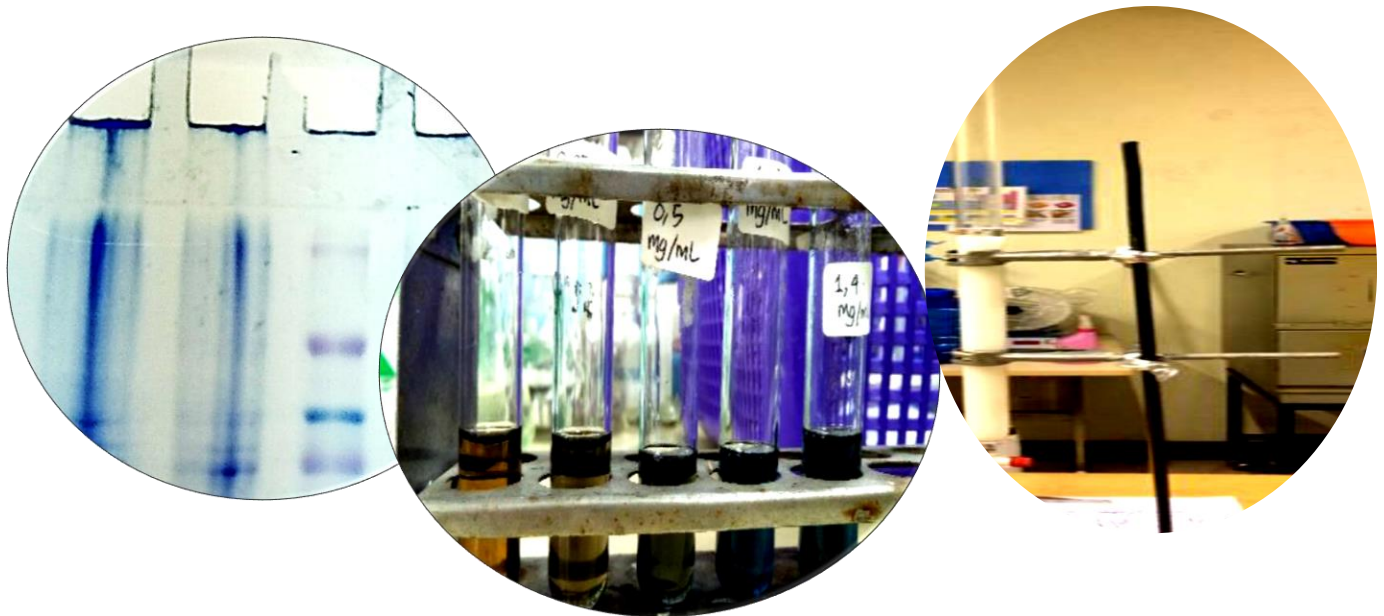


MODUL PRAKTIKUM

BIOKIMIA PANGAN



FAKULTAS BIOINDUSTRI
ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
UNIVERSITAS TRILOGI
TAHUN 2019/2020

MODUL PRAKTIKUM BIOKIMIA PANGAN



Penyusun

1. Yoni Atma, S.TP., M.Si
2. Hermawan Seftiono, S.Si., M.Si

**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
UNIVERSITAS TRILOGI
JAKARTA**

KATA PENGANTAR

Biokimia merupakan bagian yang tak terpisahkan dari ilmu dan teknologi pangan. Hal ini dikarenakan segala bentuk reaksi-reaksi di dalam tubuh makhluk hidup merupakan reaksi biokimia. Bidang ilmu dan teknologi pangan merupakan multidisiplin ilmu yang juga mempelajari reaksi biologis dan kimiawi komponen makanan di dalam tubuh manusia, tanaman (pangan nabati), hewan dan mikroorganisme sekalipun. Komponen di dalam bahan pangan meliputi karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral dan antioksidan sebagai penentu utama kualitas kimiawi bahan pangan. Komponen di dalam bahan pangan tersebut tersusun atas komponen yang lebih sederhana seperti misalnya karbohidrat yang tersusun atas monosakarida, disakarida, dan oligosakarida. Protein tersusun atas asam amino-asam amino serta lemak yang terdiri dari asam lemak dan gliserol. Disamping itu, biokimia pangan juga mempelajari keberadaan molekul penting dalam bahan pangan seperti misalnya enzim (dari tanaman dan mikroorganisme) dan materi genetik.

Penuntun biokimia ini dibuat untuk membantu mahasiswa agar menguasai kompetensi dibidang biokimia pangan. Topik bahasan yang disajikan dibuat sesederhana mungkin untuk mempermudah pemahaman dan pelaksanaan praktikum. Metode analisis dalam pelaksanaan praktikum menyajikan teknis pelaksanaan praktikum sehingga mahasiswa tidak hanya mengetahui materi diperkuliahan tetapi juga memiliki keterampilan dibidang analisis dasar biokimia.

Penulis menyadari bahwa terdapat kekurangan-kekuarangan dalam penyusunan modul praktikum ini. Oleh karena itu saran dan masukan diperlukan untuk perbaikan terhadap penuntun praktikum biokimia ini.

Bogor, Agustus 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL

KATA PENGANTAR

DAFTAR ISI

TATA TERTIB PRAKTIKUM

Bab 1 : Karbohidrat.....	1
Bab 2 : Lemak.....	4
Bab 3 : Protein	8
Bab 4 : Penentuan Kadar Asam Amino secara Kuantitatif.....	13
Bab 5 : Enzim.....	16
Bab 6. Enzim Mikroba.....	19
Bab 7 : Vitamin dan Koenzim	22
Bab 8 : Asam Nukleat	24

DAFTAR PUSTAKA

TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Mahasiswa yang boleh mengikuti praktikum Biokimia Pangan adalah mahasiswa yang telah mengambil atau sedang menempuh mata kuliah Biokimia Pangan serta telah mengisi KRS untuk mata praktikum Biokimia Pangan.
2. Setiap peserta harus hadir tepat waktu pada waktu yang telah ditentukan. Apabila peserta terlambat 15 menit dari waktu yang ditentukan, maka tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
3. Selama mengikuti praktikum, peserta harus memakai jas praktikum yang bersih dan dikancingkan dengan rapi dan memakai sepatu tertutup (dilarang mengenakan sandal atau sepatu sandal).
4. Setiap peserta wajib membuat laporan sementara praktikum yang berisi data pengamatan selama percobaan dan ditandatangani oleh asisten praktikum. Laporan resmi praktikum dibuat sesuai dengan format yang sudah ditentukan dan ditandatangani asisten praktikum, serta melampirkan laporan sementara. Pengumpulan laporan resmi praktikum sesuai kesepakatan dengan asisten praktikum, maksimal 1 minggu setelah kegiatan praktikum.
5. Setiap peserta harus memeriksa alat praktikum sebelum dan sesudah praktikum kemudian mengembalikan alat yang telah dipakai dalam keadaan bersih dan kering. Botol bahan kimia yang telah selesai digunakan harus ditutup rapat dan dikembalikan ke tempat semula. Tutup botol harus sesuai (tidak boleh tertukar). Peserta praktikum yang memecahkan alat gelas **wajib** mengganti.
6. Peserta praktikum dilarang membawa makanan/minuman ke dalam laboratorium/ruang praktikum.
7. Setiap peserta harus menjaga kebersihan Laboratorium, bekerja dengan tertib, tenang dan teratur. Selama praktikum, peserta harus bersikap sopan.
8. Setiap peserta harus melaksanakan semua mata praktikum dan mematuhi budaya Kesehatan dan Keselamatan Kerja (K3), seperti memakai Alat Pelindung Diri (jas praktikum, sepatu, sarung tangan, masker, kaca mata pelindung) dan membuang limbah praktikum sesuai dengan kategorinya.
9. Apabila peserta praktikum melanggar hal yang telah diatur pada butir diatas, maka peserta akan dikeluarkan dari laboratorium dan tidak diperkenankan melanjutkan praktikum pada hari itu.
10. Hal yang belum disebutkan di atas dan diperlukan untuk kelancaran praktikum akan diatur kemudian.

BAB I

KARBOHIDRAT

Karbohidrat merupakan molekul makro yang unsur-unsurnya terdiri atas karbon (C), hidrogen (H) dan oksigen (O), dengan empiris unsur-unsurnya $(CH_2O)_n$. Molekul karbohidrat dibagi dalam empat golongan utama yakni monosakarida, disakarida, oligosakarida dan polisakarida. Monosakarida berdasarkan gugus fungsinya dibagi menjadi kelompok aldosa (aldehid) dan ketosa (keton). Disakarida contohnya seperti gula pasir (sukrosa), gula susu (laktosa) dan maltosa (Koolman & Roehm, 2005).

Golongan Oligosakarida terdiri dari tiga atau lebih monosakarida yang dihubungkan dengan ikatan glikosidik. Senyawa tersebut dapat dihidrolisa dalam suasana asam menghasilkan monosakarida dan disakarida. Polisakarida merupakan polimer dari monosakarida. Polisakarida yang terdapat dalam organisme dibagi menjadi pati, serat dan glikogen. Pati merupakan zat tepung dalam tumbuhan yang dapat dijumpai pada beras, gandum maupun umbi-umbian. Pati terdiri dari amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan polisakarida dengan ikatan α -1,4 glukosidik antar molekul monosakarida pembentuknya, sedangkan amilopektin merupakan polisakarida yang juga memiliki ikatan α -1,6 glukosidik (Koolman & Roehm, 2005).

Bentuk karbohidrat yang lain adalah serat dan glikogen. Glikogen memiliki struktur yang sama dengan pati tetapi glikogen berada pada jaringan hewan. Sedangkan serat dapat berupa selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Serat merupakan bentuk polisakarida yang tidak dapat dicerna. Serat sendiri terdiri dari serat larut air dan tidak larut air.

TUJUAN UMUM PERCOBAAN :

- 1) Melakukan identifikasi senyawa-senyawa karbohidrat
- 2) Mengetahui reaksi-reaksi yang terjadi pada senyawa karbohidrat
- 3) Menentukan senyawa-senyawa karbohidrat secara kualitatif

PROSEDUR PERCOBAAN ANALISIS KARBOHIDRAT

UJI BENEDICT

Uji Benedict ditujukan untuk identifikasi gula-gula pereduksi. Pada uji benedict terjadi reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^+ oleh gugus aldehid atau keton bebas (dari gula) dalam suasana alkalis. Uji positif ditunjukkan dengan terjadinya endapan merah bata, kadang disertai dengan larutan yang berwarna hijau, merah, atau orange.

Pereaksi dan bahan :

Pembuatan reagen Benedict:

Sebanyak 173 g kristal natrium sitrat dan 100 g natrium karbonat anhidrat dilarutkan dalam 800 mL air hangat, kemudian saring. Kemudian ditambahkan kupri sulfat yang telah dilarutkan dalam 100 mL air. Larutan dibuat menjadi 1 L dengan penambahan air.

Pembuatan larutan karbohidrat 1%:

Sukrosa, glukosa, laktosa, amilum dan produk minuman

Prosedur :

Sebanyak 5 tetes larutan karbohidrat dimasukkan kedalam masing – masing tabung yang telah berisi reagen Benedict, kemudian diaduk rata. Selanjutnya larutan dimasukkan kedalam semua tabung reaksi dan penangas air mendidih selama 3 menit, biarkan mendingin dan bandingkan. Amati perubahan dari reagen Benedict dengan mereaksikannya dengan larutan glukosa encer.

UJI IODINE

Kondensasi iodine dengan karbohidrat (selain monosakarida) dapat menghasilkan warna yang khas. Reaksi antara amilum dan Iodine dapat membentuk **kompleks biru**. Sedangkan reaksi antara glikogen dan Iodine akan membentuk warna **merah**.

Pereaksi dan bahan :

Larutan Iodine : Larutkan 0,127 g I_2 dalam 100 mL air yang mengandung 3 g KI.
Larutan karbohidrat 1%: Tepung pati, tepung maizena, sukrosa, glukosa, laktosa

Prosedur :

larutan-larutan pati; glukosa; amilum dan tepung maizena dimasukkan kedalam masing-masing tabung . Kemudian pada semua tabung ditambahkan 2 tetes larutan Iodine. Amati warna yang terjadi.

ISOLASI KARBOHIDRAT**Pereaksi dan bahan :**

- Etanol 95%
- Kentang
- Blender
- Labu dan kertas penyaring
- Kain penyaring

Prosedur :

Kentang dikupas, dicuci dan dipotong-potong, kemudian ditimbang sebanyak 30 g. Masukkan ke dalam blender dan tambahkan 20 mL air, diaduk selama 30 detik. Campuran disaring menggunakan kain saring dan kemudian filtrat ditampung dalam gelas kimia 100 mL. Selanjutnya ditambahkan 10 mL air, diaduk, dan campuran dibiarkan mengendap, kemudian didekantasi. Tahap akhir pati disuspensikan dengan 10 mL etanol 95% dan disaring menggunakan kertas saring. Pati dikeringkan pada suhu kamar dan baru kemudian ditimbang.

Tugas :

Hitung rendemen pati dalam kentang

BAB II LEMAK

Lemak merupakan golongan senyawa organik yang tersusun atas asam lemak dan gliserol. Lemak merupakan komponen pangan yang memiliki nilai kalori yang tinggi. Jika tubuh sedang kekurangan karbohidrat sebagai energi, maka lemak akan dihidrolisis menjadi komponen pembentuk energi. Namun, jika sumber energy tubuh sebagian besar berasal dari lemak maka potensi terbentuknya badan keton akan tinggi (Muchtadi, 2010).

Lemak bersifat tidak dapat larut dalam air, dapat diekstrak dari sel dan jaringan oleh pelarut nonpolar, seperti kloroform dan eter. Asam lemak merupakan asam organik berantai panjang yang mempunyai atom karbon dari 4 sampai 24. Asam lemak memiliki gugus karboksil tunggal dan ekor hidrokarbon nonpolar yang panjang. Hal inilah yang membuat kebanyakan lemak bersifat tidak larut dalam air (Lehninger 2004). Hal lain yang dipengaruhi oleh asam lemak adalah ketengikan dan oksidasi. Bahan pangan yang tinggi akan kandungan asam lemak tidak jenuh memiliki peluang mudah mengalami oksidasi dibandingkan bahan pangan yang tinggi akan kandungan asam lemak jenuh. Akan tetapi, dari aspek nutrisi asam lemak tidak jenuh lebih baik untuk kesehatan. Senyawa pembentuk lemak lainnya yakni gliserol. Dengan adanya gliserol membuat lemak memiliki sedikit sifat hidrofilik (larut air). Oleh sebab itu beberapa produk yang dibuat dari bahan baku yang mengandung lemak masih bisa dicampur dengan air meskipun dibantu dengan senyawa penghubung (emulsifier).

Lemak dan lipida-lipida yang lain tidak mempunyai rumus empiris dan struktur yang sama tetapi terdiri atas beberapa golongan. Lipida merupakan komponen penting dalam membran sel, termasuk diantaranya fosfolipid, glikolipid dan dalam sel hewan adalah kolesterol. Kolesterol merupakan senyawa induk bagi steroid lain yang disintesis dalam tubuh.

TUJUAN UMUM PERCOBAAN

- Mempelajari sifat-sifat dari lemak.
- Mengerti reaksi-reaksi yang terjadi pada lemak
- Melakukan analisa lemak secara kualitatif

PROSEDUR PERCOBAAN

A. Uji kelarutan

Tujuan : mengetahui kelarutan lemak pada pelarut tertentu

Prinsip : Pada umumnya, lemak/minyak sangat sukar larut dalam air, tetapi sedikit larut dalam alkohol dan larut sempurna dalam pelarut organik seperti eter, kloroform, aseton, benzene, atau pelarut nonpolar lainnya. Campuran minyak dan air akan membentuk emulsi yang tidak stabil karena bila dibiarkan, maka kedua cairan akan memisah menjadi dua lapisan. Sebaliknya, lemak/minyak dalam soda (Na_2CO_3) akan membentuk emulsi yang stabil karena asam lemak yang bebas dalam dalam larutan lemak bereaksi dengan soda membentuk sabun. Oleh karena sabun memiliki daya aktif permukaan membuat minyak menjadi tersebar seluruhnya.

Cara Kerja:

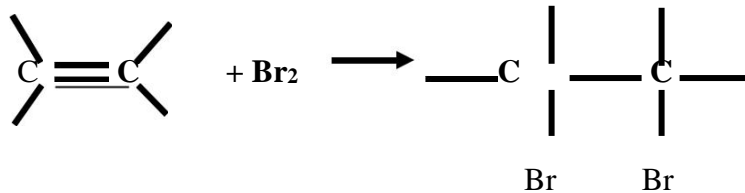
- 1) Sedikan 6 buah tabung reaksi, masing-masing diisi dengan 2 ml
 - a. Air
 - b. Ethanol
 - c. Kloroform
 - d. 2% larutan natrium karbonat
- 2) Minyak ditetaskan kedalam masing-masing tabung tersebut, catat pada pelarut mana yang paling sempurna.
- 3) Perhatikan kelarutan lemak tersebut dan catat pada pelarut mana yang paling sempurna
- 4) Teteskan setetes larutan pada kertas saring, perhatikan ada tidaknya noda setelah menguap.
- 5) Keberadaan lemak ditandai dengan adanya noda.

B. Uji ketidakjenuhan

Tujuan : Mengetahui sifat ketidakjenuhan minyak atau lemak

Prinsip : Komposisi asam lemak dalam trigliserida terdiri atas asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh. Asam lemak jenuh adalah asam lemak yang tidak mempunyai ikatan rangkap, sedangkan asam lemak tidak jenuh adalah asam lemak yang mempunyai satu atau lebih ikatan rangkap.

Asam lemak jenuh seperti asam palmitat dan asam stearat banyak terdapat pada lemak hewani, sedangkan asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat banyak berasal dari minyak nabati. Beberapa di antara asam lemak tidak jenuh merupakan asam lemak esensial.



Cara kerja :

- 1) a. Larutkan 1 tetes asam lemak dalam 1 ml kloroform
 - b. Kemudian, tambahkan 2 atau 3 tetes larutan indikator (Iod Hubl)
 - c. Aduk dan kocok, sehingga warna akibat indikator akan segera hilang
 - d. Lakukan 2x pengulangan dan juga menggunakan asam lemak yang lain.
- 2) a. Sediakan 5 buah tabung reaksi, masing-masing diisi dengan 1 ml :
 1. Minyak kelapa (minyak curah)
 2. Minyak sawit kemasan
 3. Mentega
 4. Margarin
 - c. Tambahkan sejumlah kloroform dengan perbandingan kloroform:sampel yakni 1:1
 - d. Tambahkan larutan indikator (Iod Hubl) tetes demi tetes (setiap penambahan lakukan pengamatan)
 - e. Perhatikan perubahan warna yang terjadi

C. Uji Akrolein

Tujuan : Mengamati keberadaan gliserol

Prinsip : Lemak merupakan ikatan ester antara asam lemak dengan gliserol.

Gliserol larut dalam air dan alcohol, tetapi tidak larut dalam eter, kloroform, dan benzene. Uji keberadaan gliserol dapat dilakukan dengan uji akrolein.

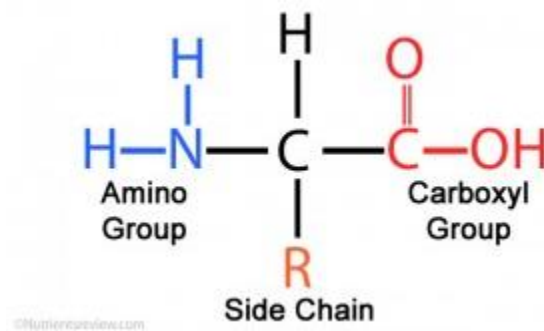
Cara kerja

Siapkan 3 buah tabung reaksi

- 1) Masing-masing tabung reaksi diisi dengan :
 - a. 10 tetes minyak (curah/kemasan)
 - b. 10 tetes gliserol
 - c. 10 tetes asam lemak
- 2) Tambahkan pada masing-masing tabung reaksi kalium hidrogen sulfat
- 3) Panaskan di atas api Bunsen dengan hati-hati, kemudian perhatikan asap yang terbentuk (akrolein ditandai dengan asap putih)
- 4) Cari referensi dan buatlah persamaan reaksi dari pembentukan akrolein

BAB III PROTEIN

Asam amino merupakan senyawa organik yang merupakan satuan penyusun protein yang mempunyai gugus amino dan karboksilat (Gambar 1). Protein merupakan makromolekul pembentuk, memelihara dan memperbaiki jaringan serta berperan penting dalam sistem biokimia organisme. Perbedaan antara sisi samping (R) membuat perbedaan jenis asam amino. Asam amino mempunyai sifat-sifat asam maupun basa. Pada umumnya asam amino dan protein larut dalam air, dan hanya larut sebagian didalam pelarut organik.



Gambar 1 Struktur asam amino

Protein dibentuk dari susunan asam amino satu dengan asam amino yang lain melalui ikatan peptida (-CO—NH-). Oleh sebab itu protein juga diistilahkan sebagai polipeptida. Asam amino dapat terionisasi oleh keberadaan rantai samping (R), gugus karboksil dan gugus amino. Hal ini mempengaruhi sifat protein dimiliki. Meskipun demikian, sifat muatan dari protein ditentukan oleh banyaknya gugus yang terionisasi pada rantai samping asam amino.

Protein memiliki 4 struktur yaitu: primer; sekunder; tersier; dan kuarterner. Struktur primer protein merupakan struktur sederhana dari protein dimana asam amino tersusun secara linier dan menyerupai susunan huruf. Struktur sekunder terbentuk melalui belitan, lipatan, melingkarnya protein yang memiliki struktur primer. Hal ini dikarenakan ikatan hidrogen antara atom O dari gugus karbonil dengan atom H dari gugus amina dalam suatu rantai polipeptida membentuk konfirmasi spiral yang disebut struktur helix.. Struktur tersier terbentuk karena adanya interaksi rantai samping antar struktur sekunder polipeptida. Interaksi rantai samping dapat berupa ikatan hidrogen, jembatan disulfida, interaksi hidrofobik, atau ikatan ionic. Contoh dari struktur tersier protein adalah protein globular. Protein globular yang mempunyai berat molekul ≥ 50.000 Da merupakan suatu oligomer yang terjadi dari bebrapa beberapa rantai polipeptida yang terpisah. Bentuk struktur protein yang terakhir adalah kuarterner. Protein kuarterner dibentuk dari interaksi anatara 2 atau lebih polipeptida tersier.

TUJUAN UMUM PERCOBAAN :

- Mempelajari sifat-sifat reaksi asam amino.
- Melakukan identifikasi asam amino dan protein.
- Menentukan senyawa-senyawa asam amino secara kualitatif

PROSEDUR PERCOBAAN

KELARUTAN ASAM AMINO DAN PROTEIN

Reagen dan bahan :

Asam klorida (HCl) 0,1 N, natrium hidroksida (NaOH) 0,1 N, etanol, kloroform, aquades, asam amino (glisin, asam glutamat, prolin, tirosin), putih telur, keju dan tahu.

Prosedur :

Sebanyak 0,1 g asam amino bubuk dimasukkan masing-masing ke dalam tabung reaksi. Kemudian pada masing-masing asam amino periksa kelarutannya dengan pelarut-pelarut sebagai berikut : air, asam encer, basa encer, etanol, dan kloroform.

REAKSI NINHIDRIN

Reagen dan bahan :

Kasein, putih telur, keju, tahu, dan asam amino-asam amino (1g/L): glisin ; tyrosin; tryptofan; asam glutamat; prolin.

Prosedur :

Masukkan 1 mL larutan asam amino ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan 5 tetes larutan Ninhidrin dan masukkan dalam penangas air selama 2 menit. Lakukan pengamatan

DENATURASI PROTEIN OLEH PANAS DAN pH

Reagen dan bahan :

Asam klorida (HCl), natrium hidroksida (NaOH), dan protein (5g/L): putih telur, keju serta tahu.

Prosedur :

Sebanyak 5 mL dari setiap larutan protein dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi. Tambahkan 0,5 mL HCl pada tabung ke-1, 0,5 mL NaOH pada tabung kedua kemudian dibiarkan pada temperatur kamar dan amati. Tabung ketiga ditambahkan 0,5 mL aquades dan panaskan pada penangas air suhu 80 °C selama 10 menit, kemudian dinginkan pada temperatur kamar dan amati.

UJI BIURET

Senyawa yang mengandung 2 atau lebih ikatan peptida akan membentuk kompleks warna ungu dengan Cu dalam kondisi alkali.

Reagen dan bahan :

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 10 g/L , NaOH 10 N
- Protein (5g/L): albumin; kasein; gelatin; pepton
- Kasein dilarutkan dalam NaOH sedikit encer dan protein yang lain dalam larutan buffer saline.

Prosedur :

Sebanyak 5 tetes larutan kuprisulfat ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 2 mL larutan protein, setelah itu ditambah 2 mL NaOH, diaduk dan dicatat warna yang terbentuk.

PENETAPAN PROTEIN BERDASARKAN BERAT MOLEKUL

Catatan Penting:

Bahan praktikum mengandung senyawa kimia karsinogen maka harus hati-hati dan menggunakan alat proteksi kulit seperti sarung tangan.

Elektroforesis SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electrophoresis*)

Siapkan marker protein yang telah diketahui berat molekulnya. Protein (sampel) dimasukkan sebanyak 10 μl ke dalam tube kecil (tube khusus PCR) dan dicampurkan dengan 10 μl loading protein untuk selanjutnya didenaturasi pada suhu 100°C selama 5 menit. Sebelum dimasukkan ke dalam sumur pada gel elektroforesis, campuran protein dan loading protein yang telah didenaturasi dimasukkan dalam lemari pendingin. Elektroforesis dilakukan dengan perangkat elektroforesis. Gel terdiri dari 2 bagian yaitu separating gel dan konsentrat gel. Separating gel dibuat terlebih dahulu dan berada pada bagian bawah, sedangkan konsentrat gel berada pada bagian atas.

Gel dibiarkan mengering tetapi sebelumnya sumur pada gel telah dibuat. Gel dipasang pada perangkat gel elektroforesis dengan posisi berdiri dan direndam dengan buffer elektroforesis. Kemudian marker dan sampel enzim dimasukkan masing-masing sebanyak 7 μl pada sumur gel. Running elektroforesis dilakukan selama ± 40 menit. Setelah itu gel dilepaskan dan direndam dalam larutan *commasie blue* selama 30 menit. Gel yang telah direndam dalam larutan *commasie blue* diletakkan pada roker. Tahap selanjutnya gel dibilas dengan aquades dan

kemudian direndam kembali dalam larutan destaining selama 1 malam. Band atau pita protein dengan berat molekul berbeda akan terpisah. Hasil yang diperoleh didokumentasikan.

Komposisi separating dan konsentrat gel yakni:

Tabel 3. Komposisi separating dan konsentrat (*stacking*) gel untuk SDS-PAGE

Senyawa kimia	Separating gel	Konsentrat gel
2H ₂ O	7.55 ml	3.1 ml
1.5 M Tris HCl pH 8.8	3.75 ml	
0.5 M Tris HCl pH 6.8		1.25 ml
44% Akrilamid	3.40 ml	0.55 ml
10 % SDS	150 µl	50 µl
APS	150 µl	50 µl
TEMED	15 µl	5 µl
Total	15 ml	5 ml

UJI KONSENTRASI PROTEIN DENGAN METODE *Bicinchoninic Acid* (BCA)

Pengujian ini digunakan untuk mengukur konsentrasi protein secara kuantitatif dengan menggunakan standar *Bovine Serume Albumin* (BSA)

Prosedur:

Reagen BCA (*working reaction*) dibuat dengan mencampurkan reagen A (yang terbuat dari campuran sodium karbonat, sodium bikarbonat, asam bikikoninat, dan sodium tartarat dalam 0.1 M sodium hidroksida) dengan reagen B (4% CuSO₄/kupri sulfat) dengan perbandingan 50:1. Sampel dan reagen BCA kemudian dicampurkan perbandingan 1:20. Campuran reaksi di inkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Hasil inkubasi diukur dengan panjang gelombang 560 nm. Kurva standar dibuat dengan menggunakan 0-2 mg/ml BSA dalam 0.9% garam dan 0.05% NaN₃, lalu diukur pada panjang gelombang yang sama. Pada analisis dengan metode ini, larutan akan berwarna ungu akibat reaksi antara ikatan peptida, kupri (Cu) dengan reagen BCA. Perubahan warna ungu berkorelasi dengan konsentrasi protein/keberadaan ikatan peptida

BAB IV

PENENTUAN KADAR ASAM AMINO SECARA KUANTITATIF

Penentuan kadar asam amino tertentu bisa digunakan sebagai indikator suatu protein tertentu seperti pada gelatin yang kebedaannya diuji berdasarkan adanya kandungan asam amino prolin dan hidroksiprolin.

Penentuan konsentrasi suatu larutan dapat ditentukan menggunakan spektrofotometer. Spektrofotometer, yaitu alat yang digunakan untuk menentukan suatu senyawa, baik secara kuantitatif maupun kualitatif dengan mengukur transmitan atau absorban dari suatu cuplikan sebagai fungsi dari konsentrasi. Bagian-bagian utama dari spektrofotometer adalah sumber cahaya, monokromator, tempat contoh, detektor, dan rekorder. Monokromator berfungsi mengubah sinar polikromatik menjadi monokromatik. Tempat larutan contoh yang diukur biasanya ditempatkan dalam kuvet. Contoh akan diubah menjadi atom atau atom tereksitasi di dalam kuvet tersebut. Sementara detektor berfungsi mendeteksi sinar dengan panjang gelombang terpilih dan berapa besarnya,serta mengubah energi sinar menjadi energi listrik. Hasil pengukuran berupa angka atau lainnya ditampilkan oleh rekorder yang berfungsi sebagai sistem pembacaan (Hartoyo et al. 2010).

Penghitungan asam amino atau protein secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan kurva standar. Kurva standar diperoleh dari nilai absorpsi (pengukuran) sebuah standar asam amino/protein yang telah diketahui konsentrasinya. Dari kurva standar akan diperoleh nilai persamaan linier yang menunjukkan hubungan antara dua variable yakni konsentrasi dan absorbansi pada spektrofotometer.

TUJUAN UMUM PERCOBAAN

Menentukan kandungan asam amino bebas pada kentang dengan cara spektrofotometri dan mengetahui cara pengukuran protein secara kuantitatif

ALAT DAN BAHAN

Bahan : Glisin, kentang, ninhidrin 2%, larutan standar asam amino glisin (0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm), air destilata, dan tissue.

Alat: spektrofotometer, kuvet, labu takar (25 ml dan 50 ml), tabung reaksi, gelas piala, penangas air, sentrifugasi, dan neraca analitik.

PROSEDUR

Pembuatan larutan standar dan blanko. Analat asam amino lisin dimasukan kedalam labu takar 25 mL. Kemudian dibuat dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 0 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm. Setelah itu diambil 5 mL dan dimasukan kedalam tabung reaksi. Masing-masing dari tabung reaksi ditambahkan 0.5 ninhidrin 2%. Semua tabung reaksi dipanaskan pada air yang mendidih sampai berwarna ungu selama 20 menit. Setelah itu didinginkan dan dimasukan ke dalam labu takar 25 mL dan tambahkan akuades sampai tanda tera. Larutan blanko disiapkan dengan mengganti analat dengan air suling.

Pembuatan spektrum serapan zat. Kuvet diisi dengan salah satu larutan standar yang ditentukan pada penentuan kadar asam amino bebas. Larutan blanko disiapkan dengan menggantikan analat dengan air suling pada penentuan asam amino bebas. Absorban larutan dihitung pada kisaran panjang gelombang 400-700 nm, dengan interval 5 nm. Setiap interval panjang diukur larutan standar dan blanko.

Analisis asam amino pada sampel/contoh. Kentang ditimbang sebanyak 0.5 g, lalu dimasukan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan air sampai setengah tabung reaksi. Kemudian vortex selama 5 menit. Supernatan diambil dan dimasukan kedalam labu takar 25 mL (Ulangi proses ini minimal 2 kali) . Supernatan yang ada di dalam labu takar 25 mL ditepatkan sampai tanda tera dengan menambahkan air suling. Kemudian diambil 5 mL dan dimasukan kedalam tabung reaksi. Setelah itu, ditambahkan 0.5 ninhidrin 2% ke dalam tabung reaksi. Kemudian dipanaskan pada air mendidih sampai berwarna ungu selama 20 menit. Setelah itu didinginkan dan dimasukkan kedalam labu takar 25 mL dan ditambahkan air suling sampai tanda tera. Nilai absorbansi diukur dengan serapan panjang gelombang tertinggi. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

PENENTUAN KADAR HIDROKSIPROLIN

BAHAN DAN ALAT

Bahan: Aquabides, sampel yang mengandung hidroksiprolin seperti gelatin, HCl, 4% (w/v) kloroamin T, buffer oksidan, *p-dimethylaminobenzaldehyde* (DMAB), larutan asam perklorat/isopropanol, standar hidroksiprolin

Alat: spektrofotometer, kuvet, tabung reaksi, mikropipet, vortex atau shaker

PROSEDUR

Pengukuran kadar hidroksiprolin dilakukan sesuai dengan metode Bergman & Loxley (1963) dan sebelumnya telah diterapkan oleh Koli *et al.*, (2012) dengan beberapa modifikasi. Sampel cair dihidrolisis dengan 12 N HCl pada suhu 120 °C selama 3 jam. Kemudian sampel hasil hidrolisis disaring menggunakan kertas Whatman No.4. Filtrat sampel kemudian dimasukkan kedalam plate reader atau tabung reaksi dan ditambahkan reagen kloramin yang mengandung 1,4% (w/v) kloroamin T dan buffer oksidan dengan rasio 1:10 (v/v). Selanjutnya campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Setelah itu ditambahkan reagen *p-dimethylaminobenzaldehyde* (DMAB) yang mengandung 10% DMAB konsentrat dan 60 % (w/v) larutan asam perklorat/isopropanol dengan perbandingan 1:1 (v/v). Campuran sampel dengan reagen kit ini kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 60 °C selama 90 menit. Campuran sampel dan larutan reagen selanjutnya didinginkan selama 2-3 menit menggunakan air mengalir. Absorbansi campuran sampel diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Hidroksiprolin (Biovision, USA) digunakan sebagai larutan standar dengan konsentrasi 0,2-1 µg/ml.

BAB V

ENZIM

Enzim merupakan biokatalisator yang mempercepat reaksi. Semua reaksi dalam sistem biokimia makhluk hidup merupakan reaksi enzimatik. Semua enzim merupakan protein, tetapi tidak semua protein merupakan enzim. Penamaan enzim biasanya berdasarkan substrat yang dihidrolisis atau yang dibentuknya. Enzim protease misalnya menghidrolisis substrat protein. Enzim lipase menghidrolisis substrat lipida atau lemak. Dan enzim amylase misalnya menghidrolisis substrat amilosa atau pati. Aplikasi pemanfaatan enzim dalam berbagai aspek kehidupan sudah dilakukan sejak lama. Seperti misalnya enzim protease telah lama digunakan untuk pengempukan daging. Enzim protease dapat berasal dari tanaman misalnya seperti, enzim papain, fisin dan bromelin. Enzim protease juga bisa berasal dari mikroorganisme dan hewan. Kebanyakan enzim yang dari alam yang aman yakni yang berasal bahan pangan, misalnya bromelin terdapat pada tanaman nanas dan papain terdapat pada tanaman pepaya.

Enzim papain digunakan untuk pengempukan daging, bahan penjernih pada industri minuman bir, industri tekstil, industri penyamakan kulit, industri farmasi dan alat-alat kecantikan (kosmetik) dan lain-lain. Enzim bromelin adalah enzim yang secara alami terdapat pada buah dan batang nanas. Enzim Bromelain dipergunakan dalam industri makanan, minuman, farmasi dan obat-obatan. Contoh enzim lainnya yakni enzim polifenol oksidase (PPO/Polyphenol Oxidase). Enzim PPO adalah enzim oksidoreduktase yang mengandung tembaga (Cu) yang umumnya dikenal berperan dalam proses melanisasi pada hewan dan pencoklatan pada tanaman. Enzim PPO tersebar luas di alam, tidak berwarna, dan stabil pada pH netral. Konsentrasi enzim yang tinggi ditemukan pada jamur, umbi kentang, apel, pisang, alpukat, daun teh, biji kopi, dan daun tembakau. Selain pada tanaman, enzim PPO juga ditemukan pada bakteri dan mamalia. Enzim PPO telah banyak dilaporkan oleh beberapa peneliti bahwa di dalam tanaman berperan terhadap sistem ketahanan, penyembuhan jaringan yang terluka dan perubahan warna.

TUJUAN UMUM PERCOBAAN

1. Mengetahui jenis enzim alami yang bermanfaat dalam bidang pangan
2. Mengetahui cara kerja enzim protease dalam menghidrolisis protein
3. Mengetahui proses browning secara enzimatik dan mengetahui proses pencegahannya

ALAT DAN BAHAN

Bahan : Daging, Kulit dan bonggol nanas, Papain (getah papaya)

Alat : Beaker glass Gelas ukur

PROSEDUR

Ekstraksi dan Pengujian Keberadaan Enzim Bromelin

Enzim bromelain yang akan diambil yaitu dari isolasi filtrat kulit dan bonggol buah nanas, oleh karena itulah bonggol dihancurkan terlebih dahulu sampai lembut dengan blender. Sedangkan kulit sebelum diblender, mata kulit dibuang terlebih dahulu. Pada proses ini digunakan aquades sebanyak 100 mL, penambahan air pada proses ini, harus diusahakan seminimal mungkin, karena bila terlalu banyak akan mempengaruhi jumlah enzim yang diperoleh.

Setelah itu dilakukan penyaringan untuk memisahkan ampas dan filtrat. Filtrat ini lah yang digunakan untuk proses isolasi enzim, sedangkan ampasnya dibuang. Filtrat dari penyaringan tidak dapat langsung digunakan namun harus didiamkan terlebih dahulu selama 15 menit. Tujuan didiamkan ini yaitu untuk mengendapkan serat-serat nanas yang masih ikut tersaring pada proses penyaringan

Kemudian untuk pengujian, sebanyak 3 buah beaker glass diisi dengan potongan daging. Beaker glass pertama berperan sebagai kontrol. Beaker glass kedua dan ketiga diisi dengan filtrat nanas. Beaker glass kedua disimpan ke dalam lemari pendingin dan beaker glass ketiga disimpan pada suhu kamar dan dimati setelah satu jam dan dua jam. Perubahan yang terjadi diamati pada saat praktikum.

Ekstraksi Enzim Papain

Buah papaya muda dikupas kulitnya. Kemudian kulit dihancurkan dengan blender tanpa pembersihan getahnya terlebih dahulu. Pada proses ini digunakan aquades sebanyak 100 mL, penambahan air pada proses ini, harus diusahakan seminimal mungkin, karena bila terlalu banyak akan mempengaruhi jumlah enzim yang diperoleh.

Setelah itu dilakukan penyaringan untuk memisahkan ampas dan filtrat. Filtrat ini kemudian diambil sedangkan ampasnya dibuang. Filtrat dari penyaringan harus didiamkan terlebih dahulu selama 15 menit untuk mengendapkan serat-serat yang masih ikut tersaring pada proses penyaringan.

Selanjutnya, sebanyak 3 buah beaker glass yang diisi potongan daging. Beaker glass pertama berperan sebagai kontrol. beaker glass kedua dan ketiga diisi dengan filtrat kulit pepaya. Beaker glass kedua disimpan ke dalam lemari pendingin dan beaker glass ketiga disimpan pada suhu kamar dan dimati setelah satu jam sampai dua jam. Perubahan yang terjadi diamati pada saat praktikum.

Polifenol oksidase

Buah apel atau kentang dipotong-potong hingga membentuk dadu, kemudian dipisahkan menjadi 5 bagian. Bagian pertama disimpan dalam beaker glass atau wadah plastik sebagai kontrol. Bagian kedua rendam potongan apel dalam larutan asam askorbat (vitamin C). Bagian ketiga direndam dalam larutan garam. Bagian keempat direndama dalam air. Bagian kelima direndam dalam air hangat pada suhu 60°C selama 10 menit. Kemudian amati setelah 1 dan 2 jam percobaan.

BAB V

ENZIM MIKROBA

Salah satu sumber enzim yang banyak digunakan dan paling pesat perkembangannya dibidang teknologi atau bioteknologi adalah enzim dari mikroorganisme. Enzim yang berasal dari kapang, khamir, dan bakteri sudah banyak diproduksi, dipurifikasi dan dikristalisasi untuk digunakan baik pada bidang industri kesehatan, pangan, pertanian dan penelitian. Keunggulan enzim dari mikroorganisme adalah kemampuannya untuk diproduksi dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat. Mikroorganisme mudah dikembangbiakkan dalam waktu yang cepat, misalnya bakteri sudah bisa mencapai titik pertumbuhan maksimum setelah dikultur selama 1 hari saja. Dan maksimum pada beberapa kapang, pertumbuhan optimal terjadi setelah 3-5 minggu ditumbuhkan pada media yang sesuai. Hal ini sangat berbeda dengan tanaman dan hewan yang membutuhkan waktu lebih lama. Disamping itu juga, mikroorganisme mudah ditemukan dan bisa diisolasi dari berbagai tempat.

Enzim dari mikroba dapat dikelompokkan menjadi 2, yaitu enzim intraseluler dan enzim ekstraseluler. Enzim intraseluler berada didalam cairan sitoplasma sedangkan enzim ekstraseluler akan dieksresikan oleh mikroba ke dalam medium pertumbuhannya. Hal yang penting diperhatikan dalam produksi enzim microbial adalah keamanan atau pathogenesis mikroba yang digunakan. Disamping itu, juga diperlukan ketelitian dan sterilitas yang tinggi agar selama proses isolasi enzim tidak terjadi kontaminasi.

TUJUAN UMUM PERCOBAAN

1. Mengetahui keunggulan enzim dari mikroba
2. Mengetahui cara isolasi enzim dari mikroba terutama bakteri
3. Mengetahui jenis enzim dari mikroba

ALAT DAN BAHAN

Alat yang dibutuhkan seperti labu ukur, mikropipet, shaker incubator, pH meter, sentrifugasi, spektrofotometer, magnetic stirrer, autoclave, refrigerator dan freezer. Sedangkan bahan yang perlu dipersiapkan kultur bakteri, medium pertumbuhan khas untuk bakteri, gliserol, es batu, senyawa penginduksi, buffer Tris.

PROSEDUR

Catatan Penting: Pastikan bakterinya aman. *E. coli* transforman biasanya lebih resikonya dibandingkan *E.coli* yang tidak diketahui kelompok apa. Karena beberapa *E.coli* ada yang patogen

a. Persiapan medium

Media cair pertumbuhan bakteri (*medium enrichment*) sebanyak 100 mL. Pembuatan media disesuaikan dengan jenis bakteri yang akan digunakan. Misalnya jika bakterinya *E.coli* maka bisa menggunakan medium yang mengandung *bacto-pepton*, NaCl, dan *yeast extract*. Sedangkan medium untuk bakteri *Lactobacillus* adalah *De Man, Rogosa dan Sharpe* (MRS). Media cair kemudian disterilisasi pada temperatur 121°C selama 15 menit.

b. Persiapan kultur

Persiapan dan penyegaran, kultur *bakteri* sebanyak 20 µl ditumbuhkan dalam 2 ml media cair. Selanjutnya diinkubasi selama 16 jam (untuk bakteri *E.coli*, jika menggunakan bakteri *Lactobacillus* bisa lebih lama karena kurva fase pertumbuhannya lemah lama) pada *shaker* inkubator (37°C, 150 rpm). Setelah inkubasi, kultur sebanyak 800 µl dimasukkan ke dalam effendof dan ditambahkan 200 µl gliserol, kemudian disimpan pada suhu -20°C. Setiap satu bulan dilakukan penyegaran terhadap kultur bakteri.

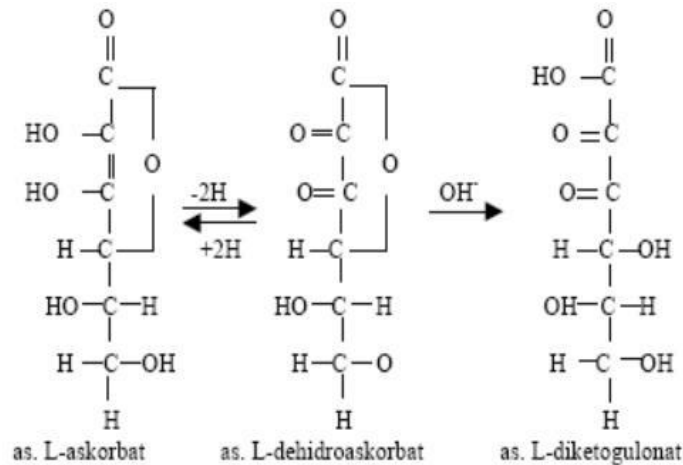
c. Produksi enzim

Kultur *E. coli* dengan umur 16 jam (atau bakteri *Lactobacillus* pada fase pertumbuhan log ± 24 jam) diinokulasikan masing-masing sebanyak 50 µl pada 5 ml medium cair untuk pertumbuhan bakteri. Selanjutnya kultur pada medium diinkubasi pada *shaker* inkubator (37°C, 150 rpm). Setelah *optical density* (OD) kedua medium mencapai 0,5-0,6 (pada panjang gelombang 600 nm) maka diberi penginduksi dengan penambahan glukosa/IPTG pada medium dengan konsentrasi akhir 1 mM, dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Inkubasi atau waktu

induksi dihentikan dengan meletakkan medium pada cairan es. Setelah itu, sel pada medium dipanen dengan setrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm suhu 4°C selama 15 menit. Supernatan 1 (**S1**) yang merupakan medium diambil dan dinyatakan sebagai **enzim ekstraseluler ekstrak kasar** (Crude extract extracellular enzyme), sedangkan pellet 1 (**P1**) yang tertinggal ditambahkan dengan 500 µl (25%) buffer Tris HCl pH 7,5 (kemudian divorteks untuk homogenisasi). Sebanyak 50 µl campuran pellet dan buffer tersebut diambil dan disimpan pada lemari pendingin. Campuran pellet 1 (**P1**) dan buffer ini disebut juga dengan total suspensi (**T**). Sisa total suspensi (**T**) kemudian dipisahkan kembali untuk memperoleh supernatan 2 (**S2**) dan pellet 2 (**P2**). Supernatan ke-2 ini yang mengandung **enzim intraseluler**. Kedua enzim ini bisa disimpan, dikeringkan atau dimurnikan lebih lanjut yang materinya akan anda pelajari pada matakuliah-matakuliah tingkat atas/lanjut.

BAB VII VITAMIN DAN KOENZIM

Vitamin merupakan suatu molekul organik (koenzim) yang dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah kecil, berfungsi sebagai koenzim pada reaksi metabolisme. Vitamin umumnya tidak dapat dibuat oleh tubuh manusia, karena itu vitamin harus diperoleh dari bahan pangan yang dikonsumsi. Vitamin dikelompokkan menjadi vitamin larut air dan vitamin larut lemak. Vitamin larut air contohnya vitamin C dan vitamin B kompleks. Sedangkan vitamin larut lemak meliputi vitamin A, D, E dan K. Vitamin C merupakan salah satu vitamin larut air yang banyak terdapat pada buah-buahan dan sayur-sayuran. Vitamin C dapat terbentuk sebagai asam L-askorbat dan asam L-dehidroaskorbat, keduanya mempunyai keaktifan sebagai vitamin C. Asam askorbat sangat mudah teroksidasi secara reversible menjadi asam L-dehidroaskorbat. Asam L-dehidroaskorbat secara kimia sangat labil dan mengalami perubahan lebih lanjut menjadi asam L-diketogulonat yang tidak memiliki keaktifan vitamin C lagi. Secara lengkap reaksi perubahan vitamin C dapat dilihat pada gambar 2



Gambar 2 Reaksi perubahan vitamin C

Vitamin C disintesis secara alami baik dalam tanaman ataupun hewan. Vitamin C mudah teroksidasi, yang dapat dipercepat dengan adanya panas, sinar, alkali, enzim, oksidator serta katalis tembaga dan besi. Vitamin C memiliki kapasitas sebagai agen pereduksi mineral tertentu seperti iodin.

TUJUAN UMUM PERCOBAAN :

Menentukan kadar vitamin C secara iodometri karena vitamin C akan mereduksi I₂ menjadi I⁻

ALAT DAN BAHAN :

Jeruk, larutan amilum , larutan I₂, akuades, biuret, Erlenmeyer, gelas ukur, pipet, labu takar

PERCOBAAN

1. Jeruk ditimbang sekitar 10 sampai 30 gram, kemudian diperas dan dimasukkan dalam labu takar 100 ml , selanjutnya tambahkan akuades sampai tanda batas.
2. Hasil perasan jeruk kemudian dikocok dan saring dan diambil 5 – 25 ml filtratnya dengan pipet ukur. Setelah itu dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan 2 ml larutan amilum 1% dan 20 ml akuades.
3. Lakukan titrasi dengan larutan iodium 0,01 N .

Perhitungan

1 mL larutan iodine 0,01 N = 0,88 mg asam askorbat.

$$\begin{aligned} \text{Kadar vit. C} &= \frac{V(I_2) * N(I_2)}{0,01} * 0,88 \text{ mg} = \mathbf{a} \text{ mg} \\ &= \frac{100 * \mathbf{a} * 100\%}{V \text{ sampel} * \text{berat sampel (mg)}} \end{aligned}$$

BAB VIII ASAM NUKLEAT

Asam nukleat merupakan makromolekul biokimia yang tersusun atas rantai nukleotida yang mengandung informasi genetic. Asam nukleat yang paling berperan penting dan harus diketahui adalah Asam deoksiribonukleat (DNA) dan Asam ribonukleat (RNA). Asam nukleat ditemukan pada setiap makhluk hidup berada di organel nukleus (inti sel) di dalam sel.

Bentuk struktur DNA berupa rantai ganda (double) heliks, sedangkan struktur RNA berupa untai tunggal (single) heliks. Unit dasar dari DNA adalah nukleotida yang terdiri atas basa (Adenin, Guanin, Timin dan Sitosin), gula dioksiribosa dan grup fosfat. Keempat macam basa tersebut tersambung ke rantai gula fosfa. Masing-masing basa purin (Adenin an Guanin) selalu berpasangan dengan basa pirimidin (Timin dan Sitosin). Adenin selalu berpasangan dengan Timin sedangkan Guanin selalu berpasangan dengan Sitosin sehingga menghasilkan suatu model pilih ganda simetris. RNA merupakan hasil dari transkripsi DNA dengan basa pembentuknya yakni menyerupai DNA dengan basa tambahan Urasil.

Gabungan dari DNA-DNA dinamakan gen. Materi genetic ini baru akan memiliki arti dan karakter fungsional jika dalam bentuk gen. Gen didalam sel makhluk hidup akan berikatan dengan DNA atau gen lainnya sampai membentuk lilitan yang sangat panjang dan terlihat dalam bentuk benang-benang kromatin. Isolasi DNA tanaman dapat dilakukan dengan mengambil benang-benang kromatin di dalam inti sel. Proses isolasi komponen makromolekular dari sel, ada tiga hal yang harus diperhatikan :

1. Pemecahan dinding sel dan sistem membran harus seefisien mungkin, sehingga memudahkan untuk ekstraksi komponen yang diinginkan.
2. Pada pemecahan sel harus dikerjakan pada kondisi tertentu yang dapat menginhibisi atau merusak enzim pendegradasi.
3. Untuk mendapatkan komponen yang diinginkan harus digunakan prosedur fraksinasi.

Sel tumbuhan terbungkus dalam membran sitoplasma yang dikelilingi sel yang kuat. Untuk mengeluarkan DNA dari dalam sel terlebih dahulu harus meng-hancurkan membran dan dinding sel tersebut. Cara yang paling sering dilakukan pada bakteri adalah dengan menggunakan bahan kimia. Selain itu, seperti yang sering dilakukan pada tanaman, dapat pula dilakukan dengan cara fisik yaitu menghancurkan sel menggunakan mortar dan pestle pada kondisi beku dengan bantuan nitrogen cair. Tepung sel yang diperoleh melalui cara fisik ini kemudian dilarutkan dengan beberapa bahan kimia, kemudian dipisahkan supernatan yang mengandung DNA, RNA dan protein dari debris sel.

TUJUAN

Praktikum ini bertujuan untuk mengetahui penampakan asam nukleat dari bagian tanaman.

BAHAN DAN ALAT

Bahan

- a. Sayuran misalnya brokoli
- b. Detergent bubuk sebanyak 0,7-0,8 sendok teh
- c. Garam meja sebanyak 2,5 sendok teh
- d. Ethanol 70%

Alat

- a. Beaker glass ukuran 200 ml dan 500 ml
- b. Sendok teh
- c. Mortar dan pestle
- d. Saringan teh
- e. Chop stick (pengaduk/sumpit)

PROSEDUR

- a. Masukkan dan campurkan garam meja dan detergen bubuk ke dalam beaker glass yang berisi 200 ml air, aduk hingga larut merata.
- b. Tumbuk dua kuntum brokoli/sayuran menggunakan mortar dan pestle
- c. Tuangkan 100 ml larutan detergent - garam meja ke sayuran tersebut dan tunggu 10 – 15 menit
- d. Saring menggunakan saringan teh ke dalam beaker glass ukuran 500 ml
- e. Tambahkan ethanol 70% dua kali lipat volume cairan hasil penyaringan menggunakan chop stick/pengaduk secara perlahan-lahan.
- f. Tunggu beberapa saat dan perhatikan dua lapisan yang terbentuk dalam beaker glass
- g. Ambil lapisan yang melayang menggunakan pengaduk

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2017. Petunjuk Praktikum Biokimia. Malang: Universitas Brawijaya.
- Atma, Y. 2011. Produksi dan Karakterisasi Enzim Arabinosa Isomerasi (AI) dari Gen Bakteri *Geobacillus stearothermophilus* Lokal. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Atma, Y., Hisworo, R. 2017. Ekstraksi Gelatin dari Tulang Ikan Patin Menggunakan Limbah Buah Nanas. Laporan Penelitian Dosen Pemula, Kementrian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Trilogi.
- Hartoyo, dkk. 2010. Penuntun Kimia dan Biokimia Pangan. Bogor: IPB Press.
- Koolman J, Roehm KH. 2005. *Color Atlas of Biochemistry: 2nd edition, revised, enlarged*. Ed ke-2. Stuttgart: Thieme.
- Lehninger AL. 2004. *Biochemistry*. Ed ke-4. USA: Worth Publishers, Inc.
- Muchtadi, D. 2010. Metabolisme Seluler Komponen Pangan. Materi Perkuliahan. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, IPB. Bogor.
- Walker JM. 2009. SDS polyacrylamide gel electrophoresis of proteins. Di dalam: Walker JM, editor. *The Protein Protocols Handbook*. Ed ke-3. UK: Human Press. hlm 177-186.