

MODUL PRAKTIKUM BIOKIMIA



PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA

I. PROTEIN

A. REAKSI UJI PROTEIN

1. PENGENDAPAN PROTEIN OLEH GARAM-GARAM ANORGANIK

Kelarutan protein akan berkurang bila kedalam larutan protein ditambahkan garam-garam anorganik. Pengendapan terus terjadi karena kemampuan ion garam untuk menghidrasi, sehingga terjadi kompetisi antara garam anorganik dengan molekul protein untuk mengikat air. Karena garam anorganik lebih menarik air maka jumlah air yang tersedia untuk molekul protein akan berkurang.

Pereaksi:

- ammonium sulfat
- pereaksi Millon (15 gr merkuri oxide dalam 20 ml Asam Nitrat panas diencerkan dengan 30 ml aquades)
- pereaksi Biuret

Cara Kerja:

- Jenuhkan 10 ml larutan protein dengan ammonium sulfat, dengan cara penambahan ammonium sulfat kristal sedikit demi sedikit, aduk hingga larut. Tambah dan aduk lagi sehingga sedikit garam ammonium yang tertinggal tidak larut lagi (terbentuk larutan lewat jenuh). Saring.
- Uji kelarutan endapan dalam pereaksi Millon dan pada filtratnya, tambahkan pereaksi Biuret.

Pengendapan Protein oleh garam anorganik

Uji Koagulasi

Tabung	Pereaksi	Hasil	Keterangan
I (endapan)	Millon		
II (filtrat)	Biuret		

2. UJI KOAGULASI

Protein dengan penambahan asam atau pemanasan akan terjadi koagulasi. Pada pH iso-elektrik (pH larutan tertentu biasanya berkisar 4 – 4,5 dimana protein mempunyai muatan positif dan negatif sama, sehingga saling menetralkan) kelarutan protein sangat menurun atau mengendap. Pada

temperatur diatas 60°C kelarutan protein akan berkurang (koagulasi) karena pada temperatur yang tinggi energi kinetik molekul protein meningkat sehingga terjadi getaran yang cukup kuat untuk merusak ikatan atau struktur sekunder, tertier dan kuartener yang menyebabkan koagulasi.

Pereaksi:

a. asam asetat 1M

b. pereaksi Millon

Cara Kerja:

1. ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan protein ditambahkan dua tetes asam asetat 1M.
2. letakkan tabung dalam air mendidih selama lima menit.
3. ambil endapan dan ujilah kelarutannya dalam air dan pereaksi millon.

Uji Koagulasi

Tabung	Pereaksi	Hasil	Keterangan
I (endapan)	Air		
II (endapan)	Millon		

3. PENGENDAPAN DENGAN ALKOHOL

Protein dapat diendapkan dengan penambahan alkohol. Pelarut organik akan mengubah (mengurangi) konstanta dielektrika dari air, sehingga kelarutan protein berkurang, dan juga karena alkohol akan berkompetisi dengan protein terhadap air.

Pereaksi:

a. HCl 0,1 M

b. NaOH 0,1 M

c. Buffer asetat 1M (pH 4,7)

d. Etanol 95%

Cara Kerja:

1. Sediakan 3 tabung reaksi dan isi masing-masing tabung reaksi dengan 5ml larutan protein.
2. Ke dalam tabung
 - I : tambahkan 1ml HCl 0,1M dan 6ml etanol 95%
 - II : 1ml NaOH 0,1M dan 6ml etanol 95%
 - III : 1ml Buffer asetat dan 6ml etanol 95%

3. Lihat tabung-tabung mana yang tidak larut.

Pengendapan dengan alkohol

Tabung	Pereaksi	Hasil	Keterangan
I (5 ml Protein)	1 ml HCl 0,1 N 6 ml etanol 95 %		
II (5 ml Protein)	1 ml NaOH 0,1 N 6 ml etanol 95 %		
III (5 ml Protein)	1 ml buffer acetate 6 ml etanol 95 %		

4. DENATURASI PROTEIN

Denaturasi dapat diartikan suatu proses terpecahnya ikatan hidrogen, ikatan garam atau bila susunan ruang atau rantai polipeptida suatu molekul protein berubah. Dengan perkataan lain denaturasi adalah terjadi kerusakan struktur sekunder, tertier dan kuartener, tetapi struktur primer (ikatan peptida)

masih utuh.

Pereaksi:

- buffer asetat 1M (pH 4,7)
- HCl 0,1M
- NaOH 0,1M

Cara Kerja:

- Sediakan tiga tabung reaksi masing-masing tabung diisi dengan 9ml larutan protein.
- Ke dalam tabung
 - tambahkan 1ml HCl 0,1M
 - 1ml NaOH 0,1M
 - 1ml Buffer asetat
- Tempatkan ketiga tabung dalam air mendidih selama 15 menit dan dinginkan pada temperatur kamar.
- Lihat ke dalam tabung mana terjadi endapan.
- Lanjutkan percobaan di atas terhadap tabung I dan II dengan menambahkan 10 ml buffer asetat.

Denaturasi Protein

a)

Tabung	Pereaksi	Hasil	Keterangan
I (9 ml larutan Protein)	1 ml HCl 0,1 N		
II (9 ml larutan Protein)	1 ml NaOH 0,1 N		
III (9 ml larutan Protein)	1 ml buffer acetate		

b)

Tabung	Pereaksi	Hasil	Keterangan
I (Hasil a)	10 ml buffer acetat		
II (Hasil a)	10 ml Buffer asetat		

B. PENENTUAN KADAR CASEIN

Casein merupakan protein yang terdapat dalam susu. Hampir 80% protein dalam susu terdiri dari casein di samping Laktalbumin dan laktoglobulin.

Pereaksi:

- Asam asetat 1 N dan 0,25 N
- NaOH 0,1 N
- Formaldehyde 40%
- Fenolftalein

Cara kerja :

- 20 ml sampel masukkan dalam beaker glas, panaskan di penangas air pada suhu 40°C, bila digunakan sampel susu kental diencerkan dengan aquades perbandingan 1:2 dan susu bubuk ditambahkan aquades 1:9.
- Tambahkan 1,5 ml asam asetat 1 N, aduk homogen dan diamkan selama 20 menit. Tambah lagi 4,5 ml asam asetat 0,25 N (untuk mencapai pH isoelektrik dari casein) aduk dan diamkan selama 1 jam.
- Dekanter kedalam corong dengan kertas saring. Cuci endapan dengan aquades sampai air cucian bersifat netral.
- Kemudian kertas saring dan endapan masukkan kedalam beaker semula dan tambahkan aquades sampai dengan volume \pm 20 ml.

5. Tambahkan 4 ml larutan NaOH 0,1 M, panaskan diatas penangas air sampai larut seperti susu dan dinginkan sampai suhu 21-24°C. Teteskan 3 tetes fenolftalein.

6. Tambahkan 4 ml Formaldehyde 40% (warna rose hilang), titrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna rose kembali.

Kadar Casein = ml NaOH 0,1 N · 0,9 %

Catatan:

Protein bersifat amfoter sehingga sulit dititrasi sebagai asam maupun sebagai basa. Supaya dapat dititrasi sebagai asam, maka sifat basa dari gugus amino dapat dihilangkan dengan mereaksikannya dengan Formaldehyde sehingga ion H⁺ dapat dititrasi dengan NaOH.

Penentuan Kadar Casein

Volume NaOH 0,1 N

V1= ml

V2= ml

V3= ml

V rata – rata = ml

Kadar Casein = Vol rata – rata NaOH 0,1 N x 0,9 %

II. KARBOHIDRAT

A. REAKSI UMUM KARBOHIDRAT

1. Reaksi Molish

Prinsip: ikatan glikosida pada karbohidrat akan terhidrolisa oleh H₂SO₄ (pekat) menghasilkan monosakarida yang kemudian dihidrasi membentuk Furfural. Dan bila direaksikan dengan Alpha Naftol akan memberikan warna ungu.

Bahan/Alat : - Larutan karbohidrat

- Asam sulfat pekat
- Larutan alpha naphthol 5% dalam etanol.(dibuat baru)
- Tabung reaksi

Cara Kerja :

1. Dalam tabung reaksi yang bersih dan kering dimasukkan 2 ml larutan karbohidrat dan 3 tetes larutan alpha naphthol
2. Melalui dinding tabung tambah secara perlahan-lahan larutan asam sulfat pekat sampai terbentuk cincin coklat.
3. Ulangi percobaan di atas dengan mempergunakan 2 ml air sebagai pengganti 2 ml larutan karbohidrat. (percobaan blanko). Amati apa yang terjadi.

Keterangan : Disakarida yang dalam suasana asam akan terhidrolisa dan menyebabkan reaksi positif.

Reaksi positif. Ditunjukkan dengan adanya Endapan Cu₂O yang berwarna merah bata.

Reaksi Molish

Tabung	Bahan	Pereaksi	Hasil	Keterangan
I	2 ml Karbohidrat 3 tts alpha naphthol	H ₂ SO ₄		
II	2 ml air, 3 tts lar. Alpha naphthol	H ₂ SO ₄		

2. Reaksi Yodium

Prinsip : Senyawa polisakarida akan memberikan warna yang spesifik dengan yodium.

Bahan dan alat :

- Larutan amylum
- Larutan dekstrin

- Larutan Yodium

- Spot plate

Larutan yodium terdiri dari: Kristal yodium kalium yodida dan aquades

Cara kerja :

1. Pada plat tetes yang bersih dan kering dimasukkan 3 tetes larutan yang diperiksa.
2. Campur dengan 2 tetes larutan yodium
3. Terbentuk warna biru untuk amylum dan warna merah anggur untuk dekstrin.

Reaksi Yodium

Plat tetes	Bahan	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Lobang I	3 tetes sample	2 tetes Yodium		
Lobang II	3 tetes sampel	2 tetes Yodium		

3. Reaksi Benedict

Prinsip: Cu^{2+} akan direduksi oleh gula menjadi Cu^+ . Dalam hal ini 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:

- Larutan sukrosa
- Larutan laktosa
- Larutan Benedict
- Tabung reaksi

Cara kerja:

1. Ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering dimasukkan 1 ml larutan yang akan diselidiki kemudian dicampur dengan 2 ml larutan Benedict. Kocok.
2. Didihkan selama 2 menit atau masukkan dalam air yang mendidih selama 5 menit.
3. Perhatikan warna reaksi yang terjadi.

Larutan Benedict terdiri dari; $-\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

$-\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

-Natrium Citrat

-Aquades

Tabung	Pereaksi	Hasil	Keterangan
--------	----------	-------	------------

I (1 ml sampel)	2 ml Benedict		
-----------------	---------------	--	--

D. PENENTUAN KADAR GLUKOSA

1. Iodimetri

Prinsip:

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

Pereaksi:

- a. Indikator larutan kanji
- b. Larutan natrium karbonat 14,3 %
- c. Larutan Yodium 0,1 N
- d. HCl encer
- e. Larutan natrium tiosulfat 0,1 N

Cara kerja:

Ditimbang seksama 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. Ditambahkan 25 ml yodium 0,1 N dan 10 ml larutan natrium karbonat 14,3 %, ditutup dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap. Kemudian ditambahkan 15 ml asam klorida encer dan yodium yang tersisa dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N sampai terjadi warna kuning lemah. Ditambahkan lagi indikator kanji dan lanjutkan titrasi sampai warna biru hilang. Dilakukan titrasi blanko. Tiap ml yodium 0,1 N setara dengan 9,9185 mg glukosa.

Penentuan Kadar Glukosa

Volume larutan 0,1 N yodium

V1= ml

V2= ml

V3= ml

V rata – rata larutan Yodium = ml

III. LIPIDA

Lipida adalah senyawa organik yang terdapat dalam makhluk hidup yang larut di dalam pelarut non-polar tetapi tidak larut di dalam air. Lipida terdiri dari lemak (sekitar 95%), steroida, karotenoida, vitamin yang larut dalam lemak.

A. PEMERIKSAAN KELARUTAN LEMAK

Prinsip:

Jika minyak dikocok kuat dengan air akan terjadi emulsi yang tidak mantap karena butir-butir minyak kecil akan memisah dari air. Penambahan emulgator misalnya, protein, gom, sabun akan terbentuk emulsi yang stabil. Lemak larut dalam pelarut non-polar seperti eter, heksan, bensin, kloroform, tetapi tidak larut didalam pelarut polar. Lemak dalam larutan NaOH atau KOH akan terjadi penyabunan.

Bahan dan alat:

- Minyak goreng, mentega
- Bensin, air, eter, alkohol 95%, NaOH 1 N
- Tabung reaksi, pipet ukur

Cara kerja :

1. Siapkan 5 buah tabung reaksi yang bersih dan kering
2. Tambahkan pada masing-masing tabung reaksi 1 ml minyak goreng, kemudian dicampurkan dengan bahan sebagai berikut:
 - Tabung I : ditambah 1 ml air
 - Tabung II : ditambah 1 ml bensin
 - Tabung III : ditambah 1 ml alkohol 96%
 - Tabung IV : ditambah 1 ml eter
 - Tabung V : ditambah 1 ml NaOH 1N
3. Aduk-aduk sampai homogen. Diamkan beberapa menit dan amati serta catat perubahan yang terjadi.
4. Ulangi percobaan di atas dengan memakai mentega sebagai sumber lipida.

Tabung	Minyak goreng	Pereaksi	Hasil	Keterangan
I	1 ml	1 ml air		
II	1 ml	1 ml Bensin		
III	1 ml	1 ml alkohol 96%		
IV	1 ml	1 ml eter		
V	1 ml	1 ml NaOH		

B. REAKSI PENYABUNAN DAN SIFAT-SIFAT ASAM LEMAK

Prinsip:

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 C-10-C-16. Kebanyakan sabun dibuat dengan jalan penyabunan antara lemak dengan suatu basa monovalen seperti natrium hidroksida melalui reaksi penyabunan.

Bahan dan alat :

- Larutan NaOH 1N, HCl 1N, etanol 96%, bensin
- Beker glas, erlenmeyer, batang pengaduk
- minyak goreng kelapa sawit

Cara kerja :

1. 5 gram minyak goreng dimasukkan ke dalam beker glas kemudian ditambahkan 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). Pemanasan dilanjutkan sampai terbentuk sabun. Kedalam larutan sabun yang telah terbentuk ditambahkan HCl 1N kemudian amati apa yang terjadi.
2. Kedalam campuran yang telah ditambahkan HCl ditambahkan bensin atau alkohol 96 % dan amati apa yang terjadi.

Reaksi Penyabunan

Tabung	NaOH 1 N	Pemanasan	HCl 1 N	Keterangan
I	42 ml	30 menit	5 ml	+ bensin : + alkohol 96% :