

PEDOMAN PRAKTIKUM BIOKIMIA



SEMESTER GANJIL

biologi.fst.uinjambi 
Program Studi Biologi 

JADWAL PRAKTIKUM

Jadwal Praktikum

: Jumat, 07.30-10.20 WIB

Minggu ke	Judul
1	Pendahuluan Praktikum
2	Pengantar biokimia dan biomolekul
3	Pengenalan alat dan bahan praktikum
4	Karbohidrat I
5	Karbohidrat II
6	Protein
7	Enzim
8 UTS	
9	Lipid
10	Vitamin C
11	Ekstraksi
12-13	Uji Fitokimia
14	Diskusi dan review praktikum
15	Ujian Praktikum
16 UAS (Ujian Kompetensi)	

KETENTUAN DAN PENILAIAN PRAKTIKUM

Rencana Kerja Praktikum

Setiap mahasiswa diwajibkan untuk mempunyai **Rencana Kerja Praktikum** yang dibuat dalam **Buku Praktikum Mandiri**. Rencana kerja ini berisi:

1. Prosedur kerja yang dibuat secara Diagram Alir
2. Hasil pengamatan atau data, dan perhitungan- perhitungan yang diperlukan.

Rencana kerja praktikum ini (No. 1) akan diperiksa oleh asisten praktikum saat Anda mengerjakan kuis sedangkan nomor 2 akan diperiksa setelah praktikum selesai. Selain itu Anda juga harus telah mengetahui prinsip/teori dasar dari percobaan yang akan anda laksanakan saat praktikum.

Kuis

Diberikan di awal praktikum dengan jumlah soal maksimum 5 buah dan dikerjakan dalam waktu 5-10 menit.

Penilaian Kerja

Penanggung jawab dan asisten praktikum akan membimbing, menjawab pertanyaan, dan melihat kerja praktikan dalam melaksanakan percobaan (diskusi). Dalam penilaiannya diusahakan untuk seobyektif mungkin. Terdapat beberapa contoh yang dapat mengurangi nilai pada bagian ini yaitu:

1. Terlambat dalam menghadiri praktikum, nilai 0 jika anda terlambat lebih dari 15 menit.
2. Tempat anda bekerja kotor/berantakan
3. Menggunakan alat kaca yang kotor – contohnya ada titik noda reagen atau lainnya (debu) di dalam alat kaca yang anda gunakan
4. Salah dalam mengoperasikan alat terutama yang instrumen seperti neraca analitik.
5. Adanya indikasi yang menunjukkan bahwa anda tidak mempersiapkan dengan baik dan tidak memahami percobaan yang dilakukan secukupnya. Hal ini tidak berarti anda tidak boleh bertanya, bertanyalah jika anda mempunyai pertanyaan atau memerlukan konfirmasi dalam langkah-langkah percobaan. Maksud dari kalimat diatas adalah anda bekerja dengan terus melihat pada penuntun praktikum.
6. Tidak membersihkan daerah kerja anda pada meja laboratorium sebelum anda meninggalkanlaboratorium.
7. Tidak mematikan alat seperti neraca atau alat instrument lainnya pada akhir waktu praktikum.
8. Melawan apa yang telah diarahkan oleh penanggung jawab atau asisten praktikum.

Laporan Praktikum

Nilai untuk laporan praktikum bergantung pada bagaimana cara anda menuliskan (bahasa yang anda gunakan sesuai dengan EYD) serta kelengkapan dalam penulisan laporan tersebut. Laporan dibuat dalam ukuran A4 dan dikumpulkan dalam bentuk *softfile*. Laporan praktikum diketik menggunakan peranti lunak MS Word. **Tidak dibenarkan anda hanya sekedar cypypaste dari laporan praktikum teman anda walaupun hanya sebuah kalimat saja, jika terdapat hal seperti ini maka nilai laporan praktikum Anda akan langsung diberi nilai 0.** Laporan praktikum dibuat per kelompok kecil dan dikumpulkan pada jadwal praktikum berikutnya.

Distribusi nilai untuk tiap bagian dalam laporan tersebut yaitu:

Bagian Laporan	Nilai
Cover	5
Pendahuluan	25
Metode Praktikum	10
Hasil dan Pembahasan	35
Simpulan	15
Daftar Pustaka	10
Total	100

Nilai Akhir Kinerja Laboratorium

Setiap percobaan akan bernilai maksimum 380 dengan distribusi maksimum masing-masing adalah:

1. **Rencana kerja laboratorium** (maks100)
2. **Kuis** (maks 100)
3. **Penilaian kerja** (min40, maks 80)
4. **Laporan praktikum** (maks 100)

Untuk nilai akhir tiap percobaan, dari keempat jenis penilaian tersebut menyumbangkan persentase nilai akhir sebanyak:

- 20% rencana kerja laboratorium,
- 10% kuis,
- 30% penilaian kerja,
- 40% laporan praktikum.

Sedangkan untuk nilai akhir akan dijumlahkan setiap nilai akhir percobaan lalu dibagi dengan jumlah percobaan yang telah dilaksanakan. Nilai praktikum adalah rata-rata nilai akhir praktikum dan ujian praktikum.

TATA TERTIB

1. Lima menit sebelum praktikum dimulai, praktikan harus sudah siap dengan menggunakan jas lab di depan ruang praktikum. Jika tidak membawa jas lab tidak diperkenankan untuk mengikuti praktikum. Praktikan yang menggunakan kaos oblong, sepatu tidak tertutup tidak diperkenankan untuk mengikuti praktikum.
2. Bahan praktikum yang akan dikerjakan harus sudah dikuasai, menyiapkan rencana kerja (dalam penuntun praktikum), dan daftar pembagian waktu kerja.
3. Praktikan yang tidak menyiapkan rencana kerja, tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
4. Data pengamatan dan catatan lain mengenai jalannya praktikum, dicatat dalam hasil dan pengamatan.
5. Praktikan hanya boleh menggunakan ruang praktikum/ instrumen pada waktu praktikumnya sendiri, kecuali mendapatkan ijin dosen praktikum, dengan membawa surat izin dari dosen praktikum ybs.
6. Praktikan harus menyediakan alat-alat sendiri (lap, korekapi, pipet tetes, dsb). Selama praktikum tidak diperkenankan pinjam- meminjam alat tersebut.
7. Alat-alat gelas yang disediakan di setiap meja praktikum menjadi tanggungjawab praktikan. Alat-alat yang tertukar, hilang atau pecah, sepenuhnya menjadi tanggung jawab praktikan.
8. Wajib melakukan pengecekan kelengkapan alat yang dilakukan pada awal dan akhir praktikum.
9. Menjaga ketenangan dan kebersihan dalam ruang praktikum.
10. Praktikan tidak diperkenankan meninggalkan praktikum sebelum praktikum selesai, tanpa seijin dan sebelum pemeriksaan alat-alat oleh asisten praktikum.
11. Praktikan yang tidak dapat mengikuti praktikum pada waktu yang ditentukan wajib menyusul praktikum sesegera mungkin (pada minggu yang sama).
12. Penggantian praktikum ditentukan oleh dosen praktikum. Dalam meminta pengganti praktikum pada dosen praktikum, praktikan wajib membawa surat keterangan menyatakan ketidakhadiran pada waktu praktikum yang ditentukan. Tanpa surat keterangan tersebut praktikan tidak akan mendapat ijin dari dosen praktikum.

KARBOHIDRAT

IDENTIFIKASI SIFAT DAN STRUKTUR KARBOHIDRAT

I. Kemampuan Akhir yang Diharapkan:

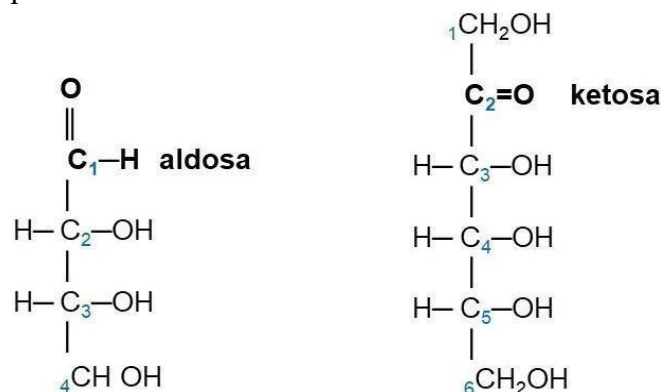
- Setelah mengikuti praktikum ini, mahasiswa akan dapat menunjukkan sifat dan struktur karbohidrat melalui uji-uji kualitatif.
- Mengamati struktur beberapa karbohidrat melalui sifat reaksinya dengan beberapa reagen uji.

II. Tujuan Praktikum

Mengidentifikasi karbohidrat dengan berbagai uji.

III. Prosedur dan Prinsip Percobaan

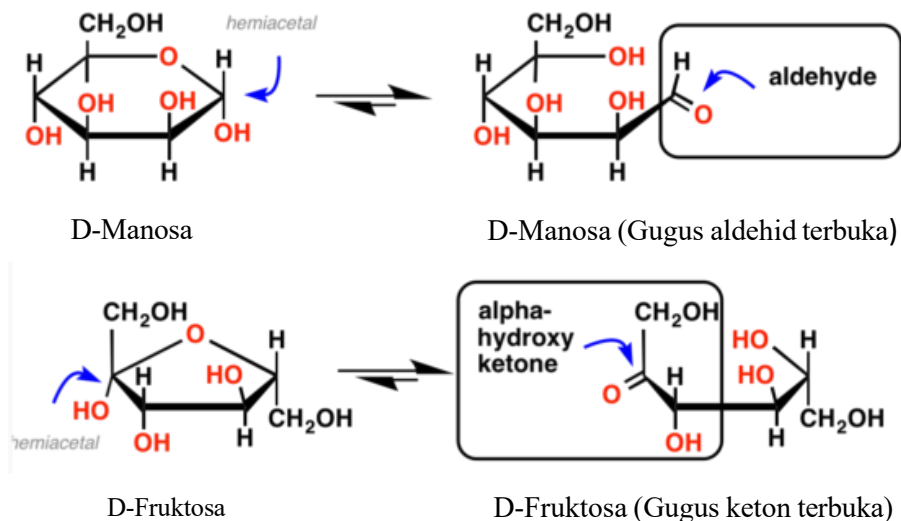
Karbohidrat adalah biomolekul yang tersusun dari beberapa unsur yaitu unsur karbon (C), unsur hidrogen (H), dan unsur oksigen (O) dengan monomer berupa monosakarida yang merupakan suatu *polihidroksi aldehida* maupun suatu *polihidroksi keton* dengan rumus empiris total $(CH_2O)_n$. Monosakarida selanjutnya terbagi menjadi dua kelompok, yaitu Aldosa dan Ketosa, tergantung pada sifat gugus fungsional penyusunnya. Aldosa merupakan monosakarida yang tersusun atas gugus aldehyd pada atom C1, sedangkan ketosa merupakan monosakarida yang tersusun atas gugus keton pada atom C2.



Gambar 1 Struktur aldose dan ketosa

Berdasarkan jumlah monomer penyusunnya, karbohidrat terbagi menjadi 1) Disakarida, yang tersusun dari dua satuan monosakarida (identik atau berbeda) yang digabungkan oleh ikatan glikosida yang dapat dihidrolisis. 2) Polisakarida, yang tersusun atas sejumlah besar monosakarida (identik atau berbeda). Ikatan glikosida terbentuk dari gugus -OH anomerik dari satu satuan monosakarida dan gugus OH nomor 4 atau lainnya dari satuan monosakarida lain.

Gula pereduksi merupakan golongan karbohidrat yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron. Karbohidrat yang dapat berperan sebagai gula pereduksi merupakan karbohidrat yang mengandung gugus aldehyd atau keto bebas. Semua monosakarida dan disakarida, kecuali sukrosa dan polisakarida termasuk gula pereduksi.



Gambar 2 Gula pereduksi

Beberapa analisis kualitatif karbohidrat yang sering dilakukan adalah Uji Benedict dan Uji Lugol, Uji Molish, Uji Seliwanof, Uji Antrone, dan Uji Fenol (Andarwulan et al, 2011). Analisis kuantitatif karbohidrat pada suatu bahan dapat dilakukan dengan cara kimiawi, cara fisik, cara enzimatik atau biokimiawi dan cara kromatografi. Penentuan karbohidrat yang termasuk polisakarida maupun oligosakarida memerlukan perlakuan pendahuluan yaitu dihidrolisa terlebih dahulu sehingga diperoleh monosakarida. Penentuan karbohidrat dengan cara kromatografi adalah dengan mengisolasi dan mengidentifikasi karbohidrat dalam suatu campuran (Kaminska et al, 2009).

1.1 Uji Molisch

Pereaksi Molisch terdiri atas larutan 5% alfa-naftol dalam alkohol 95%. Pereaksi ini berdasarkan pembentukan furfural atau turunan-turunan dari karbohidrat yang didehidratasi oleh asam pekat. Reaksi yang terjadi dengan alfa-naftol akan membentuk persenyawaan berwarna. Uji ini tidak spesifik untuk karbohidrat, akan tetapi hasil reaksi yang negatif menunjukkan bahwa larutan yang diperiksa tidak mengandung karbohidrat.

Masukkan 2.5 mL larutan (bahan uji) yang akan diperiksa ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes pereaksi Molisch, campur merata, kemudian tambahkan perlahan-lahan melalui dinding tabung sebanyak 1.5 mL asam sulfat pekat. Warna violet (ungu) kemerahan pada batas kedua cairan menunjukkan reaksi positif, sedangkan warna hijau menunjukkan reaksi negatif. Lakukan uji ini terhadap larutan gula, susu UHT, putih telur, minuman ringan, jus buah, madu, dan pati 1%.

1.2 Uji Benedict

Uji Benedict digunakan untuk menentukan adanya gula pereduksi dalam sampel. Larutan-larutan tembaga yang basa, bila direduksi oleh karbohidrat yang mempunyai gugus aldehid atau keton bebas akan membentuk kupro oksida. Pembentukan senyawa ini dapat dilihat pada

pembentukan warna hasil reaksi. Salah satu pereaksi yang mengandung tembaga dan basa adalah pereaksi Benedict yang mengandung kupri sulfat, natrium karbonat, dan natriumsitrat.

Masukkan 2.5 mL pereaksi Benedict ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 4 tetes larutan bahan yang akan diperiksa, campur, dan dididihkan selama 5 menit. Biarkan sampai menjadi dingin. Perhatikan warnanya dan lihat apakah terbentuk endapan. Warna biru pada larutan menunjukkan tidak terdapatnya gula pereduksi pada sampel. Warna hijau kebiruan, hijau, dan kuning mengindikasikan terdapatnya gula dengan konsentrasi sekitar 250, 500, dan 1000 mg/dL. Endapan merah bata yang terbentuk menunjukkan konsentrasi gula sekitar 2000 mg/dL.

1.3 Uji Selliwanoff

Reaksi berdasarkan atas pembentukan 4-hidroksi metil furfural yang membentuk senyawa berwarna dengan adanya resorsinol atau 1,3-dihidroksi benzena. Reaksi ini spesifik untuk ketosa, ditunjukkan dengan hasil reaksi berwarna merah.

Masukkan 2.5 mL pereaksi Selliwanoff dan beberapa tetes bahan percobaan. Dididihkan campuran tersebut selama 30 detik atau panaskan dalam air mendidih selama 60 detik. Perhatikan warna yang terjadi!

1.4 Uji Barfoed

Karbohidrat dalam larutan asam lemah akan mengalami perubahan reaktifitas. Karbohidrat dengan reaktifitas rendah akan hilang daya reduksinya, sedangkan karbohidrat dengan reaktifitas tinggi akan tetap dipertahankan. Uji ini digunakan untuk membedakan monosakarida dari disakarida. Senyawa berwarna biru akan terjadi dengan adanya fosfomolibdat.

Masukkan 1 mL pereaksi dan 1 mL bahan percobaan ke dalam tabung reaksi. Tabung tersebut dipanaskan dalam air mendidih selama 3 menit dan dinginkan. Setelah itu masukkan 1 mL fosfomolibdat, kocok dan amati warna yang terjadi.

IDENTIFIKASI POLISAKARIDA

I. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

Setelah mengikuti praktikum ini, mahasiswa akan dapat menunjukkan sifat dan struktur polisakarida melalui uji-uji kualitatif.

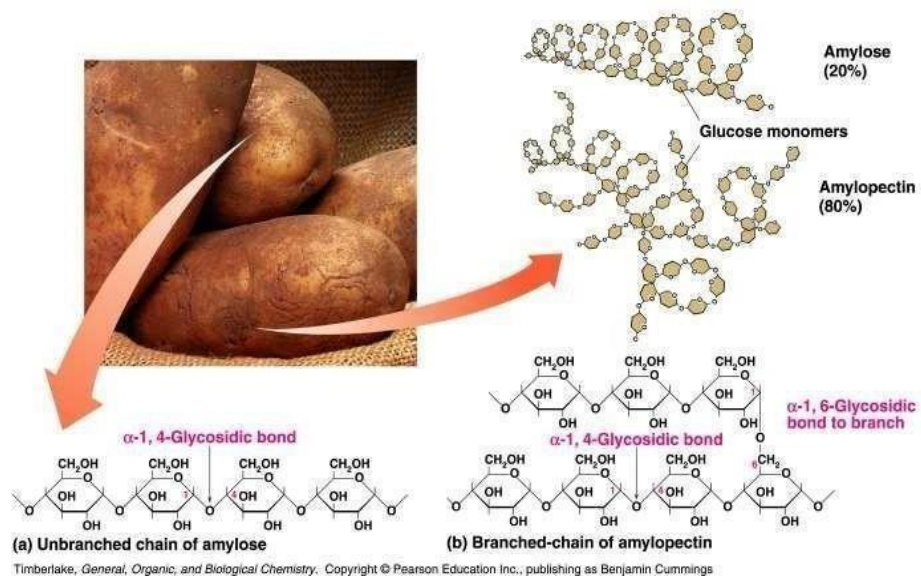
II. Tujuan Praktikum

- Mengidentifikasi pati pada sampel.
- Mengamati ketabilan struktur gelung heliks pati terhadap pengaruh pemanasan.
- Mengamati granula pati pada karbohidrat dengan mikroskop.

III. Prosedur dan Prinsip Percobaan

Polisakarida adalah molekul besar yang tersusun dari sejumlah besar

monosakarida. Polisakarida disebut juga glikan. Pati merupakan homopolisakarida glukosa yang saling terikat melalui ikatan alfa-glikosidik. Pati merupakan bentuk penyimpanan pada tumbuhan dari kelebihan glukosa yang dihasilkan dari proses fotosintesis. Pati menjadi sumber energi yang penting bagi hewan dan manusia. Pati tersusun atas campuran amilosa (rantai tunggal; ikatan alfa-1,4 glikosidik) dan amilopektin (rantai bercabang; ikatan alfa-1,6 glikosidik) dalam komposisi yang berbeda-beda. Sifat kelengketan sereal (contoh beras) ditentukan oleh komposisi amilosa dan amilopektin. Amilosa memberikan efek keras (pera) sedangkan amilopektin memberikan sifat lengket.



Gambar 3 Struktur pati

Uji Iod

Iod dengan pati dapat membentuk suatu ikatan kompleks yang berwarna biru. Komponen pati yang berperan dalam interaksi dengan iod tersebut yaitu amilosa. Amilosa akan memberikan warna lebih biru dibandingkan dengan amilopektin.

Alat

Gelas arloji 1 buah
Pipet tetes 1 buah

Bahan

Tepung, Tempe, Roti gandum, Kemiri, Susu UHT, Larutan Gula

Metode

Masukkan sedikit tepung bahan percobaan ke dalam papan uji. Tambahkan satu tetes larutan iod encer. Campurkan dengan rata dan perhatikan warna yang terjadi! Lakukan uji ini terhadap Tempe, Roti gandum, Kemiri, Susu UHT, Larutan Gula.

Nama : NIM:

RENCANA KERJA & HASIL PENGAMATAN

PROTEIN

I. Tujuan Instruksional Khusus

Setelah mengikuti praktikum ini, mahasiswa akan dapat menunjukkan:

- Sifat dan struktur asam amino dan protein melalui uji-uji kualitatif.
- Mempelajari beberapa reaksi uji terhadap asam amino dan protein.

II. Keterampilan

Mengidentifikasi protein dengan berbagai uji

III. Prosedur dan Prinsip Percobaan

Protein terdiri atas rantai-rantai panjang asam amino yang tersusun dari atom oksigen, nitrogen dan karbon serta beberapa jenis amino yang mengandung sulfur yang dihubungkan ikatan peptida. Protein merupakan polimer dari sekitar 21 asam amino berlainan dengan keragaman rantai samping yang kompleks dengan sifat polar dan non polar (John, 2008).

Pengujian yang dilakukan untuk menguji kandungan protein dalam bahan-bahan terutama bahan makanan yaitu melalui beberapa parameter uji, yaitu dapat dilakukan dengan Uji Millon, Uji Hopkins-Cole, Uji Ninhidrin, Uji Belerang, Uji Xantoproteat, Uji Biuret, dll.

2.1 Uji Biuret

Senyawa biuret dihasilkan dengan cara memanaskan urea diatas penangas air. Dalam larutan basa, biuret memberikan warna violet dengan CuSO_4 . Reaksi ini disebut reaksi biuret. Reaksi positif akibat pembentukan senyawa kompleks Cu^{2+} gugus $-\text{CO}$ dan $-\text{NH}$ dari rantai peptida dalam suasana basa. Dipeptida dari asam-asam amino histidin, serin, dan treonin tidak memberikan reaksi positif untuk uji ini.

Tambahkan 0.5 mL NaOH 10% kedalam 1.5 mL larutan protein (bahan uji), dan kocok. Tambahkan 1 tetes larutan CuSO_4 0.1%, kocok. Jika tidak timbul warna tambahkan 1 atau 2 tetes CuSO_4 . Lakukan uji ini terhadap bahan uji lain (Susu UHT, putih telur, mentega, yogurt, susu oat).

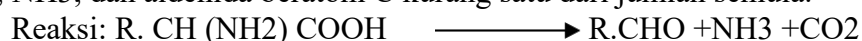
2.2 Uji Belerang

Dalam larutan basa, yang berasal dari sistein akan bereaksi dengan Pb -asetat membentuk garam PbS yang berwarna hitam.

Pada 1 mL larutan protein (bahan uji) tambahkan 2.5mL NaOH 10%, dididihkan beberapa menit. Tambahkan 2 tetes larutan Pb -Asetat 5%, lanjutkan pemanasan beberapa menit, amati warna yang terjadi. Lakukan uji ini terhadap bahan uji lain.

2.3 Uji Ninhidrin

Uji ini umum sifatnya karena semua atau protein yang mengandung sedikitnya satu gugus karboksil dan gugus amino bebas (asam α -amino) akan bereaksi dengan ninhidrin (triketo-hidrindenahidrat) menghasilkan CO_2 , NH_3 , dan aldehida berat atom C kurang satu dari jumlah semula.



Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru ungu. (catatan: khusus untuk prolin dan hidroksprolin berwarna kuning).

Tambahkan 0.5mL larutan ninhidrin 0.1% kedalam 3mL larutan protein. Panaskan dalam penangas air mendidih selama 10 menit, perhatikan perubahan warna larutan yang terjadi. Lakukan uji ini terhadap bahan uji lain.

Nama : NIM:

RENCANA KERJA & HASIL PENGAMATAN

ENZIM

AKTIVITAS AMILASE PENGARUH SUHU DAN PH

I. Tujuan Instruksional Khusus

Mengikuti praktikum ini, mahasiswa akan dapat menunjukkan sifat enzim pencernaan.

- Menentukan sifat dan susunan air liur.
- Menentukan sifat dan susunan getah lambung.

II. Keterampilan

- Menentukan titik akromatik suatu polisakarida.
- Menentukan pH dan suhu optimum bekerjanya enzim.

III. Prosedur dan Prinsip Kerja Praktikum

Enzim merupakan suatu protein yang memiliki aktivitas biokimiawi yaitu sebagai katalis suatu reaksi dengan mempercepat proses reaksi. Enzim sangat rentan dengan kondisi lingkungan. Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh suhu dan pH. Ketika suhu atau pH berubah, maka akan mengakibatkan aktivitas enzim juga berubah. Suhu dan pH yang tidak sesuai dapat mengakibatkan kerusakan enzim dan menyebabkan fungsi serta aktivitas enzim tersebut berkurang (Idiawati et al, 2014).

3.1 Pengaruh Suhu pada Aktivitas Amilase Air Liur

Sediakan empat tabung reaksi dan masing-masing diisi dengan 2 mL air liur dan 2 mL akuades. Kocok dengan baik dan letakkan tabung 1 pada penangas es yang bersuhu 10°C , tabung 2 pada suhu kamar ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), tabung 3 pada penangas air bersuhu 37°C , dan tabung 4 pada penangas air bersuhu 100°C selama 15 menit.

Setelah itu tambahkan pada setiap tabung 2 mL larutan kanji 1%. Kocok dengan baik dan letakkan pada masing-masing kondisi suhu selama 10 menit. Pindahkan isi tabung menjadi dua bagian satu bagian isi tabung uji dengan pereaksi yodium sedangkan bagian yang lain uji dengan pereaksi Benedict (Praktikum Karbohidrat). Terangkan hasil percobaan anda!

3.2 Pengaruh pH terhadap Aktivitas Amilase Air Liur

Sediakan empat tabung reaksi dan masing-masing diisi dengan 2 mL HCl, 2 mL asam asetat, 2 mL akuades, dan 2 mL Na karbonat 0.1 %. Masing-masing nilai pH dari setiap tabung adalah 1, 5, 7, dan 9. Ukur pH dengan indikator universal.

Tambahkan pada setiap tabung 2 mL larutan kanji 1% dan 2 mL air liur. Kocok dengan baik dan letakkan pada penangas air 37°C selama 15 menit. Pindahkan isi tabung menjadi dua bagian satu bagian isi tabung uji dengan pereaksi yodium sedangkan bagian yang lain uji dengan pereaksi Benedict (Praktikum Karbohidrat). Terangkan hasil percobaan anda.

Nama : NIM:

RENCANA KERJA & HASIL PENGAMATAN

LIPID

I. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

Setelah mengikuti praktikum ini, mahasiswa mampu mengidentifikasi bahan makanan yang mengandung lemak.

II. Tujuan Praktikum

- Membedakan sampel bahan makanan yang mengandung lemak dan yang tidak mengandung lemak
- Melakukan pengelompokan terhadap sampel bahan makanan berdasarkan kandungan lemaknya.

III. Prosedur dan Prinsip Percobaan

Lemak atau lipida tersusun oleh C, H, dan O, dan kadang-kadang fosforus (P) serta nitrogen (N). Lemak merupakan ester dari asam lemak dengan gliserin yang membentuk trigliserida, yaitu zat yang tersusun oleh satu senyawa gliserol dan tiga senyawa asam lemak. Berdasarkan komposisi kimianya, lemak dibedakan menjadi tiga macam yaitu lemak sederhana, lemak campuran, dan derivat lemak. Berdasarkan ikatan kimianya, asam lemak dibedakan menjadi dua, yaitu asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh.

Pengelompokan bahan makanan yang mengandung lemak

Ambil dua buah kertas coklat sampul buku yang telah dipotong-potong dengan ukuran 10x10 cm. Ambil pipet, isap air dengan pipet dan teteskan di atas salah satu kertas coklat. Ambil pipet yang lain, isap minyak dengan pipet dan teteskan di atas kertas coklat lainnya. Biarkan kedua kertas selama kurang lebih 10 menit. Sesudah itu periksa keduanya. Amati dan catat keadaan permukaan kertas tersebut. Manakah kertas yang masih meninggalkan bekas? Catatan : Gunakan hasil ini sebagai pembandingan untuk bahan yang mengandung minyak atau tidak.

Ambilah kesembilan kertas coklat yang telah disiapkan. Berilah nomor dan nama jenis bahan makanan yang diuji. Bahan makanan yang diuji : (1) kemiri, (2) margarine, (3) seledri, (4) wortel, (5) pepaya, (6) santan (7) susu dan (8) minyak goreng.

Remukkanlah kemiri, usap-usap di atas kertas coklat kira-kira 10 kali dan bersihkan sisa kemiri. Biarkan sekitar 5-10 menit. Cairkan margarine di atas sendok dengan menggunakan panas dari nyala lilin. Teteskan margarine di atas kertas coklat dan biarkan sekitar 10 menit. Sambil menunggu waktu 10 menit kerjakan hal serupa untuk bahan makanan lainnya.

Setelah 10 menit, amati kertas coklat satu per satu. Pergunakanlah lampu atau senter ke arah bekas usapan dari bahan-bahan makanan yang diuji. Kertas manakah yang meninggalkan bekas pada minyak ?

Nama : NIM:

RENCANA KERJA & HASIL PENGAMATAN

VITAMIN

I. Tujuan Instruksional Khusus

Setelah mengikuti praktikum ini, mahasiswa mampu mengetahui kadar vitamin C

II. Keterampilan

Melakukan titrasi dan menentukan kadar vitamin C

III. Prosedur dan Prinsip Percobaan

Vitamin C termasuk vitamin yang larut dalam air. Vitamin sebagai koenzim mempunyai peranan penting dalam metabolisme. Vitamin C atau asam askorbat merupakan asam gula yang banyak terdapat pada buah-buahan. Vitamin C dikenal sebagai zat anti askorbut dan dapat mempertinggi daya tahan tubuh terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus. Penetapan kadar vitamin dalam suatu bahan dapat dilakukan secara titrimetri.

6.1 Penentuan Vitamin C dalam Buah

Peraslah sebuah jeruk dan tampunglah air perasannya ke dalam Erlenmeyer. Kemudian hancurkan sebuah tomat sampai membentuk slury. Timbang 10-30 gram slury, tambahkan aquades sebanyak 100 mL, masukkan ke dalam labu takar 250 mL, dan encerkan sampai tanda batas.

Saring dengan menggunakan kertas saring, filtrat yang diperoleh ditampung ke dalam Erlenmeyer. Filtrat buah sebanyak 1 mL direaksikan dengan 10 mL KMnO_4 1% dan 4 mL aquades. Keberadaan asam askorbat pada buah ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi coklat.

Nama : NIM:

RENCANA KERJA & HASIL PENGAMATAN

EKSTRAKSI DAN ANALISIS FITOKIMIA SECARA KUALITATIF

KEGIATAN 1. EKSTRAKSI

A. Tujuan

Mahasiswa mampu membuat ekstraksi tumbuhan

B. Kajian Pustaka

Tumbuhan merupakan sumber daya hayati yang mempunyai potensi kimia karena mampu memproduksi senyawa kimia secara teratur dan seimbang berupa metabolit primer dan metabolit sekunder (Cunha, 1998). Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, tanin, saponin dan lain-lain.

Fitokimia merupakan suatu disiplin ilmu mengenai senyawa organik yang dibentuk oleh tumbuhan meliputi struktur kimia, biosintesis, perubahan serta metabolisme, penyebaran secara ilmiah dan fungsi biologis. Penapisan fitokimia dimulai dengan pengumpulan sampel dan membuatnya menjadi ekstrak. Ekstrak ialah sediaan yang diperoleh dari jaringan hewan atau tumbuhan dengan menarik senyawa aktifnya dengan pelarut yang sesuai kemudian memekatkannya hingga tahap tertentu (Harborne, 1996).

Ekstraksi yaitu proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan dapat larut (Fong, 1994). Ekstraksi yang tepat bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi, jenis senyawa yang diisolasi serta jenis pelarut yang digunakan (Harborne, 1996). Simplisia lunak seperti rimpang dan daun mudah ditembus oleh cairan pelarut sehingga pada pelarutan tidak perlu dihaluskan. Sedangkan simplisia keras seperti biji dan kulit perlu dihaluskan sebelum dilakukan pelarutan (Sediaan Galenik, 1987).

Beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan antara lain (Darwis, 2000) :

1. Maserasi yaitu proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang dilakukan pada temperatur ruangan.
2. Perkolasi yaitu proses melewatkan pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut.
3. Sokletasi menggunakan soklet dengan pemanasan, pelarut dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel.
4. Destilasi uap lebih banyak digunakan untuk senyawa organik yang tahan pada suhu yang lebih tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan.

C. Alat dan Bahan

1. Sampel tumbuhan
2. Kipas angin
3. Saringan
4. Alat penggiling (Dry Mill)
5. Kertas koran
6. Kain hitam
7. Timbangan
8. Erlenmeyer
9. Spatula
10. Gelas ukur
11. Corong
12. Alumunium foil
13. Kertas saring kasar
14. Etanol 96%

D. Cara Kerja

1. Menimbang berat basah sampel tumbuhan.
2. Mengering-anginkan sampel tumbuhan kurang lebih selama satu minggu.
3. Menimbang berat kering sampel tumbuhan.
4. Menggiling halus sampel tumbuhan lalu menimbang berat serbuk tersebut.
5. Merendamnya dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:8 (w/v) selama dua hari sambil sesekali diaduk.
6. Setelah dua hari rendaman, menyaring rendaman menggunakan kertas saring dan corong pemisah.

KEGIATAN 2. ANALISIS FITOKIMIA

A. Tujuan

Mahasiswa mampu menganalisis fitokimia secara langsung

B. Kajian Pustaka

Fitokimia atau kadang disebut fitonutrien, dalam arti luas adalah segala jenis zat kimia atau nutrien yang diturunkan dari sumber tumbuhan, termasuk sayuran dan buah- buahan. Fitokimia biasanya digunakan untuk merujuk pada senyawa yang ditemukan pada tumbuhan yang tidak dibutuhkan untuk fungsi normal tubuh, tapi memiliki efek yang menguntungkan bagi kesehatan atau memiliki peran aktif bagi pencegahan penyakit. Karenanya, zat-zat ini berbeda dengan apa yang diistilahkan sebagai nutrien dalam pengertian tradisional, yaitu bahwa mereka bukanlah suatu kebutuhan bagi metabolisme normal, dan ketiadaan zat-zat ini tidak akan mengakibatkan penyakit defisiensi, paling tidak, tidak dalam jangka waktu yang normal untuk defisiensi tersebut.

C. Alat dan Bahan

- | | |
|---------------------------|--------------------------|
| 1. Tabung reaksi | 10. Air panas |
| 2. Pipet tetes | 11. Magnesium |
| 3. Test plate | 12. HCl |
| 4. Gelas ukur | 13. FeCl ₃ 1% |
| 5. Ekstrak tumbuhan | 14. Raksa (II) klorida |
| 6. Penangas | 15. Bismut (III) nitrat |
| 7. Kertas saring | 16. Asam nitrat pekat |
| 8. Larutan NaOH 10% | 17. HCl 2 N |
| 9. Kloroform | 18. Aquades |
| 10. Asam asetat anhidrida | 21. Kalium iodida |
| 11. Asam sulfat pekat | 22. Iodium |

D. Cara Kerja

a. Pengujian fenolat

1. Memasukkan 1 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi.
2. Menambahkan larutan NaOH 10%.
3. Amati reaksi yang terjadi

b. Pengujian triterpenoid dan steroid

1. Memasukkan 1 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi dan menambahkan 2 ml kloroform.
2. Tambahkan 10 tetes asam asetat anhidrida dan 3 tetes asam sulfat pekat.
3. Homogenkan dan dibiarkan selama beberapa menit.
4. Amati reaksi yang terjadi.

c. Pengujian flavonoid

1. Memasukkan 1 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi.
2. Menambahkan 20 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit.
3. Menambahkan 0,5 gram Mg dan 10 tetes HCl lalu homogenkan.
4. Amati reaksi yang terjadi

d. Pengujian Tanin

1. Memasukkan 1 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi.
2. Menambahkan 12 ml air panas dan dididihkan selama 15 menit lalu menyaringnya.
3. Menambahkan filtrat dengan 1 ml larutan FeCl_3 1%.
4. Amati reaksi yang terjadi

e. Pengujian Alkaloid

1. Memasukkan 0,5 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi.
2. Menambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air suling lalu memanaskannya di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring.
3. Memasukkan 3 tetes filtrat ke dalam test plate lalu menambahkan 2 tetes larutan pereaksi Mayer (Raksa (II) klorida dan Kalium iodida)
4. Memasukkan 3 tetes filtrat ke dalam test plate lalu menambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat (Kalium iodida dan Iodium).
5. Memasukkan 3 tetes filtrat ke dalam test plate lalu menambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff (Bismut (III) nitrat, Asam nitrat pekat dan Kalium iodida).
6. Amati setiap reaksi yang terjadi

f. Pengujian Saponin

1. Memasukkan 0,5 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi.
2. Menambahkan air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik.
3. Jika terbentuk buih yang mantap setinggi 1 – 10 cm, tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan HCl 2 N maka menunjukkan adanya saponin.

g. Pengujian Fitosterol

1. Memasukkan 0,5 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 2 mL kloroform kemudian kocok hingga homogen
3. Tambahkan 3 tetes anhidrida asetat dan kocok perlahan
4. Tambahkan 1-2 tetes asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi
5. Diamkan selama 3-5 menit dan amati perubahan warna yang terjadi!

Nama : NIM:

RENCANA KERJA & HASIL PENGAMATAN