

Martina Kurnia Rohmah, S.Si., M.Biomed
Apt. Djelang Zainuddin Fickri, S.Farm., M.Farm.Klin

Petunjuk

PRAKTIKUM BIOKIMIA

untuk Program Studi S1 Farmasi



PETUNJUK PRAKTIKUM BIOKIMIA

Untuk Program Studi S1 Farmasi



PETUNJUK PRAKTIKUM BIOKIMIA

Untuk Program Studi S1 Farmasi

**Sanksi Pelanggaran Pasal 113
Undang-Undang No. 28 Tahun 2014
Tentang Hak Cipta**

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama **1 (satu) tahun** dan/atau pidana denda paling banyak **Rp100.000.000 (seratus juta rupiah)**.
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama **3 (tiga) tahun** dan/atau pidana denda paling banyak **Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)**.
3. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama **4 (empat) tahun** dan/atau pidana denda paling banyak **Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah)**.
4. Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama **10 (sepuluh) tahun** dan/atau pidana denda paling banyak **Rp4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah)**.

**Martina Kurnia Rohmah, S.Si, M.Biomed
Apt. Djelang Zainuddin Fickri, S.Farm., M.Farm.Klin**



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayahNya sehingga buku “**Petunjuk Praktikum Biokimia**” ini dapat disusun. Buku petunjuk praktikum diharapkan dapat memberikan panduan pelaksanaan teknis kegiatan praktikum laboratorium terkait mata kuliah praktikum Biokimia. Adapun materi praktikum dalam buku ini telah disesuaikan dengan instrumen pembelajaran dan sejalan dengan konsep yang dipelajari pada teori Biokimia. Buku petunjuk praktikum biokimia ini disusun untuk menjawab kebutuhan mahasiswa akan keterampilan dasar dalam memahami bidang Farmasi dan Biomedik.

Buku ini telah dicetak dalam 1 edisi. Pada edisi pertama ini tidak berbeda dengan materi pada edisi sebelumnya. Penulis merasakan bahwa masih ada kekurangan dalam penyusunan buku petunjuk praktikum ini. Berbagai kritik dan saran yang membangun dari semua pihak masing sangat diperlukan untuk menyempurnakan isi petunjuk praktikum dan menjawab kebutuhan mahasiswa Farmasi akan ilmu biokimia yang dapat menjadi bekal untuk memahami mata kuliah terkait dalam bidang kefarmasian. Semoga buku ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Sidoarjo, 28 Agustus 2019

Tim Penyusun

PETUNJUK PRAKTIKUM BIOKIMIA

Martina Kurnia Rohmah, S.Si., M.Biomed
Apt. Djelang Zainuddin Fickri, S.Farm., M.Farm.Klin

Copyright@2020



Desain Sampul
Bichiz DAZ

Editor
Tika Lestari

Penata Letak
Dhiky Wandana

Hak cipta dilindungi oleh Undang-undang
Ketentuan Pidana Pasal 112-119
Undang-undang Nomor 28 Tahun 2014 Tentang Hak Cipta.

Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau
Memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini
Tanpa izin tertulis dari penerbit

Diterbitkan dan dicetak pertama kali oleh
CV. Jakad Media Publishing
Graha Indah E-11 Gayung Kebonsari Surabaya
(031) 8293033, 081230444797, 081234408577
 <https://jakad.id/>  jakadmedia@gmail.com

Anggota IKAPI
No. 222/JTI/2019

Perpustakaan Nasional RI.
Data Katalog Dalam Terbitan (KDT)
ISBN: 978-623-6551-62-2
xvi + 80 hlm.; 15,5x23 cm

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	xi
TATA TERTIB.....	xiii
FORMAT LAPORAN PRAKTIKUM.....	xiv
TOPIK I : PENGENALAN KESELAMATAN DAN KEAMANAN KERJA DI LABORATORIUM	3
A. Tujuan.....	3
B. Dasar Teori/Prinsip Dasar	3
1. Prinsip Umum Tentang Keamanan dan Keselamatan Kerja di Laboratorium.....	3
2. Alat Pelindung Diri	4
3. Prinsip Keamanan dan Keselamatan Bekerja dengan Bahan Kimia	4
4. Bekerja dengan Api	6
5. Bekerja dengan Peralatan Gelas	6
6. Bekerja dengan Bahan Biologis.....	7
7. Penanganan Limbah.....	7
TOPIK II : ENZIMOLOGI I: PENGARUH SUHU DAN PH TERHADAP AKTIVITAS ENZIM.....	11
A. Tujuan.....	11
B. Dasar Teori/Prinsip Dasar	11
C. Alat dan Bahan.....	13
D. Cara Kerja	13
1. Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim.....	13

2. Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim.....	14
E. Hasil Pengamatan.....	14
F. Evaluasi	15
TOPIK III : ENZIMOLOGI II: PENGARUH JUMLAH ENZIM DAN SUBSTRAT TERHADAP AKTIVITAS ENZIM.....	19
A. Tujuan.....	19
B. Dasar Teori/Prinsip Dasar	19
C. Alat dan Bahan.....	21
D. Cara Kerja	22
1. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Aktivitas Enzim.....	22
2. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Kerja Enzim	22
E. Hasil Pengamatan.....	23
F. Evaluasi	23
TOPIK IV : ENZIMOLOGI III: PENGARUH KOFAKTOR/ KOENZIM DAN INHIBITOR TERHADAP AKTIVITAS ENZIM.....	27
A. Tujuan.....	27
B. Dasar Teori/Prinsip Dasar	27
C. Alat dan Bahan.....	30
D. Cara Kerja	30
1. Pengaruh Koenzim Terhadap Aktivitas Enzim.....	30
2. Pengaruh Inhibitor Terhadap Aktivitas Enzim.....	31
E. Hasil Pengamatan.....	32
F. Evaluasi	32
TOPIK V : PRAKTIKUM METABOLISME KARBOHIDRAT	35
A. Tujuan.....	35

B. Dasar Teori/Prinsip Dasar	35
C. Alat dan Bahan.....	41
1. Pengamatan Hidrolisis Amilum untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat secara Ekstraseluler yaitu pada Saluran Pencernaan Manusia	41
2. Pengamatan Hidrolisis Amilum untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat secara Ekstraseluler yaitu pada Saluran Pencernaan Manusia	41
D. Cara Kerja	42
1. Pengamatan Hidrolisis Amilum untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat Secara Ekstraseluler yaitu pada Saluran Pencernaan Manusia	42
2. Uji Kadar Glukosa Darah untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat Secara Intraseluler	42
E. Hasil Pengamatan.....	43
F. Evaluasi	44
TOPIK VI : PRAKTIKUM METABOLISME LIPID.....	47
A. Tujuan.....	47
B. Dasar Teori/Prinsip Dasar	47
C. Alat dan Bahan.....	49
1. Percobaan Hidrolisis Lipid.....	49
2. Identifikasi Kadar Kolesterol dalam Darah	50
3. Identifikasi Kadar Keton dalam Urin	50
D. Cara Kerja	50
1. Percobaan Hidrolisis Lipid	50
2. Identifikasi Kadar Kolesterol dalam Darah	50
3. Identifikasi Kadar Keton dalam Urin	51
E. Hasil Pengamatan.....	52

1. Percobaan Hidrolisis Lipid.....	52	2. Hidrolisis Asam Nukleat.....	73
2. Identifikasi Kadar Kolesterol dalam Darah	52	3. Uji Fosfat	73
3. Identifikasi Kadar Keton dalam Urin	52	4. Uji Deoksiribosa.....	74
F. Evaluasi	52	5. Uji Ribosa	74
TOPIK VII : PRAKTIKUM METABOLISME PROTEIN	55	6. Uji Basa Purin.....	74
A. Tujuan.....	55	D. Cara Kerja	75
B. Dasar Teori/Prinsip Dasar	55	1. Isolasi Asam Nukleat	75
C. Alat dan Bahan.....	59	2. Hidrolisis Asam Nukleat.....	75
1. Uji Denaturasi Protein.....	59	3. Uji Fosfat	75
2. Uji Ikatan Peptida Protein	59	4. Uji Deoksiribosa.....	76
3. Identifikasi Albumin di dalam Urin	59	5. Uji Ribosa	76
D. Cara Kerja	60	6. Uji Basa Purin.....	76
1. Uji Denaturasi Protein.....	60	E. Hasil Pengamatan.....	77
2. Uji Ikatan Peptida Protein	60	F. Evaluasi.....	77
3. Identifikasi Albumin di dalam Urin	60	BIODATA PENULIS.....	79
E. Hasil Pengamatan.....	61		
1. Uji Denaturasi Protein.....	61		
2. Uji Ikatan Peptida Protein	62		
3. Identifikasi Albumin di dalam Urin	62		
F. Evaluasi	62		
TOPIK VIII : PRAKTIKUM METABOLISME XENOBIOTIK.....	65		
A. Tujuan.....	65		
B. Dasar Teori/Prinsip Dasar	65		
C. Cara Kerja	66		
D. Hasil Pengamatan.....	67		
E. Evaluasi	67		
TOPIK IX : ASAM NUKLEAT	71		
A. Tujuan.....	71		
B. Dasar Teori/Prinsip Dasar	71		
C. Alat dan Bahan.....	73		
1. Isolasi Asam Nukleat	73		

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Simbol Jenis Bahan Kimia.....	4
Gambar 1.2	Simbol NFPA Bahan Kimia.....	5
Gambar 3.1	Grafik Hubungan Konsentrasi Enzim Dengan Kecepatan Reaksi Enzim	20
Gambar 3.2	Kurva Reaksi Enzimatis.....	21
Gambar 4.1	Gambar Inhibitor Enzim Kompetitif.....	29
Gambar 4.2	Gambar Inhibitor Enzim Non Kompetitif..	30
Gambar 5.1	Struktur Kimia Amilum, Amylose, dan Amylopectin.....	38
Gambar 6.1	Struktur Pembentukan Lipid (Trigliserida) dari Asam Lemak dan Gliserol.....	48
Gambar 7.1	Struktur Dasar Asam Amino	55

TATA TERTIB

Tata tertib yang wajib diketahui dan dipatuhi peserta praktikum:

Sebelum masuk ke laboratorium

1. Praktikan harus sudah menyiapkan tiket masuk praktikum sesuai dengan percobaan yang dilakukan pada hari itu. Tiket masuk praktikum meliputi penulisan dasar teori, metodologi percobaan, dan tabel data pengamatan. Apabila tidak menyiapkan tiket masuk, tidak dapat mengikuti praktikum.
2. Praktikan harus mengenakan jas laboratorium dan alat pelindung diri lainnya
3. Wajib menggunakan sepatu tertutup
4. Dilarang memakai *make up* berlebihan
5. Jika ke empat hal di atas tidak ditaati maka mahasiswa yang bersangkutan tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
6. Mahasiswa masuk ke laboratorium 15 menit sebelum jadwal praktikum dimulai, jika terlambat masuk sesuai jadwal, maka tidak diperkenankan mengikuti praktikum.

Setelah masuk laboratorium

1. Mahasiswa wajib mengisi daftar hadir yang telah disediakan.
2. Mahasiswa wajib mengisi daftar alat dan bahan yang akan digunakan

Selama Praktikum Berlangsung

1. Melakukan praktikum dengan tertib, ikuti pengarahan dari instruktur, baik mengenai prosedur praktikum maupun penggunaan peralatan gelas.
2. Penggunaan peralatan gelas sesuai dengan fungsinya.
3. Tidak diperkenankan keluar-masuk laboratorium, makan dan minum, membuat keributan, serta menerima tamu.
4. Menjaga ketertiban dan keselamatan kerja, menjaga kebersihan, serta bersikap sopan selayaknya seorang mahasiswa.

Setelah Praktikum Selesai

1. Bersihkan semua peralatan dan meja seperti kondisi semula.
2. Buat laporan singkat, dan minta persetujuan dosen pembimbing.
3. Periksa kembali kebersihan lemari, meja, dan lantai (tidak basah dan tidak ada sampah yang tercecer)
4. Tinggalkan laboratorium dalam keadaan bersih dan rapi.

Laporan

1. Laporan dibuat sesuai petunjuk yang dilampirkan dalam buku petunjuk praktikum.
2. Laporan diserahkan paling lambat sebelum praktikum selanjutnya dilaksanakan.

Kehadiran

1. Semua praktikan wajib mengikuti seluruh rangkaian praktikum dari mulai pengarahan, response, dan praktikum itu sendiri.
2. Jika tidak hadir pada saat pengarahan maka tidak diperkenankan mengikuti praktikum

Nilai akhir praktikum terdiri dari:

1. Keaktifan (kehadiran, kedisiplinan waktu dan pengumpulan tugas, keaktifan) : 10%
2. Keterampilan Kerja di Laboratorium : 20%
3. Tugas (Jurnal praktiku/laporan praktikum/tugas proyek/ tugas lain) : 30%
4. Ujian Akhir Praktikum (UAP) : $\frac{40}{100} + 100\%$

FORMAT LAPORAN PRAKTIKUM

Halaman Judul

Isi :

Isi Laporan	Nilai
A. Judul Praktikum	2
B. Tujuan Praktikum	3
C. Dasar Teori	10
D. Tanggal Pelaksanaan, Alat, dan Bahan	5
E. Prosedur Kerja (dibuat dalam bentuk narasi)	10
F. Hasil Pengamatan	10
G. Analisis Hasil	20
H. Pembahasan	20
I. Kesimpulan	10
J. Daftar Rujukan	5
K. Lampiran-lampiran	5
Total	100

Format:

1. Kertas A4
2. Ketik
3. Aturan Penulisan Rujukan:
(Nama penulis dimulai dari nama belakang, tahun penulisan)
Misalnya: (Wahyu, dkk., 2010)
(Kuncoro dan Bangun, 2011)
4. Aturan Penulisan Daftar Rujukan:
Nama Penulis dimulai dari nama belakang (kurang dari sama dengan 3 orang disebutkan semua, lebih dari 3 ditulis dkk atau et al.). Tahun terbit. Judul Tulisan (*italic* bila diketik, digaris bawah bila tulis tangan). Nama Penerbit: Kota Penerbit.
Urutkan sesuai dengan abjad

Misalnya:

Kuncoro, Joko dan Bangun, Andi. 2011. *Patofisiologi Klinis*. Darmas: Bandung

Wahyu, D., Damayanti, E., dan Suyatno, R. 2010. *Anatomi Fisiologi Kedokteran Ed. 2*. ETC: Jakarta



Pengenalan Keselamatan dan Keamanan Kerja di Laboratorium

TOPIK I
**Pengenalan Keselamatan dan
Keamanan Kerja di Laboratorium**

A. Tujuan

Mahasiswa dapat mengenal dan mempraktekkan prinsip-prinsip keselamatan dan kerja di laboratorium

B. Dasar Teori/Prinsip Dasar

Laboratorium Biokimia-Biologi Terpadu bukan tempat yang berbahaya, sepanjang kita bekerja dengan hati-hati mengikuti teknik yang benar. Untuk itu hendaknya ditaati aturan-aturan yang berlaku.

1. Prinsip Umum Tentang Keamanan dan Keselamatan Kerja di Laboratorium

- a. Patuhi tata tertib yang berlaku di laboratorium
- b. Gunakan Alat Pelindung Diri (APD) dan jangan sekali-kali mengabaikannya
- c. Patuhi Prosedur Operasional Standar, Manual dan Instruksi Penggunaan Alat Laboratorium
- d. Kenali bahan-bahan kimia yang digunakan dengan memperhatikan *Material Safety Data Sheets (MSDS) Manual* ataupun petunjuk penggunaan bahan yang ada pada kemasan bahan untuk menghindari resiko bahaya bahan bersifat toksik, mudah terbakar, mudah teroksidasi dan bahan kimia beresiko lainnya.
- e. Perhatikan prosedur praktikum dengan cermat dan ikuti petunjuk praktikum yang tersedia
- f. Gunakan bahan dengan cermat sesuai dengan takaran yang ditentukan
- g. Berhati-hati dalam bekerja

2. Alat Pelindung Diri

Beberapa alat pelindung diri yang digunakan pada praktikum biokimia antara lain:

- Jas Laboratorium
Jas Laboratorium yang dipakai harus berlengan panjang, terbuat dari kain yang tebal.
- Kacamata Laboratorium
- Masker
- Sarung Tangan
- Sepatu Tertutup

3. Prinsip Keamanan dan Keselamatan Bekerja dengan Bahan Kimia

- Jenis Bahan Kimia dan Simbolnya
 - Toxic substance* (bahan beracun)
 - Corrosive substance* (bahan bersifat korosif)
 - Flammable substance* (bahan mudah terbakar)
 - Explosive* (bahan mudah meledak)
 - Oxidation agent* (Agen pengoksidasi)
 - Water sensitive substance* (Bahan sensitif reaktif terhadap air)
 - Acid sensitive substance* (Bahan reaktif terhadap asam)
 - Compressed gases* (Gas bertekanan)
 - Radioactive substance* (Bahan radioaktif)



Gambar 1.1
Simbol Jenis Bahan Kimia

Simbol Bahan Kimia berdasarkan Klasifikasi *National Fire Protection Association* (NFPA):



Gambar 1.2
Simbol NFPA Bahan Kimia

- Hal-hal yang harus diperhatikan saat menggunakan bahan-bahan kimia di laboratorium:
 - Jika terkena bahan kimia korosif, baik pada kulit ataupun mata, cepat cuci dengan air sebanyak banyaknya, kemudian minta bantuan pengawas.
 - Jangan mencoba mencicipi apapun ataupun mencium langsung asap/uap dari mulut tabung, tapi kipaslah uap tersebut dengan tangan ke muka anda.
 - Jangan memipet dengan mulut larutan-larutan korosif seperti asam-asam kuat (HCl pekat, H₂SO₄ pekat, HNO₃ pekat) basa-basa kuat (NaOH pekat, KOH pekat), dan larutan zat-zat beracun (NaCl, air brom, dan lain-lain)
 - Jangan menggosok-gosok mata atau anggota badan lain dengan tangan yang mungkin sudah terkontaminasi bahan kimia.
 - Bahan-bahan kimia dengan uap beracun atau merangsang selalu ditempatkan di lemari asam. Semua pekerjaan yang menggunakan bahan-bahan tersebut, harus dilakukan dalam lemari asam tersebut.
 - Untuk mengencerkan asam, tuang asam pekat ke dalam air, tidak sebaliknya.

- 7) Beberapa bahan kimia memerlukan penanganan khusus, seperti asam dan basa pekat, bromine, dimetil sulfat, fenol, sianida, H₂S, pelarut beracun seperti diklorometana, dan pelarut-pelarut yang mudah terbakar seperti aseton.

4. Bekerja dengan Api

- a. **Api harus dihindari**, semua senyawa organik bersifat *volatile* (mudah menguap) dan mudah terbakar, karena itu hindarkan pemakaian api terbuka. Pakailah *waterbath* atau *heating mantle*.
- b. Api di meja seringkali mudah dimatikan dengan lap basah, hati-hati jika ingin memakai pemadam api, jangan mengenai orang lain.
- c. **Pakaian terbakar**, penting sekali untuk membaringkan dan menggulirkan penderita. Tetap berdiri akan membahayakan pernapasan dan mata penderita. Dilarang memakai pemadam api, pakailah shower.

5. Bekerja dengan Peralatan Gelas

Kecelakaan karena kurang hati-hati dalam penanganan bahan gelas dihindari dengan memperhatikan hal-hal berikut:

- a. Ujung gelas harus tumpul tidak tajam, hindari penggunaan alat gelas yang pecah walaupun sedikit.
- b. Pada penggunaan sumbat karet, sebelum memasang sumbat karet atau gabus pada pipa gelas, pastikan bahwa lubang cukup besar dan telah dibasahi. Pegang gabus di antara ibu jari dan telunjuk, ***tidak telapak tangan***. Rangkum pipa gelas dekat ujungnya yang akan disumbat dan dorong pipa dengan tekanan secukupnya. Kita dapat menggunakan pelumas kaca dengan gliserin yang lebih baik dibandingkan dengan air.
- c. Jangan melepas sumbat dengan kekerasan dari pipa gelas. Jika perlu, potong sumbat atau tarik dengan bor gabus.
- d. Jangan coba memaksa memasukkan gabus yang terlalu besar.

6. Bekerja dengan Bahan Biologis

Bahan biologis yang biasanya digunakan dalam praktikum biokimia medis dapat berupa darah, serum dan urin yang memungkinkan juga diambil dari pasien. Untuk menjaga keamanan dan keselamatan dalam penggunaan bahan biologis terutama sampel pasien yang bersifat patologis maka harus memperhatikan hal-hal berikut:

- a. Menggunakan APD lengkap (jas lab, gloves, dan masker)
- b. Menjaga lingkungan laboratorium dalam kondisi bersih
- c. Menerapkan prinsip sterilitas untuk menggunakan sampel yang infeksius
- d. Memperhatikan prosedur kerja praktikum agar sampel biologis yang digunakan dalam keadaan optimal.
- e. Pada kegiatan sampling harap didampingi oleh teknisi yang handal.
- f. Memperhatikan jenis sampel yang membutuhkan penanganan khusus seperti sampel infeksius agar tidak menginfeksi praktikan sendiri.

7. Penanganan Limbah

- a. Limbah bahan kimia terutama bahan berbahaya dan beracun (B3) dibuang di dalam tempat penampungan (drum) khusus.
- b. Limbah medis berupa limbah infeksius dapat dibuang di wastafel laboratorium dengan sepengetahuan instruktur laboratorium.
- c. Limbah medis berupa jarum suntik dibuang pada buangan khusus (box) jarum suntik.
- d. Membersihkan area praktikum dari limbah bahan kimia maupun medis



Enzimologi 1

Pengaruh Suhu dan PH Terhadap Aktivitas Enzim

TOPIK II
ENZIMOLOGI I
PENGARUH SUHU DAN PH TERHADAP
AKTIVITAS ENZIM

A. Tujuan

1. Mahasiswa dapat melakukan percobaan pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim
2. Mahasiswa dapat melakukan percobaan pengaruh pH terhadap aktivitas enzim

B. Dasar Teori/Prinsip Dasar

Enzim merupakan protein yang berfungsi dalam mempercepat reaksi biokimia (biokatalisator). Aktivitas biokatalisator juga mampu menurunkan energi aktivasi sehingga proses reaksi biokimia berjalan dengan cepat dan efektif. Enzim dapat mempercepat reaksi namun tidak mempengaruhi kesetimbangan akhir. Reaksi yang terjadi dengan bantuan enzim disebut juga dengan reaksi enzimatik. Berbeda dengan katalis anorganik, enzim yang merupakan biokatalisator hanya bekerja pada satu macam reaksi. Enzim bekerja pada suatu substrat tertentu yang biasanya mendasari penamaan pada enzim tersebut, misalnya enzim amylase bekerja pada substrat amilum dst.

Enzim tersusun atas struktur protein yang disebut dengan apoenzim. Enzim akan aktif dengan bantuan gugus prostetik berupa kofaktor atau koenzim. Struktur apoenzim dan gugus prostetik akan bergabung membentuk struktur enzim yang aktif yang disebut dengan holoenzim. Keberadaan kofaktor dan koenzim dapat menentukan aktif atau tidaknya enzim sehingga juga dapat menentukan terjadinya reaksi biokimia.

Enzim memiliki karakter yang sama dengan golongannya yaitu protein. Enzim memiliki sifat bekerja pada substrat tertentu secara spesifik. Dalam suatu reaksi biokimia, enzim hanya dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit dan dapat digunakan berulang kali. Walaupun digunakan dalam mempercepat reaksi, enzim tidak ikut berubah dalam reaksi itu sendiri. Enzim biasanya memiliki pasangan yang dapat bekerja bolak balik pada suatu reaksi. Seperti halnya protein, enzim akan mengalami denaturasi pada suhu yang tinggi.

Setiap enzim memiliki sifat fisika dan kimia yang berbeda-beda. Sejumlah faktor dapat mempengaruhi kerja enzim antara lain suhu, pH, jumlah enzim, jumlah substrat, adanya koenzim dan kofaktor, adanya aktivator dan inhibitor. Masing-masing faktor tersebut akan bekerja pada enzim pada kondisi yang optimal.

Suhu dapat mempengaruhi kerja enzim. Secara fisika, adanya peningkatan suhu menyebabkan partikel akan bergerak makin aktif. Dalam hal ini enzim dan substrat bertubrukan lebih sering sehingga enzim memiliki lebih banyak kesempatan untuk mengkatalisis reaksi. Fenomena ini meningkat sampai suhu optimum tercapai. Suhu yang terlalu tinggi dapat merusak enzim (enzim mengalami denaturasi). Sedangkan pada suhu yang rendah, enzim tidak punya cukup energi untuk bereaksi. Agar reaksi biokimia dapat berlangsung, reaktan harus bertumbukan dengan energi yang cukup bagi enzim untuk memutuskan ikatan kimia dan membuat ikatan baru. Energi ini disebut dengan energi aktivasi.

Derajat keasamaan (pH) dapat mempengaruhi kerja enzim karena pH akan menyebabkan perubahan struktur intra molekuler enzim. Apabila perubahan terlalu besar dapat menyebabkan terjadinya denaturasi, sehingga enzim akan kehilangan aktivitasnya. Sesuai dengan hukum kinetika kimia, maka semakin tinggi temperatur, kecepatan reaksi enzimatik juga semakin tinggi. Kenaikan kecepatan reaksi akan diikuti penurunan apabila fungsi dan aktivitas enzim menurun.

C. Alat dan Bahan

Alat:

- Penangas air
- Tabung reaksi dan rak
- Beaker glass
- Pipet ukur
- Pipet tetes
- Stopwatch
- Plat tetes

Bahan:

- Larutan amilum 2%
- Enzim amylase 2%
- Larutan iodium 2%
- Reagen Benedict
- HCl 0,1 M
- Aquades
- Larutan Na_2CO_3 1%

D. Cara Kerja

1. Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim

- Sediakan 4 tabung reaksi yang bersih dan kering. Berilah label A, B, C, dan D.
- Masukkan 2 mL larutan amilum pada masing-masing tabung.
- Pada tabung A, masukkan 1 mL enzim amilase, lalu letakkan pada beaker glass yang berisi es batu, dan biarkan selama 15 menit. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.
- Pada tabung B, masukkan 1 mL enzim amilase dan biarkan selama 15 menit pada suhu ruang. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.
- Pada tabung C, masukkan 1 mL enzim amilase, lalu letakkan pada beaker glass yang berisi air panas (temperatur 60°C), dan biarkan selama 15 menit. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict yaitu dengan meneteskan 3 tetes sampel dan 3 tetes larutan uji.
- Pada tabung D, masukkan 1 mL enzim amilase, lalu letakkan pada beaker glass yang berisi air panas mendidih (temperatur $>80^\circ\text{C}$), dan biarkan selama 15 menit. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.

2. Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim

- Sediakan 3 tabung reaksi yang bersih dan kering. Beri label A, B, dan C.
- Masukkan 2 mL larutan amilum pada masing-masing tabung reaksi.
- Pada tabung A, masukkan 1 mL enzim amilase dan 2 mL HCl 0,1 M, dan kocok hingga homogen. Diamkan larutan selama 15 menit. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.
- Pada tabung B, masukkan 1 mL enzim amilase dan 2 mL aquades, dan kocok hingga homogen. Diamkan larutan selama 15 menit. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.
- Pada tabung C, masukkan 1 mL enzim amilase dan 2 mL larutan Na_2CO_3 1%, dan kocok hingga homogen. Diamkan larutan selama 15 menit. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict yaitu dengan meneteskan 3 tetes sampel dan 3 tetes larutan uji.

E. Hasil Pengamatan

- Tabel pengamatan pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim

Tabung	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Amilum	Amilase	Uji Iodium	Uji Benedict
1	0	2 mL	1 mL		
2	25 - 30	2 mL	1 mL		
3	60 - 70	2 mL	1 mL		
4	80 - 100	2 mL	1 mL		

- Buatlah tabel pengamatan pengaruh pH terhadap aktivitas enzim

Tabung	Reagen	pH	Amilum	Amilase	Uji Iodium	Uji Benedict
1	HCl	1	2 mL	1 mL		
2	Aquades	7	2 mL	1 mL		
3	Na_2CO_3	9	2 mL	1 mL		

F. Evaluasi

- Bagaimana cara enzim dapat aktif?
- Sebutkan karakteristik enzim!
- Jelaskan pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim!
- Jelaskan pengaruh pH terhadap aktivitas enzim!
- Sebutkan kesimpulan apa yang dapat diperoleh dari kedua percobaan di atas!



Enzimologi 2

Pengaruh Konsentrasi Enzim dan Substrat Terhadap Aktivitas Enzim

TOPIK III
ENZIMOLOGI II
PENGARUH KONSENTRASI ENZIM DAN
SUBSTRAT TERHADAP AKTVITAS ENZIM

A. Tujuan

1. Mahasiswa dapat menjelaskan reaksi enzimatik suatu substrat tertentu
2. Mahasiswa dapat melakukan percobaan pengaruh konsentrasi substrat terhadap kerja enzim

B. Dasar Teori/Prinsip Dasar

Metabolisme merupakan proses biokimia yang terjadi di dalam tubuh manusia. Reaksi metabolisme membutuhkan enzim untuk mengkatalisis prosesnya secara spesifik. Apabila dalam suatu reaksi yang dikatalisis oleh enzim, konsentrasi substrat tetap dan dalam jumlah yang besar, maka keadaan awal reaksi dinyatakan dengan persamaan:

$$V_1 = k_1[S][E]$$

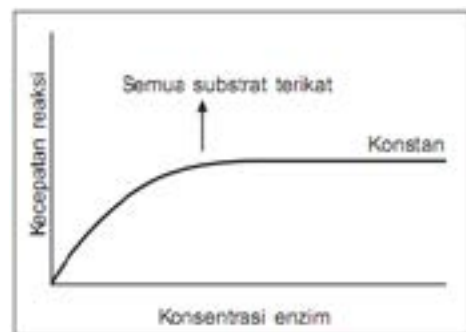
Jika [S] konstan, maka $V_1 = k_1[E]$

[S] adalah konsentrasi substrat dan [E] adalah konsentrasi enzim. Berdasarkan persamaan di atas, kecepatan reaksi sebanding dengan kadar enzim, tetapi apabila kesetimbangan telah tercapai maka:

$$K_{eq} = \frac{[E][P]}{[E][S] [S]}$$

K_{eq} merupakan kesetimbangan reaksi yang telah dicapai dan [P] adalah konsentrasi produk. Berdasarkan persamaan tersebut dapat dilihat bahwa pada saat kesetimbangan reaksi tercapai, enzim tidak berpengaruh lagi.

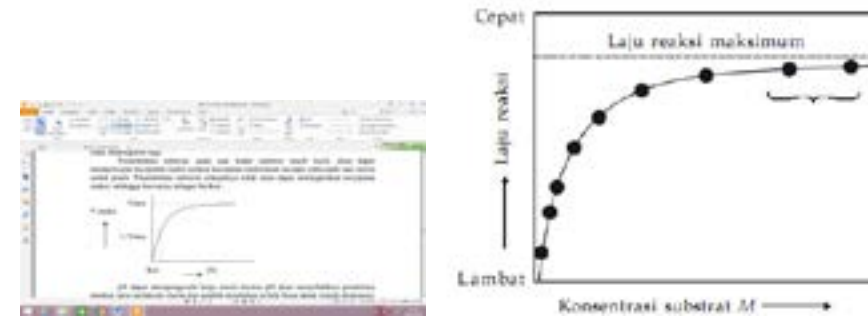
Laju reaksi enzimatik hingga konsentrasi tertentu akan berbanding lurus terhadap peningkatan konsentrasi enzim namun setelah melewati daerah linier, aktivitas enzim terhambat dan menurun. Dengan demikian daerah tersebut tidak tepat digunakan dalam pengkajian aktivitas enzim. Aktivitas enzim didefinisikan sebagai ukuran jumlah berkurangnya substrat dan terbentuknya produk per satuan waktu yang dipengaruhi oleh jumlah enzim yang digunakan untuk pengujian. Pada konsentrasi substrat tertentu, bertambahnya konsentrasi enzim secara bertingkat akan menaikkan kecepatan reaksi enzimatik. Dengan kata lain, semakin besar volume atau konsentrasi enzim maka semakin tinggi pula aktivitas enzim untuk memecah substrat yang dikatalis. Kecepatan proses metabolisme molekul substrat mengikuti konsentrasi enzim hingga mencapai kecepatan konstan. Kecepatan konstan akan tercapai jika semua substrat sudah terikat oleh enzim dan menjadi produk. Berikut ini adalah grafik hubungan antara konsentrasi enzim dengan kecepatan reaksi enzim:



Gambar 3.1
Grafik Hubungan Konsentrasi Enzim dengan Kecepatan Reaksi Enzim

Pada konsentrasi substrat diperbesar sedangkan kondisi lainnya tetap, maka kecepatan reaksi (v) akan meningkat sampai suatu batas kecepatan maksimum (V). Pada titik maksimum

ini enzim telah jenuh dengan substrat. Penambahan substrat selanjutnya tidak akan dapat meningkatkan kecepatan reaksi, sehingga kurva reaksi dapat digambarkan seperti di bawah ini. V_{\max} adalah kecepatan reaksi maksimum.



Gambar 3.2
Kurva Reaksi Enzimatik

Dalam suatu reaksi enzimatik, enzim akan mengikat substrat membentuk kompleks enzim-enzim [ES], kemudian kompleks ini akan terurai menjadi [E] dan produk [P]. Makin banyak kompleks [ES] terbentuk, makin cepat reaksi berlangsung sampai batas kejenuhan [ES]. Pada konsentrasi substrat [S] melampaui batas kejenuhan kecepatan reaksi akan konstan. Dalam keadaan itu seluruh enzim sudah berada dalam bentuk kompleks E-S. Penambahan jumlah substrat tidak menambah jumlah kompleks E-S.

C. Alat dan Bahan

Alat

- Tabung reaksi dan rak
- Stopwatch
- Waterbath
- Plat tetes
- Pipet ukur
- Pipet tetes

Bahan

- Larutan amilum 2% matang
- Enzim amylase 2%
- Larutan iodium 2%
- Reagen benedict

D. Cara Kerja

1. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Aktivitas Enzim

- Sediakan 3 tabung reaksi yang bersih dan kering. Beri label A, B, dan C.
- Masukkan 2 mL larutan amilum matang pada masing-masing tabung reaksi.
- Pada tabung A, tambahkan 0,5 mL enzim amilase, kocok hingga homogen, dan biarkan selama 15 menit dalam waterbath dengan suhu 37°C. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.
- Pada tabung B, tambahkan 1 mL enzim amilase, kocok hingga homogen, dan biarkan selama 15 menit dalam waterbath dengan suhu 37°C. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.
- Pada tabung C, tambahkan 1,5 mL enzim amilase, kocok hingga homogen, dan biarkan selama 15 menit dalam waterbath dengan suhu 37°C. Setelah itu uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.

2. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Kerja Enzim

- Sediakan 4 tabung reaksi yang bersih dan kering. Beri label A, B, C, dan D.
- Pada tabung A, tambahkan larutan amilum matang 1 mL
- Pada tabung B, tambahkan larutan amilum matang 2 mL
- Pada tabung C, tambahkan larutan amilum matang 3 mL
- Pada tabung D, tambahkan larutan amilum matang 4 mL
- Pada masing-masing tabung reaksi, tambahkan 1 mL enzim amilase, kocok hingga homogen, dan diamkan selama 15 menit dalam waterbath dengan suhu 37°C.
- Ujilah masing-masing larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.

Catatan:

Jangan menambahkan enzim secara serentak ke dalam tabung reaksi, untuk memudahkan pengamatan dan mengamati perubahannya.

E. Hasil Pengamatan

- Buatlah tabel pengamatan pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim

Tabung	Amilum	Amilase	Uji Iodium	Uji Benedict
1	2 mL	0,5 mL		
2	2 mL	1 mL		
3	2 mL	1,5 mL		

- Buatlah tabel pengamatan pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim

Tabung	Amilum	Amilase	Uji Iodium	Uji Benedict
1	1 mL	1 mL		
2	2 mL	1 mL		
3	3 mL	1 mL		
4	4 mL	1 mL		

F. Evaluasi

- Jelaskan fungsi enzim di dalam proses metabolisme!
- Apa yang dimaksud dengan kesetimbangan reaksi!
- Jelaskan pengaruh penambahan enzim pada aktivitas enzim!
- Jelaskan pengaruh penambahan substrat pada aktivitas enzim!



Enzimologi 3

Pengaruh Kofaktor/Koenzim dan Inhibitor Terhadap Aktivitas Enzim

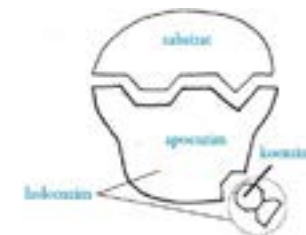
TOPIK IV
ENZIMOLOGI III
PENGARUH KOFAKTOR/KOENZIM DAN
INHIBITOR TERHADAP AKTIVITAS ENZIM

A. Tujuan

1. Mahasiswa dapat melakukan percobaan pengaruh kofaktor/koenzim terhadap aktivitas enzim!
2. Mahasiswa dapat melakukan percobaan pengaruh inhibitor terhadap aktivitas enzim!

B. Dasar Teori/Prinsip Dasar

Enzim dapat bekerja karena pengaruh substansi lain di dalam suatu reaksi. Sejumlah substansi yang dapat mempengaruhi kerja enzim antara lain kofaktor/koenzim, aktivator, dan inhibitor. Kofaktor/koenzim merupakan struktur yang akan bergabung dengan apoenzim untuk membentuk struktur holoenzim atau bentuk aktif dari enzim. Kofaktor terdiri dari koenzim, gugus prostetik, dan aktivator. Hal ini dapat dikatakan bahwa kofaktor/koenzim dapat mengaktifkan enzim. Berikut ini merupakan struktur aktif enzim:



Kofaktor/koenzim dapat membantu enzim untuk memperkuat ikatan dengan substrata tau kebutuhan unsur anorganik seperti karbon dan membantu proses transfer elektron. Koenzim merupakan senyawa organik sedangkan kofaktor merupakan senyawa anorganik.

Salah satu senyawa yang memiliki peranan sebagai koenzim yaitu vitamin. Semua jenis vitamin telah terbukti mendukung aktivitas enzim dalam reaksi metabolisme tubuh. Tiamin (vitamin B1) merupakan koenzim yang berperan di dalam reaksi yang menggunakan enzim alpha keto dekarboksilase, asam alpha keto oksidase, transketolase dan fosfoketolase. Riboflavin (vitamin B2) terdiri atas D ribitol yang berperan sebagai faktor pertumbuhan. Kobalami (vitamin B12) berperan sebagai koenzim yang aktif bagi konversi metilkobalamin dan deoksiadenosilkobalamin yang penting dalam menjaga fungsi sel.

Suatu senyawa, unsur atau ion, kadang-kadang dapat meningkatkan aktivitas kerja suatu enzim. Zat-zat yang mempunyai peranan demikian disebut sebagai aktivator enzim. Beberapa enzim yang dihasilkan dalam bentuk tidak aktif (inaktif) disebut proenzim atau zymogen. Apabila zymogen pada kondisi tertentu berhubungan dengan aktivatornya, enzim ini akan berubah menjadi enzim yang aktif. Beberapa senyawa zymogen antara lain:

1. Pepsin: mengubah pepsinogen menjadi pepsin
2. Enterokinase dan tripsin: mengubah trypsinogen menjadi tripsin
3. Tripsin dan Kimotripsin mengubah trypsinogen menjadi tripsin
4. Tripsin: mengubah prokarboksipeptidase menjadi karboksipeptidase.

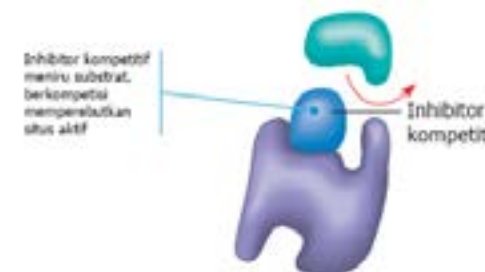
Kebanyakan aktivator adalah ion-ion anorganik, terutama ion logam atau kation misalnya ion-ion Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , dan Fe^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} dan seterusnya.

Berbeda dengan aktivator, terdapat zat kimia tertentu yang menghambat kerja enzim yang disebut dengan inhibitor (penghambat). Jika inhibitor (penghambat) melekat ke enzim melalui ikatan kovalen, maka penghambatan yang terjadi biasanya tidak dapat balik. Toksin, racun, peptide DDT dan parathion seringkali merupakan inhibitor enzim yang tidak dapat balik.

Inhibitor enzim dapat dibedakan menjadi 2 yaitu inhibitor kompetitif dan inhibitor non kompetitif dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Inhibitor kompetitif

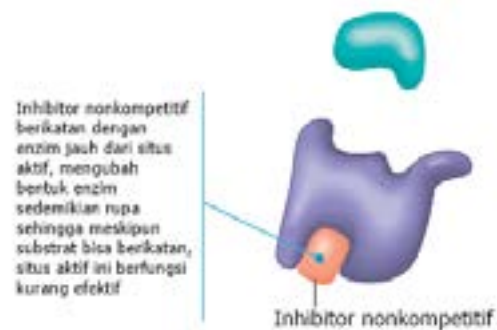
Inhibitor kompetitif merupakan zat kimia penghambat enzim yang menyerupai molekul substrat normal dan berkompetisi untuk bisa memasuki sisi aktif enzim. Zat-zat peniru ini menurunkan produktivitas enzim dengan cara menghalangi substrat memasuki sisi aktif. Jenis penghambatan ini dapat diatasi dengan meningkatkan konsentrasi substrat sehingga kebitu sisi aktif kosong maka ada lebih banyak molekul substrat daripada inhibitor disekitarnya yang bisa masuk ke dalam sisi aktif tersebut. Berikut ini merupakan gambar ilustrasi inhibitor enzim kompetitif:



Gambar 4.1
Gambar Inhibitor Enzim Kompetitif

2. Inhibitor Non kompetitif

Inhibitor non kompetitif merupakan inhibitor yang tidak berkompetisi secara langsung dengan substrat namun mengganggu reaksi enzimatik dengan cara berikatan dengan bagian lain dari enzim yang menyebabkan molekul enzim berubah bentuk sedemikian rupa sehingga sisi aktif enzim menjadi kurang efektif mengkatalisis substrat menjadi produk. Berikut ini merupakan gambaran aktivitas inhibitor non kompetitif enzim:



Gambar 4.2
Gambar Inhibitor Enzim Non Kompetitif

C. Alat dan Bahan

Alat

- Tabung reaksi serologis
- *Waterbath*
- *Stopwatch*
- Jarum suntik
- Torniquet
- Pipet tetes
- Mikropipet

Bahan

- Darah
- Alkohol *swab*
- Vitamin K 10%
- Larutan Amylase 2%
- Larutan Amilum 2%
- Larutan Iodium 2%
- Reagen Benedict
- Toluene
- Kloroform
- Fenol

D. Cara Kerja

1. Pengaruh Koenzim Terhadap Aktivitas Enzim

- a. Tempatkan ke 2 tabung reaksi ke dalam *waterbath* (pada suhu 37°C) dan diberi label Tabung A dan B.
- b. Ambil darah vena 2 ml, segera jalankan *stopwatch* pada saat darah tampak di dalam jarum. Tuangkan 1 ml ke dalam setiap tabung.
- c. Tambahkan 2 tetes vitamin K 10% pada tabung B sesaat setelah darah di masukkan ke dalam tabung reaksi.
- d. Diamkan tabung A dan B dalam *waterbath* selama 3 menit.

- e. Setelah 3 menit mulailah mengamati tabung A dan B.
- f. Angkat tabung keluar dari *waterbath* dalam posisi tegak lurus, lalu miringkan, perhatikan apakah darah masih bergerak atau tidak (membeku). Lakukan hal ini pada tabung I setiap selang waktu 30 detik sampai terlihat darah dalam tabung sudah tidak bergerak (darah sudah membeku).
- g. Catat selang waktu dari saat pengambilan darah sampai darah membeku sebagai masa pembekuan.
- h. Nilai rujukan waktu pembekuan (*clotting time*) pada Metode Lee-White adalah: 4 - 10 menit pada suhu 37°C.
- i. Bandingkan waktu pembekuan darah atau *clotting time* (CT) antara tabung A dan B.

2. Pengaruh Inhibitor Terhadap Aktivitas Enzim

- a. Sediakan 4 tabung reaksi yang bersih dan kering. Berilah label A, B, C, dan D.
- b. Masukkan 1 mL enzim amilase pada tabung A.
- c. Masukkan 1 mL enzim amilase dan 3 tetes toluene pada tabung B.
- d. Masukkan 1 mL enzim amilase dan 3 tetes kloroform pada tabung C.
- e. Masukkan 1 mL enzim amilase dan 3 tetes fenol pada tabung D.
- f. Masukkan masing-masing 2 mL amilum pada tabung A, B, C, dan D
- g. Kocok perlahan keempat tabung lalu diamkan selama 15 menit
- h. Uji larutan dengan larutan iodium dan reagen benedict.

E. Hasil Pengamatan

1. Pengaruh Koenzim Terhadap Aktivitas Enzim

Tabung	Darah Vena	Vitamin K	Lama Waktu Pembekuan Darah/ <i>Clotting Time</i> (CT)
A	2 mL	-	
B	2 mL	+	

2. Pengaruh Inhibitor Terhadap Aktivitas Enzim

Tabung	Larutan Amilum	Enzim Amylase	Zat Tambahan	Uji Iodium	Uji Benedict
A	2 mL	1 mL	-		
B	2 mL	1 mL	3 tetes toluene		
C	2 mL	1 mL	3 tetes kloroform		
D	2 mL	1 mL	3 tetes fenol		

F. Evaluasi

1. Jelaskan mekanisme kerja koenzim dan kofaktor di dalam kerja enzim!
2. Jelaskan mekanisme inhibitor dalam menghambat kerja enzim!
3. Jelaskan perbedaan hasil perhitungan waktu pembekuan darah (*clotting time*) antara yang tidak ditambah dengan vitamin K dengan yang ditambah vitamin K!
4. Jelaskan perbedaan hasil uji iodium dan benedict pada percobaan dengan penambahan toluene, kloroform, dan fenol dengan yang tanpa diberi tambahan apapun!
5. Manakah diantara toluene, kloroform, dan fenol yang memiliki aktivitas menghambat kerja enzim amylase?

Praktikum Metabolisme Karbohidrat

TOPIK V

PRAKTIKUM METABOLISME KARBOHIDRAT

A. Tujuan

1. Mahasiswa dapat melakukan percobaan untuk membuktikan proses hidrolisis senyawa karbohidrat rantai panjang menjadi gugus yang lebih sederhana sebagai pembuktian terjadinya metabolisme karbohidrat ekstraseluler (melalui sistem pencernaan).
2. Mahasiswa dapat melakukan uji kuantitatif adanya glukosa pada darah orang normal dan pasien Diabetes Mellitus untuk membuktikan kegagalan terjadinya metabolisme karbohidrat intraseluler.

B. Dasar Teori/Prinsip Dasar

Karbohidrat (zat pati/zat tepung/zat gula) merupakan senyawa yang terdiri dari atom karbon (C), hydrogen (H), dan oksigen (O) dengan perbandingan rumus molekul $(CH_2O)_n$. Karbohidrat berperan dalam membentuk struktur organisme dan terlibat dalam proses metabolisme. Karbohidrat hanya dapat disintesis (anabolisme) pada tumbuhan, sedangkan hewan dan manusia memanfaatkan karbohidrat untuk mendapatkan energi melalui proses katabolisme. Karbohidrat merupakan sumber energi dan cadangan energi bagi manusia. Karbohidrat akan diserap oleh tubuh manusia dalam bentuk glukosa melalui reaksi hidrolisis secara enzimatis membentuk molekul yang lebih sederhana. Glukosa akan masuk ke dalam sel akan dimetabolisme berupa reaksi pembongkaran (katabolisme) di dalam mitokondria. Proses ini juga dikenal sebagai proses respirasi seluler. Setiap 1 gr karbohidrat akan menghasilkan 4 kalori.

Senyawa karbohidrat digolongkan menjadi 3 golongan berdasarkan panjang atau pendeknya rantai karbon yaitu monosakarida, disakarida atau oligosakarida, dan polisakarida.

1. Monosakarida

Monosakarida merupakan jenis karbohidrat paling sederhana yang tersusun atas 3–7 atom C (karbon) dan tidak dapat dihidrolisis lagi. Monosakarida bersifat mudah larut dalam air, berupa zat padat putih, berwarna caramel jika dipanaskan, dan bersifat mereduksi. Beberapa jenis monosakarida antara lain:

Triosa (3 atom karbon): gliserosa, gliseraldehid, dihidroksi aseton

Tetrosa (4 atom karbon): threosa, eritrosa, xylulose

Pentosa (5 atom karbon): lyxosa, xilosa, arabinosa, ribose, ribulose

Hexosa (6 atom karbon): galaktosa, glukosa, mannose, fruktosa

Heptosa (7 atom karbon): sedoheptulosa

2. Disakarida/Oligosakarida

Disakarida merupakan senyawa yang terbentuk dari 2 molekul monosakarida yang sejenis ataupun tidak melalui ikatan glikosida. Disakarida dapat dihidrolisis menjadi senyawa monosakarida misalnya:

- a. Maltosa dapat dihidrolisis menjadi 2 molekul glukosa
- b. Sukrosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa
- c. Laktosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa
- d. Laktulosa dapat dihidrolisis menjadi fruktosa dan galaktosa

3. Polisakarida

Polisakarida merupakan karbohidrat rantai panjang atau polimer monosakarida yang mempunyai berat molekul besar, tidak larut dalam air, dan membentuk koloid di dalam larutan. Beberapa jenis polisakarida antara lain amilum, selulosa, glikogen (gula otot), kitin, hemiselulosa, dan pektin.

Keberadaan karbohidrat dapat diuji dengan berbagai macam uji kualitatif antara lain: 1) Uji Molish, 2) Uji Barfoed, 3) Uji Benedict, 4) Uji Iodium, dan 5) Uji Seliwanoff.

1. Uji Molisch

Hidrolisa ikatan glukosidik pada karbohidrat oleh asam sulfat pekat akan menghasilkan monosakarida, yang terhidratasi menjadi furfural dan turunannya. Senyawa tersebut kemudian berkondensasi dengan α -naftol membentuk senyawa berwarna. Reaksi positif ditandai dengan munculnya cincin ungu di permukaan antara lapisan asam dan lapisan sampel.

2. Uji Benedict

Uji Benedict digunakan untuk mengidentifikasi adanya gula-gula pereduksi. Gula pereduksi meliputi semua jenis monosakarida dan beberapa disakarida seperti laktosa dan maltosa. Pada uji benedict, reagen benedict akan bereaksi dengan gugus aldehyd (kecuali aldehyd dalam gugus aromatik) dan alpha hidroksi keton. Oleh karena itu, meskipun fruktosa bukan termasuk gula pereduksi, namun karena memiliki gugus alpha hidroksi keton, maka fruktosa akan berubah menjadi glukosa dan mannosa dalam suasana basa dan memberikan hasil positif dengan reagen benedict. Maltosa dan laktosa memberikan uji positif dengan reagen benedict, sedangkan larutan sukrosa tidak bereaksi karena tidak memiliki gugus aldehyd atau alpha hidroksi keton bebas.

3. Uji Barfoed

Reagen Barfoed merupakan asam lemah dan hanya dapat mereduksi monosakarida. Reagen barfoed terdiri atas kupri asetat dan asam asetat. Pendidihan yang terlalu lama akan menghidrolisa disakarida sehingga memberikan hasil reaksi positif yang salah. Endapan kupro oksida akan mudah diamati apabila endapan yang berada di dalam tabung reaksi dibiarkan mengendap. Warna kupro oksida akan berbeda bila dibandingkan dengan reaksi benedict atau fehling. Reaksi

Tabel 5.2
Hasil Semi Kuantitatif Uji Benedict

No	Warna Hasil Uji	Penilaian	Konsentrasi
1	Biru-hijau keruh	-	-
2	Hijau-hijau kekuningan	+1	<0,5%
3	Kuning kehijauan-kuning keruh	+2	0,5 - 1%
4	Jingga	+3	1 - 2%
5	Merah bata	+4	>2%

Karbohidrat juga dapat ditentukan kuantitasnya dengan cara analisa kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri. Senyawa karbohidrat apabila direaksikan dengan fenol dan asam sulfat pekat akan menghasilkan senyawa kompleks berwarna jingga. Penentuan kadar glukosa dalam sari buah dilakukan dengan cara membuat kurva standard glukosa.

Diabetes mellitus (DM) adalah salah satu penyakit akibat gangguan pada metabolisme glukosa di dalam tubuh yang berakibat pada penumpukan glukosa di dalam pembuluh darah. DM terbagi menjadi 2 jenis yaitu DM tipe I dan II. DM tipe I dicirikan dengan rendahnya kadar insulin dalam yang diproduksi oleh sel Beta Pankreas menyebabkan glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel dan tidak dapat dimetabolisme. Sedangkan DM tipe II dicirikan dengan adanya resistensi insulin yang berakibat sama yaitu glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel dan tidak dapat dimetabolisme. Kadar glukosa darah puasa pada orang normal adalah kurang dari 80-109 mg/dL. Kadar glukosa darah puasa pre-diabetes 110-125 mg/dL, sedangkan penderita DM >126 mg/dL. Ketika glukosa darah tinggi maka dapat dikatakan bahwa metabolisme karbohidrat di dalam tubuh terganggu. Glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel dan tidak dapat dikatabolisme menjadi energi melalui proses respirasi seluler di mitokondria.

Kadar glukosa darah dapat diperiksa secara kuantitatif salah satunya dengan menggunakan fotometer. Adapun prinsip pemeriksaan ini adalah glukosa dioksidasi menjadi d-glukonat

oleh glukosa oksidase Bersama dengan hydrogen peroksidase. Adanya peroksidase, campuran fenol, dan 4-aminoantipirin akan dioksidasi oleh hydrogen peroksidase untuk menghilangkan warna merah quinenomina yang sebanding dengan konsentrasi glukosa dalam sampel. Reaksi yang terjadi dapat digambarkan sebagai berikut:



C. Alat dan Bahan

1. Pengamatan Hidrolisis Amilum untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat secara Ekstraseluler yaitu pada Saluran Pencernaan Manusia

Alat

- Tabung reaksi dan rak
- Penangas air (*waterbath*)
- Plat tetes
- Pipet ukur
- Pipet tetes

Bahan

- Larutan amilum 10%
- HCl 2 M
- Larutan iodium 2%
- Reagen benedict

2. Pengamatan Hidrolisis Amilum untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat secara Ekstraseluler yaitu pada Saluran Pencernaan Manusia

Alat:

- Fotometer
- Mikropipet
- Tabung reaksi dan rak
- Timer
- *Blue tip* dan *yellow tip*
- Tisu
- Torniquet
- Jarum suntik
- Vacuteiner
- Sentrifus
- Waterbath

Bahan:

- Darah orang normal
- Darah pasien DM
- Glukosa PAP tes Kit

D. Cara Kerja

1. Pengamatan Hidrolisis Amilum untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat Secara Ekstraseluler yaitu pada Saluran Pencernaan Manusia

- Masukkan 5 mL larutan amilum 10% ke dalam tabung reaksi.
- Tambahkan 2,5 mL HCl 2 M, kocok.
- Masukkan ke dalam penangas air mendidih.
- Setelah 3 menit, ambil 2 tetes larutan dan letakkan pada plat tetes, dan tambahkan larutan iodine 2 tetes. Catat perubahan warna yang terjadi.
- Lakukan langkah yang sama seperti di atas setiap 3 menit sampai didapatkan hasil berwarna kuning pucat (\pm sampai 21 menit).
- Terakhir lanjutkan hidrolisis sampai 5 menit, didinginkan.
- Lakukan uji benedict, masukkan 2 tetes larutan amilum yang telah dihidrolisis dan tambahkan reagen benedict 6 tetes. Campurkan dengan baik, masukkan dalam penangas air mendidih selama 5 menit, biarkan dingin. Perhatikan warna dan endapan yang terbentuk.

2. Uji Kadar Glukosa Darah untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat Secara Intraseluler

Mode = End - Point

Sampel: 1) Orang Normal, 2) Sampel Darah Penderita DM

Pipet ke dalam 3 tabung	Blanko (μ l)	Standar (μ l)	Sampel (μ l)
Standar			
Sampel			
Reagen			

Inkubasi selama 5 - 10 menit pada suhu 37°C lalu baca kadar glukosa pada Panjang gelombang 505 nm dan T-faktor 1.000

Perhitungan:

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{\text{Nilai absorbansi sampel}}{\text{Nilai absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi (100)}$$

Nilai normal:

- Glukosa puasa : < 126 mg/dL
 Glukosa 2 jam PP : < 180 - 200 mg/dL
 Glukosa sewaktu : < 200 mg/dL

E. Hasil Pengamatan

- Hasil Pengamatan Hidrolisis Amilum untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat secara Ekstraseluler yaitu pada Saluran Pencernaan Manusia

- Tabel pengamatan hidrolisis amilum 10%

Waktu Hidrolisis	Warna dengan Iodine	Hasil Hidrolisis
3 menit		
6 menit		
9 menit		
12 menit		
15 menit		
18 menit		
21 menit		

- Tuliskan hasil pengamatan uji benedict

Warna	Penilaian	Konsentrasi

- Hasil Pengamatan Uji Kadar Glukosa Darah untuk Mempelajari Metabolisme Karbohidrat secara Intraseluler

Sampel Darah	Kadar Glukosa Darah (mg/dL)
Orang Normal	
Pasien DM	

F. Evaluasi

1. Sebutkan jenis-jenis karbohidrat monosakarida, disakarida, dan polisakarida!
2. Jelaskan yang dimaksud dengan hidrolisis karbohidrat!
3. Kapan amilum mengalami hidrolisis di dalam tubuh manusia?
4. Sebutkan fungsi larutan iodium dan benedict!
5. Sebutkan hasil hidrolisis amilum menggunakan larutan iodium pada waktu yang berbeda-beda!
6. Mengapa kadar glukosa darah orang Diabetes mellitus lebih tinggi dibandingkan dengan orang normal?
7. Berikan kesimpulan hasil percobaan hidrolisis amilum dan uji kadar glukosa darah!

Praktikum Metabolisme Lipid

TOPIK VI

PRAKTIKUM METABOLISME LIPID

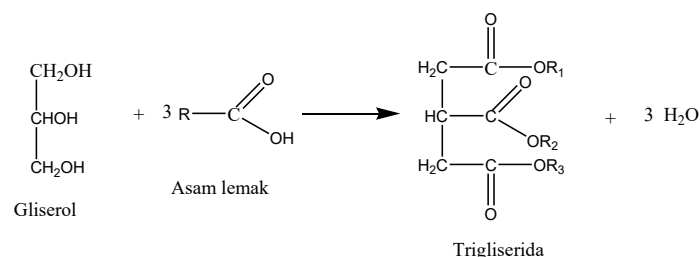
A. Tujuan

1. Mahasiswa mampu melakukan percobaan membuktikan terjadinya hidrolisis lipid
2. Mahasiswa mampu melakukan identifikasi kolesterol dalam darah pada kegagalan proses metabolisme lipid
3. Mahasiswa mampu melakukan identifikasi keton dalam urin

B. Dasar Teori/Prinsip Dasar

Lipid merupakan senyawa organik berminyak atau berlemak yang tidak larut di dalam air, yang dapat diekstrak dari sel dan jaringan oleh pelarut nonpolar, seperti kloroform, atau eter. Jenis lipid yang paling banyak adalah lemak atau triasilgliserol, yang merupakan bahan bakar utama bagi semua organisme. Lipid mempunyai beberapa fungsi diantaranya adalah sebagai komponen struktural membran, sebagai bahan bakar, sebagai lapisan pelindung dan sebagai vitamin dan hormon. Lipid merupakan sumber energi yang lebih efektif dibandingkan dengan karbohidrat dan protein.

Lipid adalah trigliserida yang merupakan senyawa ester, hasil kondensasi dari tiga molekul asam lemak dengan satu molekul trihidroksi alkohol (gliserol). Struktur kimia dan sifat fisik asam lemak penyusun lipid terdiri dari gugus karboksilat dan rantai karbon (C) yang terdiri dari atom H dan O. Pembentukan lipid dapat dituliskan dalam reaksi berikut ini:



Gambar 6.1
Struktur Pembentukan Lipid (Trigliserida)
dari Asam Lemak dan Gliserol

R_1 , R_2 , dan R_3 adalah rantai hidrokarbon dengan jumlah atom karbon 3 – 23. Apabila $R_1 = R_2 = R_3$, maka trigliserida yang terbentuk adalah trigliserida sederhana, sebaliknya jika R-nya berbeda disebut trigliserida campuran. Berdasarkan struktur kimianya, lipid terbagi menjadi 8 jenis yaitu asam lemak, gliserolipid, gliserofosfolipid, sfingolipid, sakarolipid, dan poliketida, lipid sterol dan lipid fenol.

Berdasarkan jumlah ikatan atom C, asam lemak dibedakan ke dalam rantai asam lemak dengan ikatan atom C tunggal yang disebut asam lemak jenuh (saturated) dan rantao asam lemak dengan satu atau lebih ikatan rangkap yang disebut asam lemak tidak jenuh (unsaturated). Ikatan rangkat mempunyao sifat struktur yang tidak stabil dan kaku (rigit) sehingga di dalam larutan dapat membuat isomer, yaitu cis dan trans. Pada umumnya, lipid yang mengandung asam lemak jenuh bersifat padat yang sering disebut lemak, sedangkan lipid yang mengandung asam lemak tidak jenuh bersifat cair pada suhu kamar dan disebut minyak.

Lipid terhidrolisis jika larutan dalam asam atau basa, air, dan enzim lipase. Hidrolisis lipid oleh asam akan menghasilkan gliserol dan asam-asam lemak penyusunnya. Hidrolisis lipid oleh basa kuat (KOH atau NaOH) akan menghasilkan campuran sabun K^+ atau Na^+ dan gliserol. Proses hidrolisis ini disebut penyabunan atau saponifikasi. Hidrolisis lipid oleh air akan terjadi jika lemak atau minyak dipanaskan dengan air pada suhu 180°C dan tekanan

1 atm, kemudian akan terhidrolisis menjadi gliserol dan asam-asam lemak. Gliserol larut di dalam air, sedangkan asam lemak terapung di atas air.

Di dalam tubuh manusia, lipid terdiri dari asam lemak, triasilgliserol, dan kolesterol. Kolesterol merupakan komponen lemak yang terdapat pada pembuluh darah berguna untuk membentuk dinding sel-sel dalam tubuh, dan sebagai bahan dasar pembentukan hormone steroid. Kolesterol bukan hanya berasal dari makanan yang kita konsumsi sehari-hari, namun sekitar 80% kolesterol dihasilkan di hati. Jumlah kolesterol berlebih dalam tubuh mengakibatkan hiperkolesterolemia. Biasanya disebabkan oleh obesitas, alkoholisme, gangguan ginjal, gangguan hati, diabetes, diuretik, kortikosteroid, dan penyakit tiroid. Kolesterol yang tinggi dapat menyebabkan berbagai macam penyakit misalnya dyslipidemia. Kadar kolesterol yang tinggi akan menyebabkan penebalan plak lumen pembuluh darah, tetapi juga mudah memicu kerusakan dinding pembuluh darah. Plak yang menebal pada dinding pembuluh darah berisi lemak dan komponen peradangan yang dapat menyebabkan aterosklerosis dan serangan jantung.

Metabolisme lipid akan terjadi peningkatan pada penderita Diabetes mellitus, sebab metabolisme karbohidrat mengalami gangguan sehingga kebutuhan akan energi dipenuhi dari pembongkaran lipid. Peningkatan metabolisme lipid dapat menyebabkan peningkatan kadar keton di dalam urin penderita DM.

C. Alat dan Bahan

1. Percobaan Hidrolisis Lipid

Alat:

- Labu Erlenmeyer
- Gelas arloji
- Pipet tetes
- Gelas ukur
- Hot plate stirrer
- Spatula logam

Bahan:

- Minyak goreng
- NaOH teknis
- Etanol p.a
- Aquades

2. Identifikasi Kadar Kolesterol dalam Darah

Alat:

- Plat tetes
- Pipet tetes
- Tabung reaksi
- Beaker glass

Bahan

- Serum darah manusia normal dan kolesterol tinggi
- Reagen kit untuk kolesterol

3. Identifikasi Kadar Keton dalam Urin

Alat:

- Tabung reaksi dan rak
- Pipet tetes
- Pipet ukur

Bahan:

- Urin
- Larutan uji Rothera

D. Cara Kerja

1. Percobaan Hidrolisis Lipid

- Masukkan 5 mL minyak goreng ke dalam Erlenmeyer, tambahkan 1,5 gram NaOH dan 12,5 mL etanol.
- Panaskan selama 15 menit, sampai mendidih (tutup bagian atas labu erlenmeyer dengan gelas arloji).
- Cek kesempurnaan reaksi penyabunan yang terjadi dengan cara ambil 3 tetes larutan dan larutkan dalam 5 mL aquades, jika larut maka reaksi sudah sempurna.
- Uapkan etanol yang tersisa sampai habis, dinginkan, dan tambahkan 75 mL aquades kemudian panaskan sampai semua sabun larut.

2. Identifikasi Kadar Kolesterol dalam Darah

- Metode identifikasi kadar kolesterol dalam darah berupa metode Koletero oksidase/peroksidase.

- Adanya 3 enzim kolesterol esterase (CE), kolesterol oksidase (CO), dan peroksidase (POD), pada campuran fenol dan 4-aminoantipirin (4-AA) akan bereaksi dengan hydrogen peroksidase menghasilkan warna merah quinoneimine yang sebanding dengan konsentrasi kolesterol dalam sampel.

c. Prosedur:

Mode = END - POINT

Pipet ke dalam tabung reaksi	Blanko (μl)	Standar (μl)	Sampel (μl)
Standar			
Sampel (normal)			
Sampel (pasien)			
Reagen			

Campur dan inkubasi selama 5 menit pada 37°C atau 10 menit suhu ruang pada (20-30)°C. Baca hasil pada panjang gelombang 505 nm.

3. Identifikasi Kadar Keton dalam Urin

- Penentuan kadar keton dalam urin menggunakan Metode Rothera
- Siapkan 2 buah tabung reaksi dan diberi nama tabung A dan B.
- Tabung A diisi dengan 5 ml urin normal
- Tabung B diisi dengan 5 ml urin patologis (penderita DM)
- Tambahan 3 tetes pereaksi Rothera ke dalam masing-masing tabung
- Sampel yang positif mengandung keton akan berubah menjadi ungu.

Praktikum Metabolisme Protein

E. Hasil Pengamatan

1. Percobaan Hidrolisis Lipid

No	Sampel	Perlakukan	Pengamatan

2. Identifikasi Kadar Kolesterol dalam Darah

No	Sampel	Kadar kolesterol	Kesimpulan
1	Normal		
2	Pasien		

3. Identifikasi Kadar Keton dalam Urin

No	Sampel	Kadar keton	Kesimpulan
1	Normal		
2	Pasien		

F. Evaluasi

1. Jelaskan jenis hidrolisis lipid!
2. Sebutkan struktur kimia penyusun lipid!
3. Sebutkan kadar kolesterol darah yang normal pada wanita dan pria dewasa!
4. Jelaskan kesimpulan hasil pengamatan Anda pada percobaan kali ini!

TOPIK VII

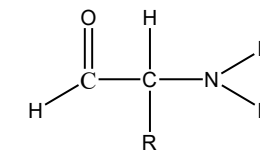
PRAKTIKUM METABOLISME PROTEIN

A. Tujuan

1. Mahasiswa mampu melakukan uji denaturasi protein.
2. Mahasiswa mampu melakukan identifikasi ikatan peptide.
3. Mahasiswa mampu melakukan identifikasi protein albumin di dalam urin.

B. Dasar Teori/Prinsip Dasar

Protein merupakan komponen utama dalam semua sel hidup, baik tumbuhan maupun hewan. Protein adalah senyawa organik kompleks yang terdiri atas unsur-unsur karbon (C), hidrogen (H), oksigen (O), dan nitrogen (N), ada beberapa yang mempunyai unsur belerang (S) dan fosfat (P). Asam amino merupakan monomer dari protein (polipeptida) yang terikat melalui ikatan peptida, yaitu ikatan antara gugus karboksil (-COOH) dan gugus amina (-NH₂).



Gambar 7.1
Struktur Dasar Asam Amino

Asam amino memiliki gugus amino dan karboksilat, sehingga mempunyai sifat-sifat asam maupun basa. Setiap asam amino terdapat gugus samping R yang berbeda-beda. Ion hidroksil (-OH) dari gugus hidroksil suatu asam amino dapat berikatan secara kovalen dengan ion hidrogen dari gugus amina asam amino lainnya membentuk ikatan peptida. Setiap senyawa peptida memiliki satu gugus asam amino di salah satu ujung dan gugus

karboksil di ujung lainnya. Gugus asam amino, gugus karboksil, gugus rantai samping residu asam amino, dan ikatan peptida dapat menentukan sifat terionisasi, kelarutan, dan pengendapan dari protein.

Struktur dan sifat protein sangat ditentukan oleh struktur dan sifat asam amino penyusunnya. Jenis protein sangat ditentukan oleh susunan dan jumlah asam aminonya. Asam amino maupun protein memiliki gugus reaktif khas yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa tersebut.

Asam amino tidak bersifat seperti senyawa-senyawa organik pada umumnya pada umumnya, tetapi mirip dengan garam-garam anorganik. Pada umumnya asam amino larut dalam air, tetapi hanya larut sebagian di dalam pelarut organik. Titik leleh asam-asam amino sangat tinggi untuk senyawa-senyawa organik dengan massa molekul relatif rendah dan dominan lebih besar dari 200 °C. Hal ini disebabkan karena asam amino di dalam larutan netral akan membentuk zwitter ion (ion yang bermuatan ganda). Titik leleh yang tinggi dapat pula dijelaskan dalam hubungannya dengan energi yang dibutuhkan untuk memecahkan ikatan-ikatan ionik dalam kisi kristalnya.

Sifat-sifat umum protein antara lain adalah:

1. Protein murni tidak berbau dan tidak memberi rasa, tetapi ada beberapa derivat memberi rasa pahit.
2. Bersifat amfoter.
3. Viskositas dalam larutan tergantung dari jenisnya. Protein fibrosa lebih tinggi viskositasnya daripada protein globular.
4. Protein dapat mengalami reaksi pengendapan.
5. Protein dapat diidentifikasi berdasarkan reaksi warna spesifik asam amino penyusunnya.

Protein dapat mengalami denaturasi, yaitu perubahan fisik, kimia, maupun fisiologisnya karena putusannya ikatan yang menstabilkan struktur tersier protein, baik sebagian maupun seluruhnya. Denaturasi dapat terjadi karena pengaruh bahan kimiawi, sinar UV, sinar X, pemanasan, dan mekanik. Perubahan

akibat denaturasi dapat merubah titik isoelektrik, kelarutan, tegangan permukaan, dan hilangnya aktivitas atau fungsi biologis protein.

Di dalam tubuh manusia, protein akan terhidrolisis menjadi asam amino, diserap, dan dimetabolisme oleh sel untuk berbagai kebutuhan seluler. Protein adalah bahan utama penyusun sel tubuh dan pembangun bagi jaringan dan organ seperti otot, tulang, dan organ tubuh. Protein juga berperan di dalam melindungi tubuh dari infeksi, menjaga integritas sel, berperan pada pembekuan dan menjaga keseimbangan cairan tubuh. Saat darah melewati ginjal yang sehat, ginjal menyaring produk limbah dan meninggalkan hal-hal yang masih dibutuhkan oleh tubuh termasuk albumin dan protein lain. Adanya kandungan albumin dan protein lain di dalam urin menandakan terjadinya proteinuria.

Patogenesis proteinuria terjadi melalui 4 mekanisme antara lain: 1) perubahan permeabilitas glomerulus yang mengikuti peningkatan filtrasi dari protein plasma normal terutama albumin, 2) kegagalan tubulus mereabsorpsi sejumlah kecil protein yang normal difiltrasi, 3) filtrasi glomerulus dari sirkulasi abnormal, Low Molecular Weight Protein (LMWP) dalam jumlah melebihi kapasitas reabsorpsi tubulus, 4) eksresi yang meningkat dari mekuloprotein uroepitel dan sekresi IgA dalam respon untuk inflamasi. Sejumlah besar protein secara normal melewati kapiler glomerulus tetapi tidak memasuki urin. Muatan dan selektivitas dinding glomerulus mencegah transportasi albumin, globulin dan protein dengan berat molekul besar lainnya untuk menembus dinding glomerulus. Protein yang lebih kecil (100 kDal) sementara foot processes dari epitel/podosit akan memungkinkan lewatnya air dan zat terlarut kecil untuk transpor melalui saluran yang sempit. Saluran ini ditutupi oleh anion glikoprotein yang kaya akan glutamat, aspartat, dan asam silat yang bermuatan negatif pada pH fisiologis. Muatan negatif akan menghalangi transpor molekul anion seperti albumin.

Mekanisme lain dari timbulnya proteinuria ketika produksi berlebihan dari proteinuria abnormal yang melebihi kapasitas reabsorpsi tubulus. Ini biasanya sering dijumpai pada diskrasia sel plasma (mieloma multipel dan limfoma) yang dihubungkan dengan produksi monoklonal imunoglobulin rantai pendek. Rantai pendek ini dihasilkan dari kelainan yang disaring oleh glomerulus dan di reabsorpsi kapasitasnya pada tubulus proksimal. Bila ekskresi protein urin total melebihi 3,5 gram sehari, sering dihubungkan dengan hipoalbuminemia, hiperlipidemia dan edema (sindrom nefrotik).

Proteinuria sebenarnya tidaklah selalu menunjukkan kelainan/penyakit ginjal. Beberapa keadaan fisiologis pada individu sehat dapat menyebabkan proteinuria. Pada keadaan fisiologis sering ditemukan proteinuria ringan yang jumlahnya kurang dari 200 mg/hari dan bersifat sementara. Misalnya, pada keadaan demam tinggi, gagal jantung, latihan fisik yang kuat terutama lari maraton dapat mencapai lebih dari 1 gram/hari, pasien hematuria yang ditemukan proteinuria masif, yang sebabnya bukan karena kebocoran protein dari glomerulus tetapi karena banyaknya protein dari eritrosit yang pecah dalam urine akibat hematuria tersebut (positif palsu proteinuria masif).

Sebaliknya, tidak semua penyakit ginjal menunjukkan proteinuria, misalnya pada penyakit ginjal polikistik, penyakit ginjal obstruksi, penyakit ginjal akibat obat-obatan analgesik dan kelainan kongenital kista, sering tidak ditemukan proteinuria. Walaupun demikian proteinuria adalah manifestasi besar penyakit ginjal dan merupakan indikator perburukan fungsi ginjal. Baik pada penyakit ginjal diabetes maupun pada penyakit ginjal non diabetes.

Kita mengenal 3 macam proteinuria yang patologis: Proteinuria yang berat, sering kali disebut masif, terutama pada keadaan nefrotik, yaitu protein didalam urin yang mengandung lebih dari 3 gram/24 jam pada dewasa atau 40 mg/m²/jam pada anak-anak, biasanya berhubungan secara bermakna dengan lesi/kebocoran

glomerulus. Sering pula dikatakan bila protein di dalam urin melebihi 3,5 gram/24 jam.

Penyebab proteinuria masif sangat banyak, yang pasti keadaan diabetes melitus yang cukup lama dengan retinopati dan penyakit glomerulus. Terdapat 3 jenis proteinuria patologis: 1) proteinuria glomerulus, misalnya: mikroalbuminuria, proteinuria klinis, 2) proteinuria tubular, 3) *overflow* proteinuria.

C. Alat dan Bahan

1. Uji Denaturasi Protein

Alat:

- Tabung reaksi dan rak
- Pipet tetes
- Pipet ukur
- Penangas air

Bahan:

- Larutan albumin telur
- Larutan pepton 5%
- Larutan HCl 1 M
- Larutan NaOH 1 M
- HNO₃ pekat

2. Uji Ikatan Peptida Protein

Alat:

- Tabung reaksi dan rak
- Pipet tetes
- Pipet ukur

Bahan:

- Larutan albumin telur
- Larutan pepton 5%
- Larutan gelatin 5%
- Larutan NaOH 10%
- Larutan CuSO₄ 0,2%

3. Identifikasi Albumin di dalam Urin

Alat:

- Fotometer
- Mikropipet 20 µl dan 1000 µl
- Yellow tip
- Blue tip
- Tabung reaksi

Bahan:

- Reagen enzim (RGT) 4 x 100 ml
- Standar (STD) 8 gr/dl
- Sampel Urin Orang Normal dan Urin Pasien Gagal Ginjal

D. Cara Kerja

1. Uji Denaturasi Protein

- Siapkan 3 tabung reaksi yang bersih dan kering. Beri label A, B, dan C.
- Masukkan 2 mL larutan albumin telur pada masing-masing tabung.
- Pada tabung A, tambahkan 0,5 mL HCl 1 M.
- Pada tabung B, tambahkan 0,5 mL NaOH 1 M.
- Pada tabung C, tambahkan 0,5 mL HNO₃ pekat.
- Letakkan 3 tabung reaksi tadi pada penangas air selama 10 menit.
- Dinginkan pada temperatur kamar, netralkan, dan amati perubahan yang terjadi.

2. Uji Ikatan Peptida Protein

Identifikasi adanya ikatan peptida dalam protein dapat dilakukan melalui uji biuret. Reagen biuret terdiri dari CuSO₄ dan NaOH. Kupri sulfat dalam suasana basa bereaksi dengan senyawa yang mengandung 2 atau lebih ikatan peptida, akan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna ungu. Intensitas warna yang dihasilkan pada banyaknya ikatan peptida yang terdapat pada protein.

- Siapkan 3 tabung reaksi yang bersih dan kering, isilah dengan larutan albumin telur, larutan pepton 5%, dan larutan gelatin 5%, masing-masing 2 mL.
- Tambahkan di setiap tabung 1 mL NaOH 10% dan 3 tetes CuSO₄ 0,2%, kocok hingga homogen, dan amati perubahan yang terjadi.

3. Identifikasi Albumin di dalam Urin

Assay:

- Panjang gelombang : Hg 546 nm (520–580 nm)
 Optical path : 1 cm
 Temperature : 20–25°C atau 37°C
 Pengukuran : Menggunakan reagen blank

Prosedur:

Ke dalam tabung	Blanko	Standar	Test
Spesimen (μl)	-	-	20
Standar (μl)	-	20	-
Reagen (μl)	1000	1000	1000
Campuran inkubasi 10 menit pada suhu ruang, baca absorbance sample dan standar terhadap reagen blanko stabil 30 menit.			

Perhitungan : $\Delta A \text{ test} \times \text{Konsentrasi ST} = \dots\dots\dots \text{ g/dl}$
 $\Delta A \text{ St}$

Nilai normal : Bayi : 4.6 – 7.0 g/dl
 Anak dewasa : 6.6 – 8.7 g/dl

E. Hasil Pengamatan

1. Uji Denaturasi Protein

Bahan	Tabung A	Tabung B	Tabung C
Albumin telur	2 mL	2 mL	2 mL
HCl 0,1 M	0,5 mL		
NaOH 0,1 M		0,5 mL	
HNO ₃ pekat			0,5 mL
Kocok sampai homogen			
Panaskan dalam penangas air selama 10 menit			
Dinginkan pada temperatur kamar			
Netralkan			
Hasil:			

2. Uji Ikatan Peptida Protein

No	Sampel	Perlakuan	Hasil Pengamatan
1	Albumin telur	1 mL NaOH 10% + 3 tetes CuSO ₄ 0,2%	
2	Pepton 5%	1 mL NaOH 10% + 3 tetes CuSO ₄ 0,2%	
3	Gelatin 5%	1 mL NaOH 10% + 3 tetes CuSO ₄ 0,2%	

3. Identifikasi Albumin di dalam Urin

No	Sampel	Hasil Pengamatan
1	Urin (Orang Normal)	
2	Urin (Pasien GGK)	

F. Evaluasi

Jelaskan kesimpulan hasil percobaan uji denaturasi protein, uji ikatan peptide, dan identifikasi albumin di dalam urin!

Praktikum Metabolisme Xenobiotik

TOPIK VIII

PRAKTIKUM METABOLISME XENOBIOTIK

A. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan percobaan untuk mendeteksi adanya zat antibiotik yang masuk di dalam tubuh yang dideteksi dari hasil reaksi metabolismenya.

B. Dasar Teori/Prinsip Dasar

Xenobiotik adalah bahan kimia yang ditemukan dalam organisme, tetapi tidak diharapkan untuk diproduksi atau terdapat didalamnya, atau mereka adalah bahan kimia yang ditemukan dalam konsentrasi yang lebih tinggi dari biasanya. Terdapat lima proses kemungkinan penyerapan usus xenobiotik, transport aktif, difusi pasif, pinositosis, filtrasi melalui pori-pori, dan penyerapan limfatik. Sejumlah factor yang dapat mengubah tingkat penyerapan xenobiotic yang meliputi diet, motilitas usus, gangguan gastro flora usus, perubahan dalam laju pengosongan lambung, usia, dan tingkat disolusi.

Xenobiotik yang dimetabolisme oleh biotransformasi atau reaksi detoksifikasi dan mereka dikelompokkan ke dalam fase satu dan fase dua reaksi. Fase pertama reaksi berupa reaksi oksidasi satu meliputi reaksi reduksi, hidrolisis, dan fase kedua berupa sulfasi, asetilasi, metilasi, dan konjugasi dengan asam glukuronat, glutation dan glisin. Ekskresi terjadi melalui urin xenobiotic, napas feses, dan keringat.

Kelas utama xenobiotik antara lain obat-obatan, karsinogen kimiawi, dan beragam senyawa lainnya seperti polychlorinated biphenyls (PCBs) dan insektisida tertentu.



Skema Ilustrasi Masuknya Senyawa Asing ke dalam Tubuh

Metabolise xenobiotik terdiri dari 2 fase yaitu fase I dan fase II:

Fase I : Katalisator → Sitokrom P450 (hidroksilasi)

Fase II : Konjugasi → Larut Air → Ekskresi

Pada fase I reaksi utamanya berupa hidroksilasi yang dikatalisis oleh beberapa monooksigenase atau sitokrom P450. Hidroksilasi dapat menghentikan aksi obat, walaupun tidak selalu. Selain reaksi hidrolisis terdapat beberapa reaksi lainnya seperti deaminasi yaitu suatu reaksi kimiawi pada metabolisme yang melepaskan gugus amina dari molekul senyawa asam amino, dehalogenase yaitu tindakan untuk menghilangkan halogen dari bahan kimia berbahaya atau terkontaminasi dengan membuatnya menjadi kurang beracun, desulfurasi yaitu proses penghilangan unsur belerang (sulfur), epoksidasi, peroksidasi, dan reduksi. Reaksi yang melibatkan juga proses hidrolisis (dikatalisis oleh esterase).

Pada fase II, terjadi konversi produk fase I (oleh enzim spesifik) menjadi metabolit polar melalui proses konjugasi asam glukoronat, sulfat, asetat, glutation, asam amino tertentu, dan proses asetilasi serta metilasi. Hasil metabolisme dapat larut dalam air dan dikeluarkan (diekskresikan) melalui empedu dan urin.

C. Cara Kerja

1. Siapkan sampel urin di dalam pot sampel setinggi 1 cm dari dasar pot sampel.
2. Tambahkan 3 tetes FeCl_3
3. Jika terbentuk warna biru violet maka hasilnya positif.

D. Hasil Pengamatan

No.	Kelompok	Hasil Pengamatan
1		
2		
3		
4		
5		
6		

E. Evaluasi

Jelaskan kesimpulan yang dapat diambil dari hasil praktikum pengujian xenobiotik!

Asam Nukleat

TOPIK IX

ASAM NUKLEAT

A. Tujuan

1. Melakukan analisis identifikasi asam nukleat melalui isolasi asam nukleat dari sel atau jaringan.
2. Melakukan identifikasi senyawa penyusun asam nukleat

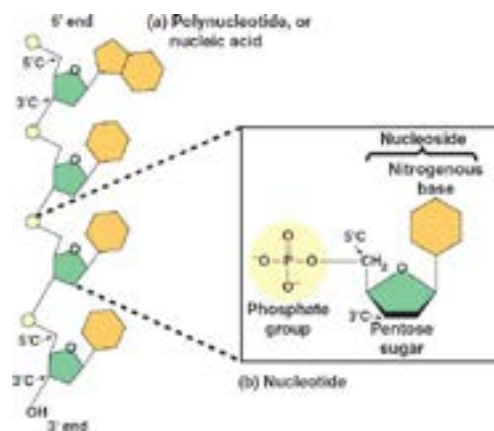
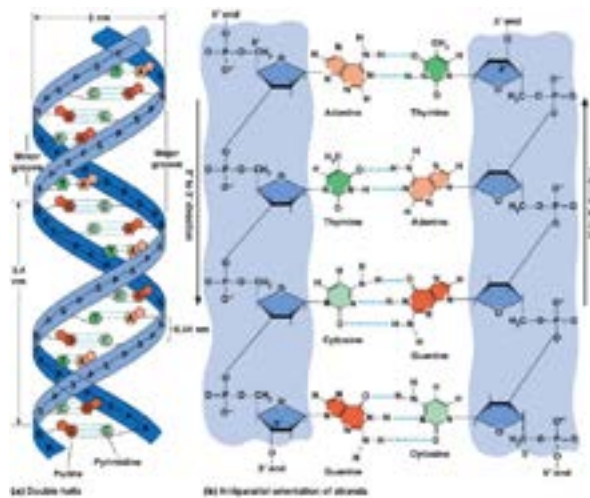
B. Dasar Teori/Prinsip Dasar

Asam nukleat adalah senyawa makromolekul yang bersifat asam yang mengandung fosfor dan basa nitrogen. Asam nukleat berfungsi sebagai penyimpan sifat keturunan, pembawa informasi genetik, penyimpan energi, dan beberapa diantaranya bekerja sebagai ko-enzim. Asam nukleat disebut juga sebagai polinukleotida merupakan polimer, dengan monomernya adalah nukleotida. Nukleotida terdiri atas basa nitrogen, gula pentose (memiliki atom C sebanyak 5), dan asam fosfat.

Basa-basa nuklein berfungsi untuk memetabolisme turunan purin dan pirimidin. Basa nuklein bergabung dengan C₁ dari pentosa dengan ikatan β-N glikosidik menghasilkan senyawa nukleosida. Ikatan ester dapat terbentuk antara C₃ atau C₅ dari pentosa dengan asam fosfat menghasilkan nukleotida. Basa-basa nuklein seperti adenine, guanin, dan sitosin dapat ditemukan dalam DNA maupun RNA. Basa keempat adalah timin terdapat pada DNA. Pada RNA, timin digantikan oleh urasil.

Makromolekul asam nukleat dibentuk oleh ikatan fosfodiester antara atom C₃ dari pentosa dengan atom C₅ dari pentose nukleotida sebelahnya. Ikatan tersebut merupakan ikatan inter nukleotida. Variasi dari urutan keempat basa nuklein menghasilkan urutan yang karakteristik untuk setiap individu asam nukleat. Pada tahun 1953, Watson dan Crick dengan menggunakan difraksi sinar X menemukan bahwa struktur

sekunder DNA merupakan double helix. Penemuan tersebut menjelaskan bahwa adanya dua rantai polinukleotida yang saling berlawanan arah, yaitu letak pentose dan asam fosfat. Kedua rantai tersebut bergabung melalui ikatan hidrogen antara basa-basanya. Pada guanin dan sitosin terdapat 3 ikatan hidrogen, sedangkan pada timin dan adenine terdapat 2 ikatan hidrogen. Hal ini menjelaskan bahwa basa-basa komplemen dari kedua untai berada pada posisi berlawanan arah, sehingga untai kedua mengkode untai pertama secara tepat.



C. Alat dan Bahan

1. Isolasi Asam Nukleat

Alat:

- Neraca analitik
- Pipet ukur
- Pipet tetes
- Mortar dan pestle
- Corong pisah
- Corong gelas
- Beaker glass
- Pengaduk gelas
- Pengaduk kayu
- Sentrifuge dan tabungnya
- Bola hisap

Bahan:

- Larutan buffer Tris-HCl 0,1 M pH 8
- Larutan Sodium Dodesil Sulfat (SDS)
- Dikloro metana : 2-butanol (96:4)
- Larutan ammonium sulfat 4 M
- Etanol 90%
- Kecambah

2. Hidrolisis Asam Nukleat

Alat:

- Tabung reaksi
- Pipet volume
- Corong pisah

Bahan:

- Asam nukleat hasil isolasi
- H_2SO_4 1 M

3. Uji Fosfat

Alat:

- Tabung reaksi
- Pipet ukur
- Bunsen

Bahan:

- Hidrolisat asam nukleat
- Larutan asam molibdat 10% (Larutan ammonium molibdat dibuat dengan cara melarutkan 10 g ammonium molibdat)

dalam 50 mL aquades, tambahkan HNO₃ pekat tetes demi tetes sampai ammonium molibdat larut, tambahkan aquades hingga tanda batas 100 mL)

- Kalium fosfat

4. Uji Deoksirobosa

Bahan:

- Hidrolisat asam nukleat
- Reagen Dische (1 gram difenilamin dilarutkan dalam 2,5 mL H₂SO₄ pekat, kemudian tambahkan asam asetat glasial sampai 100 mL)

Alat:

- Tabung reaksi
- Pipet ukur
- Bunsen

5. Uji Ribosa

Bahan:

- Hidrolisat asam nukleat
- Reagen orsinol (0,2 g orsinol dan 0,1 g FeCl₃ dilarutkan dalam 100 mL HCl pekat)

Alat:

- Tabung reaksi
- Pipet ukur
- Pipet tetes

6. Uji Basa Purin

Bahan:

- Hidrolisat asam nukleat
- Larutan AgNO₃ 1%
- Ammonia pekat

Alat:

- Tabung reaksi
- Pipet ukur
- Bunsen

D. Cara Kerja

1. Isolasi Asam Nukleat

- Timbang 10 gram kecambah dengan neraca analitik
- Tambahkan 10 mL buffer tris, digerus dalam mortar hingga berbentuk pasta
- Pindahkan ke gelas kimia dan tambahkan 2 mL larutan ammonium sulfat 4 M
- Diaduk dengan pengaduk gelas selama 10 menit
- Ditambahkan 20 mL larutan SDS dan diaduk kembali selama 10 menit.
- Campuran pasta dipindahkan ke dalam corong pisah
- Diekstrak dengan 20 ml larutan DCM:2-butanol
- Pisahkan lapisan bawah, buang
- Ambil lapisan atas, lakukan sentrifuge pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit.
- Supernatan yang dihasilkan dipipet dan dipindahkan ke gelas kimia
- Ditambahkan etanol 90% dingin sebanyak 2,5 kali banyaknya supernatant
- Asam nukleat akan mengendap berupa benang-benang halus sepanjang pengaduk kayu.

2. Hidrolisis Asam Nukleat

- Isilah tabung reaksi dengan asam nukleat hasil isolasi
- Tambahkan 10 mL H₂SO₄ 1 M
- Dididihkan selama 3 menit
- Disaring
- Filtrat didinginkan dan digunakan untuk percobaan selanjutnya

3. Uji Fosfat

- Masukkan 1 mL hidrolisat asam nukleat dalam tabung reaksi
- Tambahkan 3 mL larutan ammonium molibdat
- Dipanaskan selama 5 menit

- d. Amati hasil yang terjadi, adanya endapan kuning menunjukkan fosfat positif
- e. Gunakan kalium fosfat sebagai pembanding

4. Uji Deoksiribosa

- a. Masukkan 1 mL hidrolisat asam nukleat dalam tabung reaksi
- b. Tambahkan reagen dische 3 tetes
- c. Dididihkan selama 5 menit
- d. Amati hasil yang terjadi, warna biru menunjukkan adanya deoksiribosa

5. Uji Ribosa

- a. Masukkan 0,1 mL hidrolisat asam nukleat ke dalam tabung reaksi
- b. Tambahkan 1 mL reagen orsinol
- c. Dipanaskan selama 5 menit
- d. Amati perubahan yang terjadi, adanya ribosa ditunjukkan oleh perubahan warna larutan dari kuning menjadi hijau.

6. Uji Basa Purin

- a. Masukkan 1 mL hidrolisat asam nukleat ke dalam tabung reaksi
- b. Tambahkan ammonia pekat tetes demi tetes sampai basa
- c. Ditambahkan 3 tetes AgNO_3
- d. Amati perubahan yang terjadi, adanya endapan putih yang agak larut menandakan adanya basa-basa purin.

E. Hasil Pengamatan

No	Perlakuan	Pengamatan
1	Isolasi Asam Nukleat	
2	Hidrolisis Asam Nukleat	
3	Uji Fosfat	
4	Uji Deoksiribosa	
5	Uji Basa Purin	

F. Evaluasi

Jelaskan kesimpulan praktikum isolasi asam nukleat, hidrolisis asam nukleat, uji fosfat, uji deoksiribosa, dan uji basa purin!

BIODATA PENULIS



Martina Kurnia Rohmah, S.Si., M.Biomed, lahir di Tulungagung pada tanggal 1 April 1989, yang saat ini menjadi Dosen Tetap di Departemen Farmasi Klinis, Program Studi Sarjana Farmasi, STIKES Rumah Sakit Anwar Medika, Krian, Sidoarjo. Penulis menempuh pendidikan Sarjana Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang, Magister Ilmu Biomedik FK Universitas Brawijaya dan pernah mendapatkan beasiswa riset dari JASSO Scholarship di Graduated School of Science and Tecnology (GSST) Kumamoto University, Japan. Bidang keahlian yang dimiliki oleh penulis adalah biologi molekular, biokimia, biologi sel, bioteknologi molekular, imunologi dan biomedis.



Apt. Djelang Zainuddin Fickri, S.Farm., M.Farm. Klin, lahir di Surabaya pada tanggal 22 Oktober 1987, yang saat ini menjadi Dosen Tetap di Departemen Farmasi Klinis, Program Studi Sarjana Farmasi, STIKES Rumah Sakit Anwar Medika, Krian Sidoarjo. Penulis menempuh pendidikan Sarjana Farmasi, Pendidikan Profesi Apoteker, dan Magister Farmasi Klinis di Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Bidang keahlian yang dimiliki oleh penulis adalah farmasi klinis, biokimia, biomedis, farmakologi dan farmakoterapi *evidence base medicine*.

Petunjuk

PRAKTIKUM BIOKIMIA

untuk Program Studi S1 Farmasi



Martina Kurnia Rohmah, S.Si., M.Biomed, lahir di Tulungagung pada tanggal 1 April 1989, yang saat ini menjadi Dosen Tetap di Departemen Farmasi Klinis, Program Studi Sarjana Farmasi, STIKES Rumah Sakit Anwar Medika, Krian, Sidoarjo. Penulis menempuh pendidikan Sarjana Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang, Magister Ilmu Biomedik FK Universitas Brawijaya dan pernah mendapatkan beasiswa riset dari JASSO Scholarship di Graduated School of Science and Tecnology (GSST) Kumamoto University, Japan. Bidang keahlian yang dimiliki oleh penulis adalah biologi molekular, biokimia, biologi sel, bioteknologi molekular, imunologi dan biomedis.



Apt. Djelang Zainuddin Fickri, S.Farm., M.Farm.Klin. lahir di Surabaya pada tanggal 22 Oktober 1987, yang saat ini menjadi Dosen Tetap di Departemen Farmasi Klinis, Program Studi Sarjana Farmasi, STIKES Rumah Sakit Anwar Medika, Krian Sidoarjo. Penulis menempuh pendidikan Sarjana Farmasi, Pendidikan Profesi Apoteker, dan Magister Farmasi Klinis di Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Bidang keahlian yang dimiliki oleh penulis adalah farmasi klinis, biokimia, biomedis, farmakologi dan farmakoterapi *evidence base medicine*.



Jakad Publishing
Cash & Journal

☎ 081230444797, 051234408377
🌐 <http://www.jakad.id>
✉ jakadmedia@gmail.com

BUKU
Kampus
.com
Terdapat di seluruh toko buku

