0,015 %
Agar	2 %

Prosedur:

1. Deteksi produksi enzim amilase oleh bakteri secara kualitatif

- Goreskan isolate bakteri penghasil amilase pada media screening yang telah ditentukan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam
- Koloni yang mampu menghasilkan amilase akan membentuk zona bening disekitar biakan dengan penambahan larutan iodine
- Amati perubahan warna yang terjadi

2. Uji aktivitas enzim amilase

Aktifitas amilase diukur dengan penentuan Gula reduksi menggunakan metode DNS (asam 3,5 dinitrosalisilat), dimana 1 unit amilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang reaksinya menghasilkan produk setara dengan 1 μ mol glukosa per menit pada kondisi tertentu.

Preparasi enzim amilase kasar (*crude enzyme*) :

- Ambil 1 ose bakteri dan masukkan ke dalam 100 mL media produksi amilase.
- Inkubasi pada shaker incubator selama 18 jam pada 300C.
- Biomassa dipisahkan dengan sentrifugasi dingin pada suhu 4oC 5000 rpm selama 10 menit. Filtrat yang terpisah merupakan enzim amilase kasar.

Uji aktivitas enzim :

- a) Siapkan 4 tabung reaksi dan diberi label.
- b) Pipet 1 ml enzim amilase kasar dan masukkan dalam 3 buah tabung reaksi sedangkan 1 tabung reaksi diisi dengan aquades 1 ml sebagai blanko.
- c) Tambahkan 1 ml larutan substrat (1% soluble starch dalam buffer pH 4, 6 dan 10) dan 1 ml aquades untuk blanko, tutup mulut tabung dengan alumunium foil.
- d) Inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit.
- e) Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 ml reagen asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS) kemudian dikocok dengan vortex.
- f) Dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit sampai larutan berwarna merah-coklat.
- g) Kemudian ditambahkan 1 mL larutan KNa-Tartrat 40 %. Tabung reaksi didinginkan dan ditambahkan dengan aquades hingga volumenya menjadi 10 mL dan dihomogenkan.
- h) Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.
- i) Kurva standar glukosa dibuat pada kisaran konsentrasi glukosa 200 - 1000 ppm dengan selang 2 ppm. (data sudah disediakan).
- j) Jumlah gula reduksi yang dihasilkan dari reaksi enzimatik ditentukan berdasarkan persamaan kurva standar.
- k) Aktivitas enzim amilase kasar dihitung dengan rumus berikut :

$$AE = \frac{C}{BM \text{ glukosa} \times t} \times \frac{H}{E}$$

Dimana:

AE	= Aktifitas enzim (Unit/mL)
C	= Konsentrasi glukosa
BM	= Berat Molekul Glukosa = 180 g/mol
t	= Waktu Inkubasi (menit)
H	= Volume total enzim-substrat (mL)
E	= Volume enzim (mL)

Pertanyaan :

Bagaimana prinsip kerja enzim amilase pada substrat pati dan produk apa saja yang dihasilkan dari reaksi tersebut ?

Tugas :

Tentukan aktivitas enzim amilase yang didapatkan pada berbagai kondisi reaksi dengan pH 4, 6 dan 10 !

BAB IV

MINYAK & LEMAK

Tujuan Percobaan:

Mengetahui sifat lemak-minyak dan menentukan kadar asam lemak bebas pada minyak

Dasar Teori:

Lemak dan minyak merupakan lipida sederhana. Kegunaan bahan ini dalam kehidupan sehari-hari cukup luas, seperti digunakan sebagai bahan penggorengan, bahan pengencer cat dan lain-lain. Dari segi kimia lipida dapat dipandang sebagai senyawa turunan ester dari gliserol dan asam-asam lemak tinggi. Minyak pada umumnya diperoleh dari bahan tumbuhan maupun hewan. Minyak dari tumbuhan dikenal dengan minyak nabati, sedangkan minyak yang dari hewan disebut minyak hewani.

Alat:

- Beaker glass
- Tabung reaksi
- Labu ukur
- Pipet ukur
- Pipet tetes
- Buret dan statis
- Erlenmeyer
- Corong

1. Analisa Kualitatif Lemak

❖ Kelarutan Lemak

Ambil tabung reaksi dan masing-masing diisi dengan 2 ml larutan aseton, etanol dan air. Kemudian dalam tiap tabung ditambahkan 1 tetes minyak dan tabung yang lain ditambahkan mentega. Tutup mulut tabung tersebut dan dikocok selama 1 menit. Selanjutnya biarkan selama 5 menit. Amati perubahan yang terjadi dalam setiap tabung reaksi.

2. **Analisa Kuantitatif Lemak**

❖ **Penentuan Asam Lemak Bebas (FFA)**

Bahan:

- NaOH 0,1 N
- Indicator pp 1%
- Etanol 96 %
- Minyak goreng baru dan bekas

Prosedur Kerja

1. Timbang 10 gram minyak dan masukkan 10 ml etanol, kocok hingga merata, kemudian tambahkan 3 tetes pp.
2. Titrasi dengan NaOH 0,1 N sampai warna merah jambu tercapai dan tidak hilang selama 30 detik.

$$\text{Kadar FFA} = \left\{ \left(\text{ml}_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times \text{BM}_{\text{asamlemak}} \right) / \left(\text{gr}_{\text{sampel}} \times 1000 \right) \right\} \times 100\%$$

Pertanyaan:

Jelaskan apa yang dimaksud dengan angka asam lemak bebas dan bagaimana pengaruhnya terhadap kualitas minyak?

BAB V VITAMIN

I. Tujuan

Melakukan uji vitamin C secara Kuantitatif

II. Dasar Teori

Vitamin adalah senyawa organik esensial yang terdapat dalam makanan hewani dan nabati dengan jumlah yang sangat kecil, ikut membantu mempertahankan kegiatan-kegiatan normal suatu jaringan dan berasal dari luar tubuh (Kusnawidjaja, 1993). Vitamin C yang dihasilkan oleh hewan dan tumbuhan dalam bentuk ester dan setelah proses pencernaan terjadi pemecahan/hidrolisis menjadi retinal. Satu molekul β -karotin dioksidasi menjadi dua molekul vitamin A (retinal dan golongan alkohol). Vitamin A sebagai aldehyd : retinal, asam : retinoat dan ester : retinal. Sedangkan α -karotin tidak dapat menghasilkan lebih dari satu molekul vitamin A. Secara kuantitatif dapat ditentukan dengan reagen antimonik klorida dan metode spektrometri. Vitamin C dapat berbentuk asam (askorbat), keto dan enol. Penentuan kuantitatif dapat dilakukan dengan reagen Iodine dan metode volumetrik.

III. Alat dan Bahan

III.1. Alat

- gelas beaker 100 dan 250 mL
- Mortar
- Pipet tetes
- Penjepit tabung, tabung reaksi dan rak tabung reaksi
- Batang pengaduk
- Erlenmeyer

III.2. Bahan

- Iodine 0,01 N - Akuades
- Indikator amilum
- Jeruk, cabe

IV. Tata Laksana Percobaan Penentuan Vitamin C

1. Siapkan buret dan isi dengan Iodine 0.1 N
2. Ambil buah apel dan potong menjadi kecil
3. Timbang 5 gram jeruk dan cabe dan letakkan di mortar, tambahkan akuades 25 mL dan gerus hingga menjadi suspensi
4. Pindahkan secara kuantitatif ke labu ukur 100 mL dan encerkan dengan akuades hingga tanda batas, kemudian disaring
5. Ambil 50 mL bagian yang jernih dengan pipet volum dan masukkan ke Erlenmeyer 250 mL
6. Tambahkan akuades 50 mL dan 1 mL pati 1%
7. Lakukan titrasi dengan Iodin 0,1 N dengan berwarna biru
8. Ulangi percobaan sebanyak 2 kali pada masing-masing sampel
9. Lakukan perhitungan kadar vitamin C (asam askorbat)

$$\text{Vitamin C (\%)} = \frac{V_{\text{Iodin}} \times N_{\text{Iodin}} \times 176 \text{ g/mol}}{\text{Berat contoh (mg)}} \times 100 \%$$