

**BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM
BIOKIMIA TUMBUHAN**



Disusun oleh:

Dr. Tri Suwarni Wahyudiningsih, S.Si., M.Si.

**FAKULTAS PERTANIAN
PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
UNIVERSITAS TIDAR**

2019

TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Peserta praktikum Biokimia Tumbuhan adalah mahasiswa yang telah terdaftar di Fakultas Pertanian Universitas Tidar.
2. Praktikan harus hadir sebelum acara praktikum dimulai. Bagi yang terlambat datang tanpa alasan yang tepat tidak diperkenankan mengikuti acara praktikum pada hari yang bersangkutan.
3. Praktikan diwajibkan memakai jas praktikum dengan memakai pakaian yang sopan dan rapi selama praktikum berlangsung (dilarang memakai sandal dan atau kaos oblong serta tidak boleh merokok).
4. Praktikan harus mengikat rambut sehingga tidak bergerai, serta penggunaan jilbab yang rapi, sehingga tidak mengganggu aktivitas selama praktikum.
5. Menutup lagi bahan kimia yang disediakan dengan penutup botol untuk mencegah inhalasi bahan-bahan tersebut.
6. Dilarang menumpahkan bahan-bahan kimia di meja kerja atau pada lantai. Hal ini berlaku untuk bahan asam/basa pekat dan segera lapor ke asisten.
7. Berhati-hatilah saat bekerja dengan bahan kimia.

PERATURAN

1. Praktikan wajib menjaga ketertiban, membuat piket kelompok yang bertanggung jawab terhadap kesediaan alat, bahan, dan kebersihan setelah praktikum.
2. Bertanggung jawab terhadap alat yang digunakan selama praktikum, jika ada kerusakan wajib melapor ke asisten dan mengganti sesuai dengan spesifikasi alat tersebut.
3. Sebelum praktikum dimulai akan diadakan pre-test yang berkaitan dengan acara praktikum.
4. Seluruh acara praktikum yang ada harus dilakukan dengan sungguh-sungguh.
5. Laporan sementara (data hasil pengamatan) harus diberitahukan kepada Asisten/penanggung jawab. Laporan resmi harus sudah dikumpulkan paling lambat satu minggu setelah data pengamatan terakhir diperoleh, bagi yang

mengumpulkan laporan terlambat akan dikenakan sanksi berupa pengurangan nilai.

6. Penilaian oleh asisten dalam praktikum ini meliputi ketrampilan, test, tugas, laporan, presensi dan responsi.
7. Acara praktikum susulan **(inhal) pada prinsipnya tidak ada**, namun dengan alasan khusus (sakit, dsb) pelaksanaannya bisa dipertimbangkan, dengan biaya ditanggung yang bersangkutan.
8. Bagi praktikan yang dua kali berturut-turut tidak mengikuti acara praktikum tanpa alasan yang tepat dinyatakan hilang hak praktikumnya.
9. Hal-hal yang belum diatur dalam tata tertib dan peraturan ini akan ditentukan kemudian.

Magelang, 9 April 2019
Laboratorium Fakultas Pertanian
Prodi Agroteknologi

ACARA I

KARBOHIDRAT

Karbohidrat atau disebut juga sakarida didefinisikan sebagai polihidroksi aldehida atau polihidroksi keton. Golongan senyawa karbohidrat dapat dibagi menjadi 3 Sub golongan atas dasar jumlah Satuan Dasar yang menyusun. Satuan Dasar yang dimaksud ialah polihidroksi aldehida dan polihidroksi keton tunggal. Kedua jenis satuan penyusun ini mengandung gugus karboksil. Jika gugus karboksil itu terdapat pada ujung bangun molekul linier, maka satuan itu dinamakan aldosa. Jika gugus itu terdapat pada urutan kedua rantai atom C, maka dinamakan ketosa.

Sakarida yang hanya terdiri dari sebuah satuan dasar, maka karbohidrat itu termasuk sub golongan monosakarida. Sub golongan kedua dinamakan oligosakarida karena mengandung dua sampai sepuluh satuan dasar, yang terakhir ialah polisakarida, mengandung satuan dasar yang jumlahnya lebih dari sepuluh. Ikatan antara satuan dasar yang satu terhadap lainnya dinamakan: Ikatan Glikosidik.

Monosakarida yang paling banyak terdapat di alam ialah yang beratom C3 sampai 6, terutama atom C5 dan 6 misalnya glukosa, fruktosa, ribose, arabinose, sillosa dan lain – lain. Golongan oligosakarida yang terdiri dari dua buah satuan disebut juga disakarida, yang terdapat di alam adalah maltosa, silobinosa, laktosa dan sakarosa.

Golongan polisakarida dibedakan menjadi dua macam atas dasar satuan dasar, panjang rantai dan derajat percabangannya. Monosakarida ialah karbohidrat yang hanya mengandung satu jenis satuan dasar (monomer), sedang bila dalam lebih dari satu jenis disebut Heteropoli-sakarida. Atas dasar fungsinya polisakarida dibagi menjadi polisakarida cadangan misalnya: pati, glikogen dan polisakarida struktural yang bertindak sebagai kerangka pada dinding sel dan pelindung, pengisi antar sel jaringan pengikat misalannya “khitin, selulose, pektin dan lain – lain.”

Beberapa sifat umum dan reaksi karbohidrat antara lain:

1. Asam sulfat pekat dapat menghidrolisa ikatan glikosidik karbohidrat menjadi monosakarida, selanjutnya mengalami dehidrasi membentuk furfural dan

derivatnya. Senyawa ini jika ditambah sulvonated alpha naptol akan menjadi zat yang berwarna ungu.

2. Sakarida yang mempunyai gugus aldehid, mempunyai sifat mereduksi. Sifat ini dapat di-ketahui jika ke dalam larutan tersebut ditambahkan larutan ion Cupri dalam suasana alkalis, kemudian dipanaskan akan terdapat endapan Cu_2O yang berwarna merah bata. Uji adanya gugus reduksi dapat dilakukan dengan penamabahan larutan yang mengandung ion Cupri, yaitu larutan: Fehling, Benedith, Barfoed, Luft dan lain – lain. Larutan Barfoed hanya dapat direduksi oleh monosakarida.
3. Dehidrasi monosakarida keton akan dihasilkan furfural. Peristiwa dehidrasi ketosa menjadi furfural lebih cepat dibandingkan dengan dehidrasi monosakarida aldosa. Hal ini disebabkan karena aldosa sebelum dehirasi mengalami transformasi dulu menjadi berwarna merah muda (Uji Seliwanoff).
4. Jodin dapat diabsorbsi oleh polisakarida hingga menjadi pewarnaan. Dengan amilum akan memberikan warna biru, dengan glikogen akan memberikan warna coklat, dengan dextrin akan memberikan warna merah coklat.
5. Polisakarida memiliki gugus reduksi pada ujung rantai saja. Bila mengalami hidrolisa akan menghasilkan rantai monosakarida yang lebih pendek yang memiliki gugus reduksi. Hidrolisa amilum menghasilkan dextrin dan akhirnya glukosa, mula–mula dengan jod berwarna biru akhirnya tidak terjadi pewarnaan.

Percobaan 1. : Uji Benedict

- Siapkan 3 tabung reaksi masing–masing diisi dengan larutan Benedict sebanyak 3 ml.
- Kemudian tambahkan masing–masing 1 ml 0,01M, 0,02M, 0,04M glukosa, campur baik – baik.
- Panaskan dalam air mendidih selama 10 menit.
- Amati perubahan dan bandingkan kecepatan perubahannya

Percobaan 2. : Uji Barfoed

- Siapkan 6 tabung reaksi untuk diisi dengan larutan seperti tertera dalam tabel di bawah ini

No Tab.	LARUTAN BARFOED	LARUTAN SAKARIDA
1	5 ml	5 ml 0,01M glukosa
2	5 ml	5 ml 0,01M fruktosa
3	5 ml	5 ml 0,01M laktosa

- Panaskan ke – 6 tabung itu bersama – sama dalam penangas air mendidih selama 10 menit, kemudian didinginkan segera.
- Bandingkan kecepatan mereduksi satu terhadap yang lainnya.

Percobaan 3. : Uji Jod

Iodium/Kalium Iodidum/KI merupakan reagen untuk menunjukkan kandungan amilum/tepung pada suatu sampel.

- Siapkan bahan: kapas, potongan kentang, potongan roti, potongan tahu, potongan tempe dan nasi setengah sendok teh pada cawan petri.
- Tambahkan dua tetes larutan Jod (0,05N Jod dalam 3% Kj)
- Catat warna yang terjadi. Hasil positif: sampel yang mengandung tepung berubah warna dari warna asal menjadi berwarna biru kehitaman.
- Sampel mana yang mengandung amilum/tepung?Berilah penjelasan.

Percobaan 4. : Uji Karbohidrat pada Buah

- Siapkan 3 macam bahan buah kepel atau buah yang lain (buah mentah, buah masak, buah lewat masak) dikupas kulitnya.
- Ambil masing – masing 100 gram bahan, diblender dan ditambah air sampai dengan 250 ml kemudian disaring dengan kertas saring

- Filtrat yang diperoleh diuji kandungan karbohidratnya dengan uji Benedict, Barfoed, dan Jod.
- Catat perubahan warna yang terjadi pada masing – masing bahan maupun pengujian dan bandingkan.

Percobaan 5: Hidrolisis amilum (pati)

Tujuan : untuk mengidentifikasi hasil hidrolisis amilum

Dasar Teori

Amilum merupakan suatu senyawa organik yang tersebar luas pada kandungan tanaman. Amilum dihasilkan dari dalam daun-daun hijau sebagai wujud penyimpanan sementara dari produk fotosintesis. Amilum juga tersimpan dalam bahan makanan cadangan yang permanen untuk tanaman, dalam biji, jari-jari teras, kulit batang, akar tanaman menahun, dan umbi. Amilum merupakan 50-65% berat kering biji gandum dan 80% bahan kering umbi kentang (Gunawan, 2004). Amilum terdiri dari dua macam polisakarida yang kedua-duanya adalah polimer dari glukosa, yaitu amilosa (kira-kira 20-28 %) dan sisanya amilopektin.

- a) Amilosa: Terdiri atas 250-300 unit D-glukosa yang berikatan dengan ikatan α 1,4 glikosidik. Jadi molekulnya menyerupai rantai terbuka.
- b) Amilopektin: Terdiri atas molekul D-glukosa yang sebagian besar mempunyai ikatan 1,4- glikosidik dan sebagian ikatan 1,6- glikosidik. adanya ikatan 1,6-glikosidik menyebabkan terdjadinya cabang, sehingga molekul amilopektin berbentuk rantai terbuka dan bercabang. Molekul amilopektin lebih besar dari pada molekul amilosa karena terdiri atas lebih 1000 unit glukosa (Poedjiadi, A. 2009). Secara umum, amilum terdiri dari 20% bagian yang larut air (amilosa) dan 80% bagian yang tidak larut air (amilopektin). Hidrolisis amilum oleh asam mineral menghasilkan glukosa sebagai produk akhir secara hamper kuantitatif (Gunawan, 2004).

Salah satu kelompok karbohidrat adalah polisakarida, yang pada umumnya mempunyai molekul besar dan lebih kompleks daripada monosakarida dan

oligosakarida. Molekul polisakarida terdiri atas banyak molekul monosakarida. Umumnya polisakarida berupa senyawa berwarna putih dan tidak berbentuk Kristal, tidak mempunyai rasa manis dan tidak mempunyai sifat mereduksi. Polisakarida yang dapat larut dalam air akan membentuk larutan koloid.

Hidrolisa amilum secara bertahap :

Reaksi Iodium	Hidrolisat
Biru	Amilum maltosa
Biru	Amilum terlarut
Biru kemerahan	Amilodekstrin maltosa
Merah	Eritrodekstrin maltosa
Tidak berwarna	Achroodekstrin maltosa
Tidak berwarna	Maltosa

ALAT DAN BAHAN

Bahan : Amilum 1% (kentang, ketela pohon), NaOH 2%, HCl 2 N, Larutan Iodium, Aquadest

Alat : Rak tabung reaksi, Tabung reaksi, Corong, alat gelas, Cawan, Erlenmeyer, Pipet tetes, Labu ukur, Kaki tiga, Beaker glass, Neraca analitik.

PROSEDUR KERJA

I. Pembuatan larutan amilum

- a) Timbang 0,5 gram amilum
- b) Larutkan dengan aquadest panas sampai 50 ml

II. Pembuatan larutan NaOH 2%

- a) Timbang 1 gram NaOH
- b) Larutkan dengan aquadest sampai 50 ml

III. Pembuatan larutan HCl 2 N

- a) Dipipet HCl pekat sebanyak 16,6 ml
- b) Encerkan dengan aquadest sampai 100 ml

IV. Prosedur kerja hidrolisis amilum (pati)

Disiapkan 1 tabung reaksi untuk dimasukkan 5 ml larutan amilum ditambahkan 2,5 ml HCl 2 N, kemudian dipanaskan selama interval 3 menit

- | | |
|----------|---|
| Tabung 1 | Setelah 3 menit, diambil 5 tetes larutan diatas + 5 tetes larutan iodium kemudian dicatat warnanya |
| Tabung 2 | 3 menit berikutnya, diambil 5 tetes larutan diatas + 5 tetes larutan iodium kemudian dicatat warnanya |
| Tabung 3 | 3 menit berikutnya, diambil 5 tetes larutan diatas + 5 tetes larutan iodium kemudian dicatat warnanya |
| Tabung 4 | 3 menit berikutnya, diambil 5 tetes larutan diatas + 5 tetes larutan iodium kemudian dicatat warnanya |
| Tabung 5 | 3 menit berikutnya, diambil 5 tetes larutan diatas + 5 tetes larutan iodium kemudian dicatat warnanya |
| Tabung 6 | 3 menit berikutnya, diambil 5 tetes larutan diatas + 5 tetes larutan iodium kemudian dicatat warnanya |
| Tabung 7 | 3 menit berikutnya, diambil 5 tetes larutan diatas + 5 tetes larutan iodium kemudian dicatat warnanya |

DAFTAR PUSTAKA

<https://books.google.co.id/books?id=7Lauz8HpOVAC&pg=PA225&dq=polisakarida&hl=en&sa=X&ei=Yu1CVYahCsXamgWb84CIAQ&sqi=2&ved=0CCIQ6AEwAQ#v=onepage&q=polisakarida&f=false>

ACARA II

PROTEIN

Protein merupakan komponen yang penting dalam tubuh kita, senyawa organik ini berfungsi sebagai katalis reaksi biokimia (enzim), pengangkutan oksigen (pada hemoglobin) protein cadangan dan sebagainya.

Penyusun protein adalah asam amino yang berikatan satu sama lain melalui ikatan peptide. Protein dapat mengalami denaturasi oleh panas, pH, logam berat dan sebagainya. Peristiwa denaturasi ini tak lain adalah terbukanya lipatan alamiah struktur protein. Jika denaturasi ini belum berlanjut maka polimer itu melipat lagi dan kembali pada struktur alamiahnya, peristiwa denaturasi ini jika berlanjut protein akan menggumpal.

Molish/ Biuret merupakan reagen yang dapat menunjukkan keberadaan protein pada suatu bahan makanan. Warna dasar biuret adalah biru. Protein akan bereaksi menghasilkan senyawa berwarna, misalnya: bila tirosin ditambah reagen millon akan menghasilkan senyawa berwarna merah.

Reaksi dan Sifat umum Protein dan Asam Amino

Perubahan yang terjadi yang disebabkan karena faktor (asam, basa, garam dan suhu) dapat dipergunakan untuk mengidentifikasi jenis protein/ Asam amino tertentu yang terdapat dalam bahan yang diteliti.

1. **AMFOLIT:**

Adanya gugus terminal NH_2 dan COOH serta gugus ranting cabang dan dapat bermuatan positif ataupun negatif maka protein tadi menunjukkan sifat asam dan basa.

2. **KOAGULASI DAN DENATURASI:**

Jika putih telur dituangkan ke dalam air mendidih maka massa mula yang berupa larutan tidak berwarna berubah menjadi padatan putih, peristiwa ini disebut penggumpalan atau *koagulasi*. Gumpalan atau bekuan yang disebut koagulum. Perubahan fisik yang terjadi dapat dipandang sebagai akibat dari pada perubahan struktur tersier protein yang sedang lanjut, sehingga

menyimpang dari bentuk alamiahnya, penyimpangan ini disebut *denaturasi*. Koagulasi adalah salah satu akibat dari pada proses denaturasi tapi denaturasi tidak perlu diikuti proses koagulasi. Besar pH dimana protein menggumpal disebut titik isolistrik atau isoinik (bias merupakan daerah bukan titik). Besarnya titik pada isolistrik tergantung dari jenis protein.

3. PEMBENTUKAN WARNA

Pembentukan warna disebabkan oleh reaksi antara gugus asam amino yang terdapat dalam protein dengan pereaksi tertentu.

REAKSI WARNA PADA PROTEIN

NAMA	PEREAKSI	ASAM/ GUGUS	WARNA
Biuret	Ninhidrin	NH ₂ -CHR-COOH	Ungu
	Tembaga sulfat dalam alkali	NH ₂ -CO	Ungu
Millon	HgNO ₃ dalam asam nitrat dan sedikit asam nitrat	Tirosin	Merah
Hopkinscole	Asam glioksilat dalam H ₂ SO ₄ pekat	Triptofan	Ungu
Pauly	Asam sulfanilat dalam larutan alkali	Histidin	Merah

4. Hidrolisis Rantai Polipeptida

Ikatan peptida pada protein dapat dihidrolisa dengan bantuan asam dalam keadaan panas, begitu pula basa dan enzima. Protein yang akan dihidrolisis dicampur dengan sejumlah HCL(6N) dan dipanaskan dengan suhu 100–200⁰C dalam keadaan vacuum. Sebelum dihidrolisa paling sedikit ada 3 tingkat pemecahan, yaitu metaprotein --- protease dan pepton --- peptide sederhana.

Bila HCL digunakan maka ada beberapa asam amino rusak seperti triptopan, serina dan treonin. Bila digunakan NaOH pekat pada suhu tinggi (mendidih) akan merusakkan asam amino yaitu Sisteina, sistina dan treonina.

5. Protein memberikan reaksi pengendapan terhadap:

- a. Ammonium sulfat dan alkohol pekat.
- b. Ion positif logam berat (Cu, Fe, Pb, Hg, Za, Zn, Ca)

- c. Mineral asam pekat
- d. Pemanasan

Percobaan 1. : Denaturasi oleh panas dan pH yang ekstrim

- Siapkan 3 tabung reaksi yang bersih
- Isilah masing – masing 5 ml larutan protein (misal larutan putih telur)
- Kemudian ke dalam masing – masing tabung ditambahkan larutan sebagai berikut:

No tabung	Larutan
1	0,5 ml 1N HCL
2	0,5 ml 1N NaOH
3	0,5 ml air suling

- Masukkan semua tabung ke dalam penangas air mendidih selama 10 menit.
- Catat mana yang menggumpal paling awal dan mana yang menggumpal paling akhir.
- Didinginkan dan netralkan; tabung 1 dinetralkan dengan 0,1N NaOH dan tabung ke-2 dinetralkan dengan larutan 0,1N HCL (periksa dengan kertas pH)
- Catat perubahan yang terjadi.

Percobaan 2. : Presipitasi dengan logam berat

- siapkan 1 tabung reaksi yang bersih
- masukkan ke dalam tabung 2 ml larutan protein encer (larutan putih telur), ditambahkan setetes demi setetes larutan ZnSO₄ encer, catat perubahan yang terjadi.
- Tambahkan pereaksi tersebut sehingga berlebihan. Catat apa yang terjadi.

Percobaan 3. Reaksi Biuret

- Siapkan 1 tabung reaksi untuk diisi 2 ml larutan protein (larutan putih telur) ditambahkan 2 ml KOH 10% atau 1 ml NaOH 40%
- Ditambahkan beberapa tetes (5 tetes) larutan CuSO_4 0,1%
- Campur dengan baik dan amati warna yang terjadi
- Hasil: terjadi perubahan warna larutan putih menjadi ungu.
- Keterangan hasil: perubahan warna ungu pada larutan putih telur menunjukkan larutan tersebut mengandung protein.

Percobaan 4. : Uji kandungan protein/ Millon

- Warna dasar larutan Millon adalah ungu
- Tambahkan 2 ml larutan Millon ke dalam 2 ml larutan putih telur, panaskan larutan hingga mendidih.
- Hasil: terjadi perubahan warna larutan putih telur menjadi merah.
- Keterangan hasil: perubahan warna larutan menjadi merah menunjukkan larutan putih telur mengandung protein.

Percobaan 5. : Pengujian Protein dari suatu bahan

- Siapkan 2 macam bahan (tepung talas, tepung kedelai)
- Ambil masing-masing ± 1 sendok makan, tambahkan air 100 ml dalam erlenmeyer, kemudian dipanaskan dalam penangas air 60°C , selama 10 menit kemudian disaring dengan kertas saring.
- Filtrate yang diperoleh diuji dengan pereaksi Ninhidrin atau Biuret.
- Catat warna yang terjadi.

ACARA III

LIPIDA

Lipid adalah senyawa organik yang tidak larut dalam air, banyak ditemukan dalam sel/ jaringan, larut dalam zat pelarut non polar seperti chloroform, ether dan bensana. Sebagai penyusun utama lipida adalah trigliserida. Walaupun lipida merupakan satu golongan senyawa tersendiri akan tetapi sering kali ber-gabung dengan senyawa lain misalnya karbohidrat dan protein dengan nama glikolipida dan lipoprotein.

Asam lemak penyusun lipida ada 2 macam yaitu asam lemak yang jenuh dan asam lemak tidak jenuh. Asam lemak hewani umumnya mempunyai rantai C jenuh, sedang minyak nabati umumnya memiliki satu atau lebih ikatan rangkap. Halogen dapat bereaksi cepat dengan atom C pada rantai yang ikatannya tidak jenuh (peristiwa addisi)

Perbedaan Lemak dan Minyak:

1. Lemak berasal dari hewan, kecuali lemak dari buah coklat.
Minyak berasal dari tanaman, kecuali minyak ikan.
2. Lemak pada temperature kamar ($\pm 23^{\circ}\text{C}$) padat, sedangkan minyak : cair.
3. Lemak dalam gugusan sisa asamnya hanya sedikit ikatan rangkapnya, minyak berikatan rangkapnya.
4. Minyak direaksikan dengan gas H_2 dengan katalisator N_1 akan diperoleh lemak.

Asam lemak terpenting yang terdapat pada tumbuhan:

1. Asam butirat $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2 \text{COOH}$
2. Asam kaporat $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2 \text{COOH}$
3. Asam palmitat $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14} \text{COOH}$
4. Asam stearat $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16} \text{COOH}$
5. Asam oleat $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7 \text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7 \text{COOH}$

Lemak tumbuhan disebut minyak karena dalam temperature kamar biasanya dalam keadaan cair mengandung asam lemak dengan rantai $^{\circ}\text{C}$ panjang dan hanya

memiliki sedikit ikatan ganda (jenuh). Minyak mengandung asam lemak dengan $^{\circ}\text{C}$ pendek dan memiliki banyak ikatan ganda (tidak jenuh).

Percobaan 1: Uji kandungan lemak

Bahan: kertas saring/ kertas buram

Cara kerja: teteskan 3 tetes minyak di atas kertas saring.

Hasil: kertas saring menjadi transparan berarti mengandung minyak. Jelaskan.

Percobaan 2: Uji lemak dengan Sudan III

Tambahkan 2 tetes larutan Sudan III ke dalam larutan minyak.

Hasil: terbentuk lapisan berwarna merah pada permukaan larutan → menunjukkan kandungan minyak.

Percobaan 3 : Uji emulsi

- Tambahkan 2 tetes larutan etanol ke dalam larutan minyak.
- Hasil: kumpulan minyak yang berada di permukaan larutan menjadi emulsi. Warna larutan menjadi putih keruh.

ACARA IV

ENZIM

Enzim adalah katalis biologis yang dapat mempercepat terjadinya keseimbangan suatu reaksi kimia. Senyawa tersebut merupakan suatu protein. Aktivitas sangat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti: pH, suhu, konsentrasi substrat, adanya kofaktor dan sebagainya. Dibawah ini dicantumkan beberapa percobaan untuk mengetahui sifat – sifat enzim yang ada di laboratorium. Amilase sering disebut juga diastasa ialah enzim yang dapat menghidrolisis amilum. Macamnya:

- a. Alpha – Amilase
- b. Beta – Amilase
- c. Gluko – amilosa

Hasil hidrolisis amilum berupa sakarida yang sederhana dan dextrin, makin lama dextrin yang terbentuk makin kecil BM-nya.

Reaksi khusus yang dipergunakan untuk mengikuti dan mengetahui tingkat reaksi hidrolisis tersebut di atas oleh enzim amilase adalah larutan jod. Dimana awal hidrolisis warna amilum dengan jod adalah biru, lambat laun berubah menjadi coklat merah dan akhirnya tidak berwarna, sejalan dengan perubahan dextrin yang dihasilkan.

Percobaan 1. : Pengujian Amilase dari kecambah

- Siapkan macam bahan (biji kacang hijau dan taoge) masing – masing 50 gram dengan dihancurkan dengan mortal, tambah aquadest 50 ml kemudian disaring dengan kertas saring.
- Siapkan 4 tabung reaksi yang bersih.
- Masukkan ke dalamnya masing – masing 3 ml amilum 1% atur pH-nya dengan menambahkan 6 ml larutan buffer pH 6.
- Pada tabung 1 dan 2 ditambahkan masing – masing 1 ml ekstrak kacang hijau
- Pada tabung 3 dan 4 ditambahkan masing – masing 1 ml ekstrak taoge

- Inkubasikan dalam penangas air pada suhu 40⁰C
- Pada menit ke 0 dan 20, diambil 1 tetes bahan tersebut pada cawan porselin dan ditambah 1 tetes larutan jod 0,01N.
- Catat perubahan warna yang terjadi.

Percobaan 2. Enzim papain dan bromelin

Tujuan: untuk mengetahui pengaruh enzim papain dan bromelin dalam proses pengempukan daging.

Bahan: pepaya, nanas, daging sapi, aquades

Alat: pisau, blender, kertas saring, beaker glass, waterbath, kulkas, dan gelas ukur.

Pengambilan ekstrak papain

- Pepaya ditimbang sebesar 817 gram
- Pepaya ditambah aquades dingin sebanyak 1634 ml kemudian dihancurkan dengan blender
- Hasil pepaya yang telah diblender disaring dengan menggunakan kain atau kertas saring 2 lapis

Pengambilan ekstrak bromelin

- Nanas ditimbang 517 gram
- Nanas ditambah aquades 1034 ml, kemudian diblender
- Nanas yang telah diblender disaring dengan kain atau kertas saring 2 lapis

Pengamatan proses pengempukan daging

- Potongan daging 12-18 gram diletakkan di gelas beaker
- Potongan daging tersebut direndam dalam ezim papain dan bromelin dengan lama perendaman 30, 60, 90 menit pada suhu ruang dan suhu pemanasan 40⁰ C

- Amatilah perubahan yang terjadi selama kurun waktu yang telah ditentukan dan mencatat hasil pengamatan

Suhu ruang			Suhu pemanasan 40 ⁰ C		
30 menit	60 menit	90 menit	30menit	60 menit	90 menit

ACARA V

EKSTRAKSI DAN ANALISIS FITOKIMIA SECARA KUALITATIF

EKSTRAKSI

Tujuan: mempelajari cara membuat ekstrak tumbuhan

Dasar Teori

Tumbuhan merupakan sumberdaya hayati yang mempunyai potensi kimia karena mampu memproduksi senyawa kimia secara teratur dan seimbang berupa metabolit primer dan 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, metabolisme, penyebaran secara iliah dan fungsi biologis. Penapisan fitokimia dimulai dengan pengumpulan sampel dan membuatnya menjadi ekstrak. Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dari jaringan hewan atau tumbuhan dengan menarik senyawa aktifnya dengan pelarut yang sesuai kemudian memekatkan hingga tahap tertentu (Harboene, 1996). Ekstraksi adalah 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, sedang simplisia keras seperti biji dan kulit perlu dihaluskan sebelum dilakukan pelarutan (Sechan Galenik, 1987).

Beberapa metode ekstraksi bahan alam menurut Darus (2000) yang umum digunakan antara lain:

1. Maserasi yaitu proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang dilakukan pada temperatur ruangan.

2. Perkolasi yaitu proses melewati 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.

Bahan: Sampel tumbuhan

Alat: kipas angin, saringan, alat penggiling (dry mil), kertas koran, kain hitam, timbangan, Erlenmeyer, spatula, gelas ukur, corong, aluminium foil, kertas saring kasar, etanol 96%.

Cara kerja:

1. Sampel tumbuhan ditimbang berat basah nya.
2. Sampel tumbuhan dikering anginkan selama 1 (satu) minggu
3. Sampel tumbuhan ditimbang berat kering nya.
4. Sampel tumbuhan digiling hingga halus lalu ditimbang berat serbuk tersebut.
5. Serbuk tersebut (langkah nomor 4) direndam dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:8 (w/v) selama 2 hari sambil sesekali diaduk.
6. Setelah 2 hari direndam, kemudian disaring menggunakan kertas saring dan corong pemisah.

ANALISIS FITOKIMIA

Tujuan: mempelajari analisis fitokimia secara kualitatif

Dasar Teori

Fitokimia adalah segala jenis zat kimia atau nutrient yang diturunkan dari sumber tumbuhan, termasuk sayuran dan buah-buahan. Fitokimia umumnya digunakan untuk merujuk senyawa yang ditemukan pada tumbuhan yang tidak diperlukan untuk membangun struktur tubuh tumbuhan.

Metabolisme Pada Tumbuhan Pada tumbuhan ada dua metabolisme :

- metabolisme primer menghasilkan senyawa-senyawa yang digunakan dalam proses biosintesis karbohidrat, protein, lemak dan asam nukleat.
- metabolisme sekunder menghasilkan senyawa dengan aktivitas biologis tertentu seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid, tannin dan steroid. Metabolit sekunder tidak memiliki fungsi khusus dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Senyawa-senyawa tersebut lebih dibutuhkan untuk eksistensi kelangsungan hidup tanaman itu di alam. Fungsi utama metabolit sekunder adalah melindungi tanaman dari serangan mikroba, hama, dan penyakit.

Bahan: ekstrak tumbuhan, larutan NaOH 10 %, HCl 2 N, aquades, Kalium Iodida, Iodium, kloroform, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, air panas, magnesium, HCl, Fe Cl₃ 1%, Hg Cl₂, Bismut (III) nitrat, asam nitrat pekat, kertas saring.

Alat: tabung reaksi, pipet tetes, test plate, gelas ukur, alat penangas.

Cara kerja

I. Pengujian fenolat

- Masukkanlah 1 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan larutan NaOH 10%
- Hasil: apabila terbentuk warna merah maka ekstrak tumbuhan tersebut mengandung senyawa fenolat.

II. Pengujian triterpenoid dan steroid

- Masukkanlah 1 ml sampel ekstrak ke dalam tabung eraksi dan tambahkanlah 2 ml kloroform.
- Tambahkan 10 tetes asam asetat anhidrid dan 3 tetes asam sulfat pekat.
- Kocoklah larutan tersebut secara perlahan dan biarkan selama beberapa menit.
- Hasil: Bila terbentuk warna merah/ungu menandakan positif

mengandung senyawa triterpenoid, sedang warna biru/hijau positif mengandung senyawa steroid.

III. Pengujian flavonoid

- Masukkanlah 1 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 20 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit
- Tambahkan 0,5 gr magnesium dan 10 tetes HCl lalu kocoklah perlahan.
- Hasil: terbentuk warna merah, jingga atau ungu menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

IV. Pengujian tannin

- Masukkanlah 1 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 12 ml air panas dan dididihkan selama 15 menit kemudian disaring
- Tambahkan filtrat tersebut dengan 1 ml larutan FeCl_3 1 %
- Hasil: bila terbentuk warna biru tua/ hijau kehitaman berarti mengandung tannin.

V. Pengujian alkaloid

- Masukkanlah 0,5 ml sampel ekstrak ke dalam tabung reaksi
- Tambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air suling lalu dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan kemudian disaring.
- Masukkanlah 3 tetes filtrate ke dalam test plate lalu tambahkanlah 2 tetes larutan pereaksi Mayer (HgCl_2 dan Kalium Iodida) maka akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih/kuning.
- Masukkanlah 3 tetes filtrate ke dalam test plate lalu ditambah dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat (Kalium iodide dan Iodium) maka akan terbentuk endapan coklat sampai hitam.
- Masukkanlah 3 tetes pereaksi ke dalam test plate kemudian
- tambahkanlah 2 tetes pereaksi Dragendorff (Bismut III nitrat, asam

nitrat pekat, dan kalium Iodida) maka akan terbentuk warna jingga atau merah.

- Hasil: alkaloid dikatakan positif bila terjadi endapan kekeruhan paling sedikit 2 atau 3 percobaan di atas.

VI. Pengujian saponin

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