



**PANDUAN
PRAKTIKUM BIOMEDIK 2**

**PROGRAM STUDI S-1
KESEHATAN MASYARAKAT**

**FAKULTAS KESEHATAN
UNIVERSITAS DIAN NUSWANTORO
SEMARANG**

TATA TERTIB PRAKTIKUM BIOMEDIK 2

1. Setiap peserta harus mengikuti lengkap semua percobaan yang terjadwal.
2. Praktikan diharapkan telah datang 15 menit sebelum jam praktikum mulai.
3. Sebelum masuk ruangan, praktikan diharapkan meletakkan tas dan barang-barang yang tidak ada hubungan dengan praktikum pada tempat yang disediakan.
4. Selama melakukan praktikum, seorang praktikan diwajibkan mengenakan jas laboratorium yang telah ditentukan.
5. Praktikan harus menjaga kebersihan dan ketenangan laboratorium, serta berhati-hati dalam menggunakan peralatan karena **setiap kerusakan alat yang disebabkan oleh praktikan harus diganti oleh yang bersangkutan.**
6. Selama mengikuti praktikum, para peserta tidak diperbolehkan makan, minum serta meninggalkan laboratorium tanpa ijin terlebih dahulu kepada asisten.
7. Pada setiap percobaan akan dilakukan test pada awal (*pre test*), praktikum, tes akhir (*post test*) percobaan oleh para asisten, maka praktikan harus mempersiapkan diri materi percobaan yang sedang dilakukan.
8. Peserta yang tidak menguasai materi percobaan akan dikeluarkan dan tidak boleh mengikuti praktikum.
9. Bagi peserta yang gagal memperoleh data (percobaan gagal atau dikeluarkan karena tidak menguasai percobaan) atau berhalangan hadir (dibuktikan dengan surat keterangan) maka diberikan waktu pengganti praktikum maksimal 1 kali sesuai kesepakatan dari asisten.
10. Laporan hasil percobaan diselesaikan saat itu juga dengan format yang telah diberikan pada saat asistensi.
11. Diadakan ujian akhir praktikum setelah semua percobaan dijalankan.
12. Bagi peserta yang tidak mentaati tata tertib tersebut akan dikenakan sanksi akademik.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas selesainya penyusunan buku “Petunjuk Praktikum Biomedik 2”. Buku ini merupakan panduan praktikum bagi mahasiswa Fakultas Kesehatan Universitas Dian Nuswantoro.

Percobaan-percobaan yang terdapat dalam buku ini disesuaikan dengan mata kuliah Biomedik yang telah didapatkan oleh mahasiswa Fakultas Kesehatan Universitas Dian Nuswantoro, sehingga mahasiswa dapat mengembangkan pengetahuan yang telah didapatkan. Dasar teori yang ada, diharapkan dapat membantu mahasiswa dalam lebih memahami proses-proses biokimia dalam tubuh manusia.

Mudah-mudahan buku ini bermanfaat terutama bagi para mahasiswa dan diharapkan dapat lebih terarah dalam melakukan Praktikum Biomedik 2, sehingga dapat membuka cakrawala pikir kita.

Bagaimanapun buku ini masih merupakan tahap awal untuk melangkah lebih lanjut. Perbaikan-perbaikan dan saran demi perbaikan buku ini kami terima dengan tangan terbuka.

Penyusun

DAFTAR ISI

Tata Tertib	i
Kata Pengantar	ii
Daftar Isi	iii
Pendahuluan	iv
Pengenalan Alat dan Penggunaannya	1
Spektrofotometri	13
Karbohidrat	18
Protein	25
Lemak.....	30
Metabolisme Glikolisis dalam Sel Ragi	36
Analisis Kualitatif Urin	39
Mikroskop	45
Helmintologi	50
Entomologi.....	53
Daftar Pustaka	54

PENDAHULUAN

A. HAL-HAL YANG HARUS DIPATUHI OLEH PESERTA

1. Setiap peserta harus hadir tepat pada waktu yang telah ditentukan serta mengisi daftar hadir sebelum praktikum di mulai. Apabila seorang peserta terlambat lebih dari 10 menit dari waktu tersebut, maka ia tidak diperkenankan untuk mengikuti praktikum pada hari itu.
2. Setiap praktikan harus :
 - a. memakai jas praktikum dan tidak boleh memakai sandal
 - b. membawa : serbet, kartu praktikum, rencana kerja (dalam laporan sementara)
3. Praktikan harus sudah lulus pretest sebelum mengikuti pratikum pada hari itu.
4. Selama pratikum harus diperhatikan hal-hal sebagai berikut :
 - a. Dilarang memindahkan botol reagensia. Segera sesudah dipakai, botol harus diletakkan kembali pada tempat semula.
 - b. Penggunaan reagen harus seefisien mungkin.
 - c. Buku petunjuk praktikum tidak boleh berada di meja praktikum.
 - d. Alat praktikum yang rusak / pecah menjadi tanggung jawab praktikan.
5. Pembuatan laporan :
 - a. Laporan sementara, harus dikumpulkan pada hari praktikum.
 - b. Laporan resmi harus sudah diserahkan paling lambat pada praktikum berikutnya. Bila tidak memenuhi ketentuan tersebut, praktikum yang telah dilaksanakan digagalkan (INHAL).
6. INHAL praktikum hanya diberikan pada waktu yang telah ditentukan oleh laboratorium kesehatan.
7. Setiap peserta harus mengembalikan alat-alat yang telah dipakai dalam keadaan bersih dan kering serta mengembalikan ke tempat semula.
8. Setiap peserta harus menjaga kebersihan laboratorium dan bekerja dengan tertib, tenang dan teratur.
9. Setiap peserta harus mengembalikan bahan-bahan kimia yang diambilnya ke tempat semula, dengan tutup botol jangan sampai tertukar.
10. Mahasiswa yang tidak mematuhi aturan-aturan yang telah ditentukan dalam petunjuk praktikum ini, maka asisten berhak mengeluarkan dari laboratorium.

B. HAL-HAL YANG PERLU DIPERHATIKAN OLEH PRAKTIKAN

Untuk menghindari kesalahan-kesalahan dan kecelakaan yang mungkin terjadi pada waktu praktikum, maka petunjuk dibawah ini harus diperhatikan dengan sungguh-sungguh oleh praktikan.

1. Jika akan mulai praktikum maka sediakan alat-alat yang akan dipakai di atas meja. Alat-alat yang tidak dipergunakan disimpan pada tempat yang telah disediakan supaya tidak mengganggu pada waktu bekerja.
2. Periksalah lebih dahulu apakah alat-alat itu bersih atau tidak, jika alat-alat tersebut kotor, bersihkan lebih dahulu dengan zat-zat pelarut yang tepat misalnya dengan air sabun, larutan kalium dikromat dalam asam sulfat encer, dan lain-lain.
3. Zat-zat yang akan dipakai untuk praktikum disimpan dengan baik dalam tempat yang tertutup, supaya jangan sampai terkena kotoran-kotoran dari luar karena dapat mempersukar pada waktu penyelidikan.
4. Pakailah reagen secukupnya saja dan periksalah reagen itu jernih atau keruh. Endapan-endapan yang mungkin terjadi dapat dibersihkan dari cairannya dengan jalan menyaring, kemudian endapan yang tertinggal diatas kertas saring dicuci dengan aquadest paling sedikit tiga kali.
5. Untuk melarutkan zat-zat padat, mengencerkan suatu larutan dan mencuci digunakan aquadest.
6. Alat untuk mengambil bahan-bahan yang kristal atau berbentuk tepung ialah dengan sendok sungsung atau porselin. Sebelumnya sendok tersebut harus diperiksa kebersihannya. Bersihkan dengan lap yang bersih. Jangan sampai isi botol bahan-bahan tercampur dengan bahan-bahan yang lain.
7. Pada setiap selesai bekerja alat-alat harus dibersihkan dari bekas-bekas reagensia, sedang kotoran-kotoran dibuang di bak yang telah disediakan (jangan dibak pencuci).
8. Menghindari kecelakaan.

Asal terjadinya kecelakaan tidak semata-mata berasal dari faktor-faktor material (bahan-bahan dan alat-alat), tetapi juga dari faktor psikologis. Untuk menghindari hal yang terakhir ini perlu ketenangan, kebersihan dan terutama konsentrasi dalam bekerja. Bahaya-bahaya terutama bagi mata, kulit dan darah ialah berasal dari :

a. Bahan-bahan yang berbahaya (korosif dan eksplosif)

Misalnya : H_2SO_4 pekat, HF, CH_3COOH , KOH, NaOH, NH_4OH , H_2O_2 , Air brom, senyawa-senyawa Cr, persulfat, CaOCl_2 , asam oksalat dan lain-lain. Jangan memipet bahan ini dengan mulut. Hindarilah percikan-percikan di meja kerja. Sediakanlah selalu satu lap yang bersih, dan satu lap meja kerja. Janganlah menuang air ke dalam

H₂SO₄ pekat, tetapi harus sebaliknya H₂SO₄ dituangkan ke dalam air melalui dinding dalam bejana (jangan ke dalam air panas). Begitu juga dengan NaOH dan KOH pekat.

b. Gas-gas yang berbahaya

CO, H₂S, uap Hg, HCN, AsH₃, NO₂, Cl₂, Br₂ dan lain-lain. Terhadap gas-gas ini kita harus selalu mengerjakannya dalam almari asam terutama HCN dan H₂S, dan tangan harus lekas dicuci.

c. Bahan-bahan yang eksplosif

ClO₂ (dari KClO₃ dan H₂SO₄ pekat), Mn₂O₇ (dari KMnO₄ dan H₂SO₄ pekat). Oksigen dari logam-logam berat, asam perklorat dalam lingkungan asam, Na₂O₂ dalam lingkungan zat arang.

d. Bahan-bahan yang mudah terbakar

Alkohol, eter, CS₂ aseton (hati-hati dengan bahan ini, jangan sampai dekat api).

9. Berhati-hatilah bila bekerja dengan bahan uji yang berasal dari bahan-bahan biologis seperti darah, saliva atau urin karena kemungkinan dapat terinfeksi kuman atau virus berbahaya seperti HIV atau hepatitis.
- Sebaiknya gunakan sarung tangan karet sekali pakai, terutama bila ada luka.
 - Hindari kemungkinan tertusuk jarum.
 - Cuci segera tangan atau anggota badan yang kontak atau terpercik darah. Cuci dengan cermat menggunakan sabun.
 - Buang bahan yang mengandung darah dalam wadah plastik tertutup.
 - Cuci alat-alat laboratorium dengan sabun dan sterilisasi dengan merendamnya dalam larutan natrium hipoklorit 0,5% selama 30 menit.
 - Bersihkan meja laboratorium dengan air sabun dan dengan larutan natrium hipoklorit 0,5%.

**FORMAT LAPORAN SEMENTARA
PRAKTIKUM BIOMEDIK**

Judul Praktikum :

Tujuan Praktikum :

Bahan dan Alat :

Cara Kerja :

Hasil Praktikum :

Asisten

(.....)

FORMAT LAPORAN RESMI PRAKTIKUM BIOMEDIK

Judul Praktikum

Halaman Pengesahan

BAB 1. Tujuan Praktikum

BAB 2. Tinjauan Pustaka

BAB 3. Bahan dan Alat

BAB 4. Cara Kerja

BAB 5. Hasil Praktikum

BAB 6. Pembahasan

BAB 7. Kesimpulan & Saran

Daftar Pustaka

PENGENALAN ALAT DAN PENGGUNAANNYA

I. TUJUAN

1. Mahasiswa mengenal jenis-jenis peralatan dalam laboratorium.
2. Mahasiswa mengetahui penggunaan masing-masing alat laboratorium.
3. Mahasiswa mampu memilih dan menggunakan alat berdasarkan ketelitian yang dikehendaki, sifat zat yang dipakai dan keamanan bagi pemakai dan lingkungan.
4. Mahasiswa mampu bekerja dengan rapi dan efisien sesuai dengan prosedur percobaan yang akan dilakukan dalam laboratorium.

II. LANDASAN TEORI

Peralatan dalam laboratorium terdiri dari peralatan gelas seperti tabung reaksi, pipet, buret dan sebagainya dan peralatan instrumen seperti timbangan, pemanas dan lain-lain.

2.1. Peralatan Gelas

Peralatan gelas harus selalu bersih, yaitu peralatan dicuci dengan larutan detergen yang cukup hangat, bila perlu dengan larutan basa atau asam, kemudian dibilas beberapa kali dengan air suling. Sebelum digunakan, peralatan gelas dibilas sekali lagi dengan larutan (cairan) yang menempati peralatan gelas tersebut.

Peralatan gelas seperti pipet, labu takar dan lain-lain, sangat teliti dan merupakan produksi dengan teknologi yang bermutu. Namun ketelitian tidak akan berarti bila selama analisa/melakukan percobaan, cara pemakaian alat dan prosedur tidak dilakukan dengan cermat dan tepat.

Beberapa peralatan gelas yang sering digunakan dalam laboratorium diantaranya adalah :

1. Pipet

Ada tiga jenis pipet yang dikenal yaitu pipet takar (pipet gondok), pipet bergaris (pipet ukur) dan pipet pasteur.

a. Pipet takar (pipet gondok)

Bagian tengah dari pipet ini ada bagian yang membesar (gondok). Ujungnya runcing. Ukuran volum 1 sampai 100 ml. Digunakan untuk mengambil larutan dengan volume tertentu dan dengan tepat.

b. Pipet bergaris (pipet ukur)

Pipet ini semua bagiannya sama. Digunakan untuk mengambil larutan dengan volume tertentu. Biasanya tidak digunakan untuk menyediakan cairan sebanyak volum pipet sendiri, hanya bagian cairan yang berada antara dua garis misal 0,2 ml, 0,3 ml dan sebagainya. Bila hendak memindahkan volum cairan seluruhnya (sampai ujung pipet), maka volum tersebut tepat bila tetes terakhir telah keluar dari ujung pipet ukur, dalam hal ini boleh ditiup keluar.

c. Pipet pasteur

Digunakan untuk mengambil larutan dalam jumlah kecil.

Cara menggunakan :

Bila cairan bersifat korosif (larutan asam dan basa dengan kadar $\geq 0,01$ N), bersifat organik (seperti aseton), beracun (seperti klor, sianida) atau yang mengganggu kesehatan (seperti air buangan penduduk), maka untuk pengisian pipet harus digunakan karet penghisap (bulb). Cegahlah cairan masuk ke bola karet penghisap karena dapat menimbulkan kontaminasi pada cairan, pada waktu menghisap usahakan pipet selalu dalam keadaan tegak.

Supaya volum cairan yang dipindahkan benar-benar teliti, maka :

1. Cairan yang sedang keluar tidak boleh ditekan dengan meniup keluar, cairan harus keluar dengan bebas (pada pipet gondok). Pipet dipegang antara ibu jari dan jari tengah, lubang atas ditutup dan dibuka dengan jari telunjuk (kalau dengan ibu jari kurang teliti). Ujung pipet menyentuh dinding gelas beker atau erlenmeyer selama waktu yang diperlukan untuk mengeluarkan volume cairan.
2. Ujung pipet harus diletakkan pada dinding tempat penerima, sedang pipet diputar dengan hati-hati (*lihat gambar 1 dan 2*) agar cairan keluar dengan mudah dan hanya sisa tertentu yang tertinggal pada ujung pipet.
3. Waktu yang diberikan untuk keluarnya cairan harus cukup yaitu 10 sampai 15 detik (untuk pipet gondok)

2. Buret

Bentuk : berupa sebuah tabung kaca yang bergaris dan mempunyai kran diujungnya, untuk mengeluarkan volum cairan yang tertentu dengan debit berupa tetes sampai aliran.

Volum : 25 ml atau 50 ml dengan interval 0,1 ml, satu tetes yang keluar dari ujung buret kira-kira sama dengan 0,03 ml.

Kegunaan : untuk titrasi.

Cara menggunakan :

Sebelum diisi, buret harus dibilas dahulu dua kali dengan jenis cairan yang akan diisi ke dalam buret, pengisian buret dilakukan dari atas dengan menggunakan corong, bila titrasi akan dimulai ujung buret tidak boleh kosong (harus berisi cairan), dan semua gelembung harus dihilangkan. Tinggi cairan dalam buret (titran) harus diketahui, lebih mudah bila titrasi dimulai dari titik nol dengan pembacaan yang benar yaitu meniskus cairan menyentuh garis nol tersebut (volume zat yang dipakai dapat dilihat pada skala). Cara membuka dan menutup kran buret dapat dilihat pada *gambar 3*. Kran harus dipasang dengan baik, kalau tertekan ke dalam kran tidak dapat diputar, kalau terlalu lepas dapat mengakibatkan bocor. Sebaiknya diberi vaselin pada tepi kran (jangan sampai menutupi lubang kran dan mencemari larutan titran). Titrasi dilakukan dengan menggoyangkan beker atau erlenmeyer beserta cairannya dengan menggunakan tangan kanan (*lihat gambar 4*).

3. Labu Takar

Bentuk : seperti terlihat pada *gambar 5*, pada dindingnya tercantum kode 'In' atau 'TC' = To Contain, terbuat dari gelas.

Volum : 20 ml sampai 2000 ml.

Kegunaan : untuk mengukur volume cairan yang tertentu atau untuk membuat larutan atau pengenceran larutan dengan kadar yang tepat.

Cara menggunakan :

Sebelum digunakan labu takar harus dibilas dengan air suling, kemudian dibilas dua kali dengan jenis cairan yang akan diisi ke dalam labu takar tersebut. Volum cairan tepat sama dengan yang tercantum pada dinding labu takar, bila meniskus cairan menyentuh tanda garis leher labu takar.

4. Gelas Ukur

Bentuk : berupa gelas yang agak tinggi dengan perincian/ukuran tercantum pada dinding. Terbuat dari kaca biasa atau plastik sehingga tidak dapat dipanaskan (*lihat gambar 6*).

Volum : 10 ml sampai 2 liter.

Kegunaan : untuk memindahkan atau mengukur volum cairan dengan ketelitian sedang. *Jangan digunakan untuk mengukur larutan/pelarut yang panas.*

5. Gelas Erlenmeyer

Bentuk : seperti terlihat pada *gambar 7*, terbuat dari kaca borosilikat yang tahan panas dengan dinding yang tipis untuk memudahkan pemindahan panas. Alat ini bukan merupakan alat pengukur.

Volum : 20 sampai 2000 ml, skala volum yang tercantum pada dinding gelas tidak teliti sama sekali dan merupakan petunjuk kasar saja.

Kegunaan : untuk mendidihkan larutan, sebagai tempat titrasi.

6. Gelas Beker/Gelas Piala

Bentuk : beker tinggi seperti terlihat pada *gambar 8.a*, beker rendah seperti terlihat pada *gambar 8.b*, terbuat dari kaca borosilikat yang tahan panas sampai suhu 200 °C dengan baik. Alat ini bukan merupakan alat pengukur.

Volum : 25 ml sampai 5 l, skala yang tercantum pada dinding merupakan petunjuk kasar.

Kegunaan : beker tinggi digunakan untuk titrasi dan pengukur pH dengan dikocok oleh pengaduk magnetis, sedang beker rendah untuk tempat larutan sampel atau tempat mengadakan reaksi. Dapat juga untuk memanaskan larutan zat-zat kimia.

7. Gelas Arloji

Kegunaan : tempat menimbang zat-zat yang berbentuk kristal dan mengeringkan larutan hingga kristal terbentuk (proses kristalisasi).

8. Tabung Reaksi

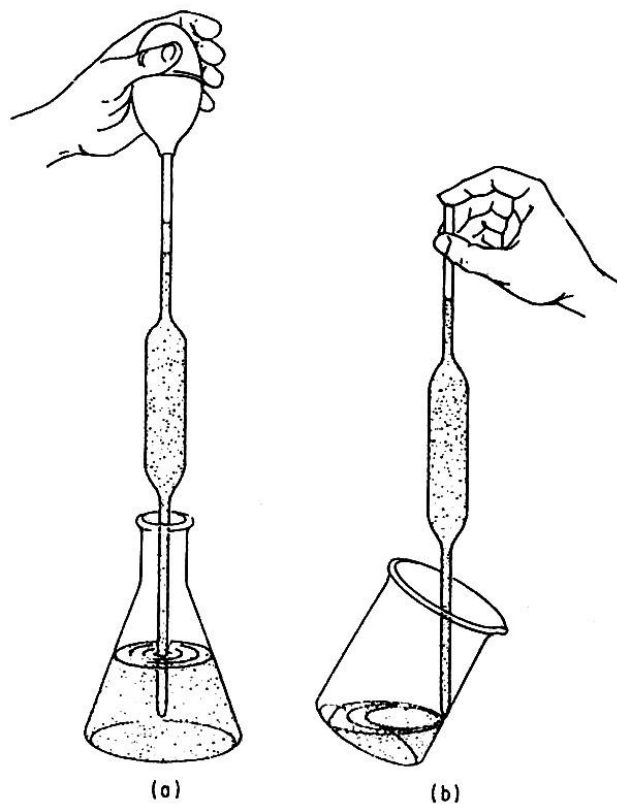
Bentuk : berupa suatu tabung agak tinggi dan tidak lebar, terbuat dari kaca atau kaca borosilikat yang tahan panasnya sterilisasi.

Volum : beberapa ml.

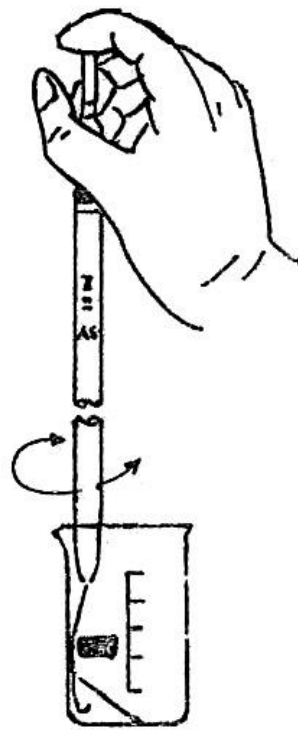
Kegunaan : untuk tempat reaksi zat-zat kimia dalam jumlah yang sedikit.

9. Penjepit

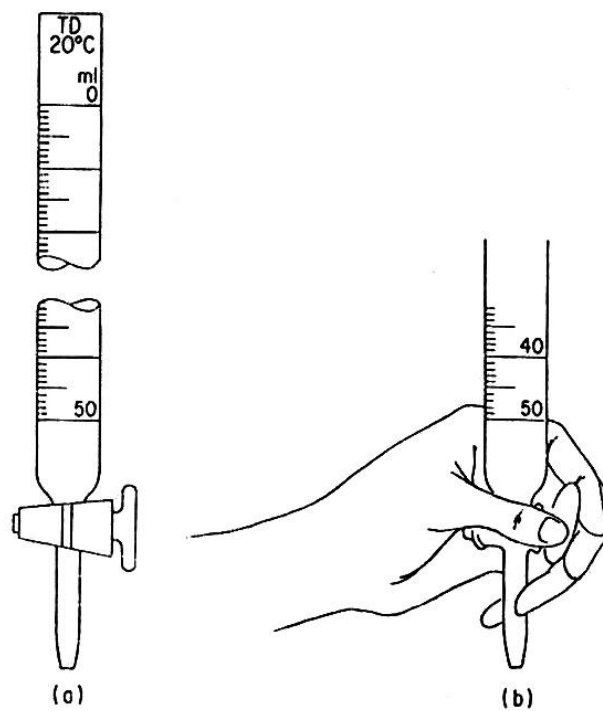
Terbuat dari kayu atau kawat. Gunanya untuk memegang tabung reaksi pada pemanasan.



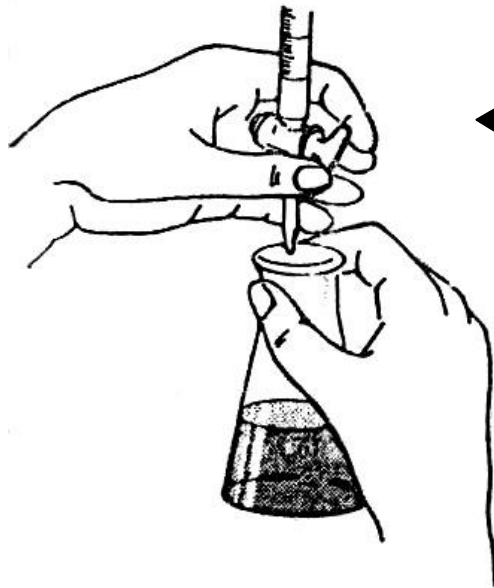
Gambar 1 (a) Pipet pengisi—cairan dihisap diatas tanda goresan, dan (b) penggunaan jari telunjuk untuk mengatur tinggi cairan di dalam pipet



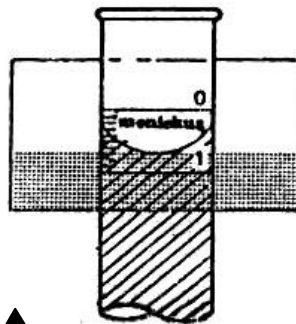
Gambar 2 Cara mengeluarkan cairan dari pipet



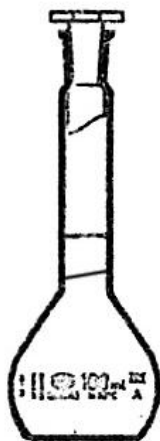
Gambar 3 (a) Buret dan (b) Cara memegang kran-tutup



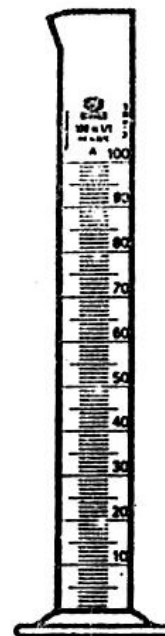
◀ **Gambar 4a** Cara menggerakkan kran buret. Cairan dalam gelas erlenmeyer atau beker terus diaduk



▲ **Gambar 4b** Cara pembacaan volum cairan di dalam sebuah tabung buret atau pipet; meniskus menunjukkan tingginya volum.



◀ **Gambar 5**
Labu takar (Fortuna W.G. Co.)



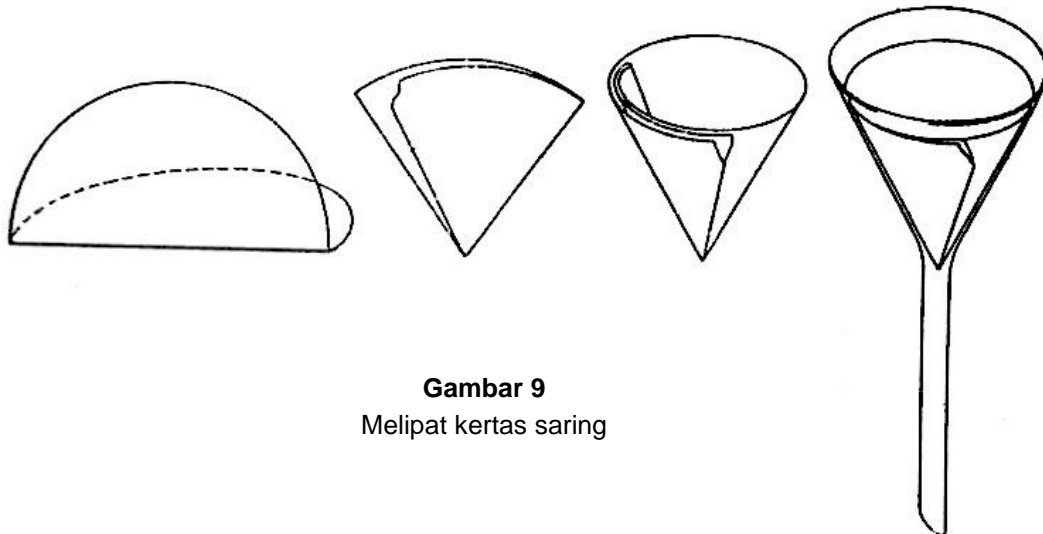
Gambar 6
Silinder (tabung ukur)
(Fortuna W.G. Co.)



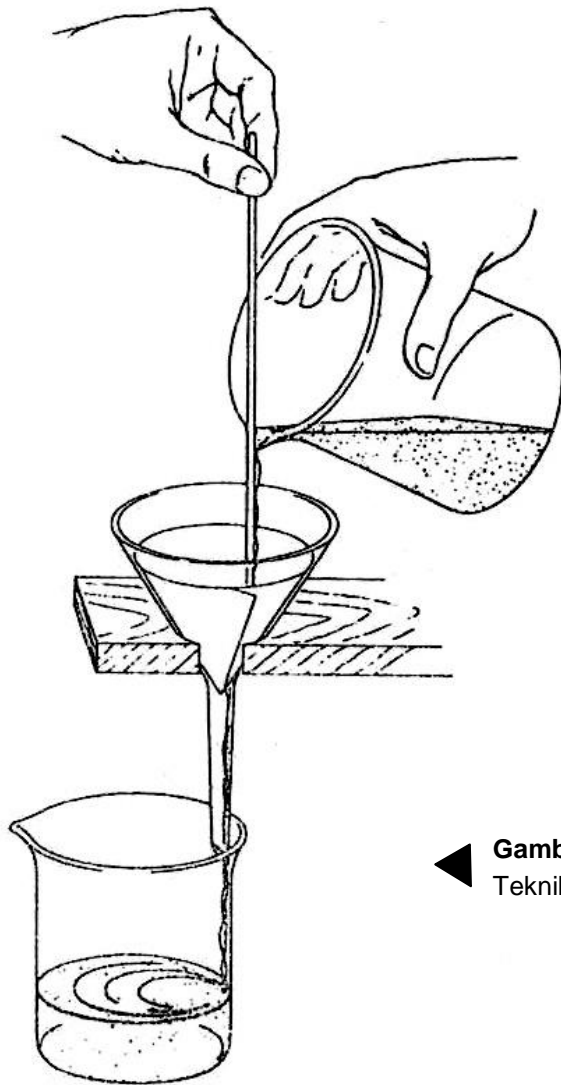
Gambar 7
Gelas erlenmeyer
(Schott & Gen)



Gambar 8
Beker (a) bentuk tinggi,
(b) bentuk rendah
(Schott & Gen)



Gambar 9
Melipat kertas saring



◀ **Gambar 10**
Teknik penyaringan dengan kertas saring

10. Pengaduk Gelas

Gunanya untuk mengaduk suatu campuran atau larutan zat-zat kimia pada waktu melakukan reaksi-reaksi kimia. Dipakai juga untuk menolong pada waktu menuangkan/mendekantir cairan dalam proses penyaringan.

11. Corong

Biasanya terbuat dari gelas. Gunanya untuk menolong pada waktu memasukkan cairan ke dalam suatu tempat yang sempit mulutnya, seperti botol, labu ukur, buret dan sebagainya.

2.2. Peralatan Instrumen

Beberapa tahun yang lalu, ahli kimia hanya menggunakan peralatan yang diuraikan diatas, plus neraca analitis, untuk hampir semua penetapan. Perubahan telah terjadi, sekarang jenis peralatan instrumen yang ada di laboratorium banyak sekali seperti, pH-meter, spektrofotometer

dan masih ada lagi instrumen rumit dan canggih. Pedoman penggunaan dan pemeliharaan perlu dikhususkan.

1. Timbangan

Selain dari timbangan yang biasa, juga ada timbangan elektrik dan elektronis yang pemakaiannya lebih sederhana dan cepat. Timbangan kasar digunakan untuk menimbang berat sampai 2 kg dengan pembagian skala 1 mg, sedang timbangan sangat teliti digunakan untuk menimbang berat sampai 200 mg dengan pembagian skala 0,1 mg.

2. Pemanas

Pemanas dapat berupa pemanas listrik atau pemanas gas. Suhu yang dapat dicapai tidak lebih dari 400 °C. Pemanas gas disebut pembakar bunsen, yang memerlukan statif untuk menempatkan bejana yang akan dipanaskan di atas api.

3. Oven

Ada bermacam-macam jenis dan ukuran oven. Oven pada umumnya digunakan untuk mengeringkan peralatan, lumpur, zat kimia dan sebagainya. Skala suhu adalah 50 °C sampai 180 °C, namun suhu yang sering digunakan adalah 105 °C. Karena di dalam oven udara yang panas naik, barang yang paling basah sebaiknya diletakkan di bagian teratas dari oven.

4. Inkubator

Inkubator adalah sejenis oven yang dapat menyediakan suhu antara 30 °C dan 70 °C secara tetap dan teratur, dengan penyimpangan suhu yang kecil. Inkubator digunakan untuk menumbuhkan koloni bakteri dan jamur pada analisa-analisa mikrobiologi. Ada juga inkubator BOD yang khusus digunakan untuk analisa BOD dengan suhu 20 °C dan penyimpangan ± 1 °C.

5. Spektrofotometer

Alat spektrofotometer menentukan absorbansi (daya penyerap) sebuah larutan terhadap sinar yang mempunyai warna tertentu. Dengan prinsip tersebut maka alat ini dapat digunakan untuk menentukan bermacam-macam ion logam, kation, detergen, kekeruhan dan zat organik terlarut.

2.3. Teknik Laboratorium

Untuk mengerti tentang alat-alat yang sudah diperkenalkan diatas, berikut akan diuraikan beberapa teknik/prosedur yang harus dilakukan dalam melakukan percobaan dalam laboratorium. Yang perlu diperhatikan adalah bagaimana cara penggunaan alat-alat tersebut dengan baik dan tepat.

1. Teknik Membau suatu Gas serta Pengenalan Kertas Lakmus

Gas NH_3 adalah gas yang mempunyai bau. Gas ini dapat dibuat dengan mereaksikan ammonium khlorida (NH_4Cl) dengan larutan sodium hidroksida (NaOH) dan dipanaskan dalam tabung reaksi.

Adanya gas ini dapat diketahui dari baunya, jadi kita dapat mengenalnya dengan jalan membau. Dalam membau jangan sekali-sekali mendekatkan hidung kita pada mulut tabung reaksi, lebih-lebih untuk gas yang berbahaya. Cara membau adalah dengan mengipas-ngipaskan tangan diatas mulut tabung reaksi dan hidung kita berada pada jarak yang relatif jauh berusaha membau gas yang keluar.

Kertas lakmus ada dua macam yaitu biru dan merah dipakai sebagai indikator/petunjuk apakah senyawa tersebut bersifat asam atau basa dengan melihat perubahan warnanya.

2. Teknik Pengenceran dengan Labu Ukur

Untuk membuat larutan standar kadang-kadang dilakukan dengan mengencerkan larutan yang sudah tersedia. Misalnya membuat larutan HCl 0,1 N dari larutan 0,2 N. Tentukan dulu berapa banyak larutan standar yang akan dibuat dan dihitung berapa banyak larutan asli yang harus diencerkan dari persamaan :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$
$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

Keterangan : V_1 = Volume larutan asli yang dipakai/diperlukan

N_1 = Normalitas larutan asli

V_2 = Volume larutan standar yang akan dibuat

N_2 = Normalitas larutan standar yang akan dibuat

Masukkan larutan asli ke dalam labu ukur dan encerkan sampai tanda batas. Pengenceran harus sekali jadi. Maksudnya jangan sampai menambahkan air lebih dari yang diperlukan lalu membuangnya sampai tanda batas, hal seperti ini akan menimbulkan kesalahan yang cukup besar. Oleh sebab itu pengenceran harus dilakukan dengan hati-hati, sedikit demi sedikit. Setelah dekat dengan tanda batas pada leher labu ukur, gunakan pipet untuk menambahkan setetes demi setetes.

3. Teknik Pengenceran Asam Sulfat (H_2SO_4) Pekat

Pengenceran yang lazim dilakukan adalah dengan jalan menambahkan pelarut ke dalam zat yang akan diencerkan. Untuk zat-zat yang menunjukkan reaksi eksotermis pada pengenceran seperti H_2SO_4 pekat, maka pengenceran dilakukan dengan sedikit berbeda yaitu dengan jalan menuangkan H_2SO_4 pekat sedikit demi sedikit ke dalam pelarut (air).

4. Teknik Penyaringan

Menyaring adalah cara untuk memisahkan suatu endapan dari suatu larutan. Batang corong hendaknya cukup menjorok ke dalam penampung filtrat dan ujung batang menempel pada dinding dalam tempat penampung untuk mencegah muncratnya filtrat. Semua pemindahan ke dalam corong hendaknya dilakukan dengan bantuan batang pengaduk, dan harus dijaga baik-baik agar larutan tidak tercecer setetespun. Filtrat harus diperiksa apakah ada kekeruhan, karena kadang-kadang sedikit endapan menembus kertas saring pada awal penyaringan. Namun endapan ini dapat ditangkap dengan menyaring ulang filtrat pada filter itu juga setelah pori-porinya agak tersumbat oleh endapan yang tertampung.

5. Titrasi

Titration adalah salah satu cara analisa yang sering dilakukan dalam analisa kuantitatif. Larutan yang diketahui normalitasnya disebut larutan standar. Biasanya dimasukkan dalam buret sebagai zat penitrasi (titran). Larutan yang akan ditentukan normalitasnya diletakkan dalam erlenmeyer dan disebut sebagai zat yang dititrasi. Titrasi dilakukan dengan membuka kran buret pelan-pelan. Titran akan masuk ke dalam erlenmeyer yang digoyang pelan-pelan juga. Titik akhir titrasi terjadi pada saat terjadi perubahan warna. Perubahan warna dapat dilihat dengan menggunakan zat penunjuk yang disebut indikator. Pada saat itulah gram ekuivalen dari titran sama dengan gram ekuivalen dari zat yang dititrasi. Dengan menggunakan persamaan pengenceran diatas dapat ditentukan normalitas dari zat yang dititrasi.

III. ALAT DAN BAHAN

3.1. Alat yang digunakan

- Buret
- Erlenmeyer
- Corong
- Labu takar
- Gelas ukur
- Gelas piala
- Lampu spiritus
- Pipet gondok
- Pipet tetes
- Pipet ukur
- Pengaduk
- Tabung reaksi

3.2. Bahan yang digunakan

- NH_4Cl
- NaOH 0,1 N
- HCl
- H_2SO_4
- Pb asetat
- Indikator pp
- Aquades
- Kertas lakmus
- Kertas saring

IV. CARA KERJA

4.1. Pembuatan Gas NH_3

- Ambil sedikit larutan NH_4Cl masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan sedikit larutan NaOH secukupnya.
- Peganglah tabung reaksi dengan penjepit, lalu panaskan sambil digoyang-goyangkan. Mulut tabung reaksi harus dicondongkan tetapi tidak boleh diarahkan pada diri sendiri atau kepada orang lain. Cari tempat yang kosong. Pada saat mendidih jagalah agar zat dalam tabung jangan sampai keluar dari mulut tabung (lebih-lebih untuk zat yang mudah terbakar). Caranya dengan mengangkat tabung dari atas api bila zat dalam tabung sudah mulai naik atau hampir keluar.
- Praktekkan cara membau. Catat bagaimana bau gas yang terjadi dan amati zat-zat sebelum dan sesudah reaksi. Peganglah kertas lakmus merah didekat mulut tabung reaksi. Amati perubahan warna dari kertas lakmus yang terjadi dan berikan kesimpulan.

4.2. Pengenceran HCl

- Buat larutan 100 ml HCl 0,1 N dari larutan HCl 0,2 N. Hitung kebutuhan larutan HCl 0,2 N dengan menggunakan rumus pengenceran :
- $V_1N_1 = V_2N_2$
- Masukkan HCl 0,2 N ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan (tambahkan pelarut air) sampai tanda batas.

4.3. Pengenceran H₂SO₄

- Ambil 5 ml air suling dengan menggunakan gelas ukur. Perhatikan bagian bawah dari meniskus air harus tepat menyinggung skala 5 ml. Pandangan mata harus tepat sejajar dengan tinggi meniskus air. Tuangkan ke dalam tabung reaksi.
- Tambahkan 3 ml H₂SO₄ pekat ke dalam tabung reaksi yang berisi air suling tadi. Ingat penuangan harus dilakukan dengan perlahan-lahan dan hati-hati. Perhatikan perubahan panas sebelum dan sesudah reaksi.

4.4. Penyaringan

- Masukkan 5 ml larutan Pb asetat dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan H₂SO₄ hasil pengenceran diatas. Amati endapan yang terjadi. Catat warna dari endapan.
- Ambil kertas saring yang berbentuk lingkaran dan lipat menjadi $\frac{1}{4}$ lingkaran, kemudian lipat lagi 2-3 kali lipatan.
- Masukkan kertas saring yang sudah dilipat pada corong dan basahi sedikit dengan air suling hingga melekat pada dinding gelasnya.
- Pasanglah corong yang berkertas saring itu diatas erlenmeyer untuk menampung filtrat.
- Tuangkan larutan yang akan di saring ke dalam erlenmeyer. Penuangan dibantu dengan memakai gelas pengaduk yaitu dengan memegangnya tepat pada mulut tabung reaksi/gelas piala yang digunakan. Hal ini dilakukan agar tidak ada cairan yang jatuh diluar kertas saring. Penuangan harus hati-hati sedikit demi sedikit.

4.5. Titrasi

- Cucilah buret dengan larutan pencuci. Bilaslah dengan larutan standar yang akan dipakai, yaitu NaOH 0,1 N.
- Isi buret dengan larutan standar sampai skala 0.
- Pakailah pipet gondok untuk mengambil 20 ml HCl 0,1 N yang dibuat dari pengenceran tadi. Masukkan HCl ini ke dalam erlenmeyer lalu tambahkan 3-4 tetes indikator phenolphthalein (pp).
- Buka kran buret, teteskan titran ke dalam erlenmeyer sambil digoyang-goyangkan perlahan-lahan.
- Titrasi dihentikan ketika penambahan setetes NaOH memberikan warna merah sangat muda yang tidak mau hilang pada penggoyangan.
- Pekerjaan diulang tiga kali (3x).
- Catat berapa ml larutan standar yang dipakai dengan melihat batas cairan dalam buret.
- Hitung normalitas larutan yang dititrasi.

SPEKTROFOTOMETRI

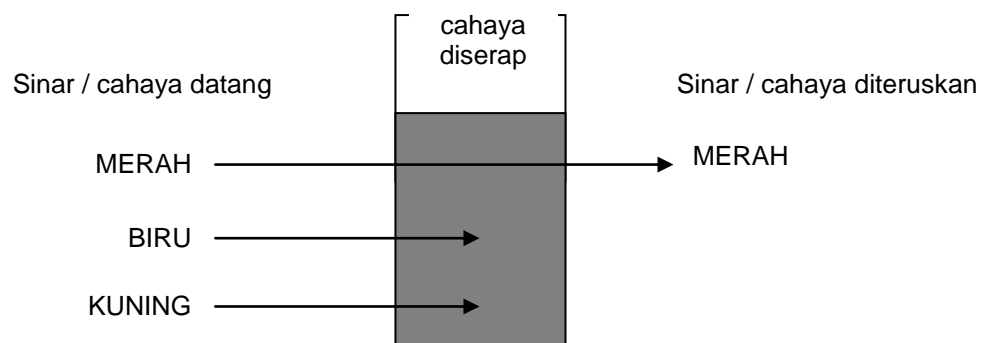
PENDAHULUAN

Teknik spektrofotometri telah lama digunakan sebagai suatu teknik yang handal untuk deteksi, identifikasi, dan pengukuran kadar senyawa kimia dalam suatu larutan.

Dasar :

1. Bahan kimia dapat menyerap dan menghantarkan cahaya.
2. Suatu larutan mempunyai warna tertentu karena larutan ini dapat menyerap semua warna kecuali warna yang dapat ditangkap oleh mata.

Contohnya suatu larutan berwarna merah, karena larutan itu menyerap cahaya pada daerah kuning-biru, sedangkan cahaya pada panjang gelombang warna merah akan diteruskan sehingga dengan mata tampak berwarna merah.



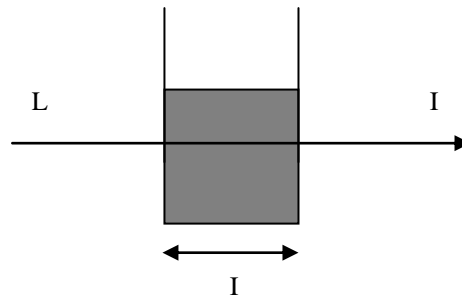
Spektrum cahaya yang dapat terlihat oleh mata terentang antara 400 nm sampai 800 nm. Pada teknik spektrofotometri, cahaya dari sumber cahaya diuraikan dengan menggunakan prisma sehingga diperoleh cahaya monokromatis yang diserap oleh zat yang akan diperiksa. Cahaya monokromatis merupakan cahaya satu warna dengan satu panjang gelombang, sehingga cahaya yang diserap oleh larutan berwarna dapat diukur.

Hubungan antara konsentrasi dengan cahaya yang diserap dinyatakan dalam hukum Beer-Lambert.

Hukum Beer-Lambert :

Pengurangan intensitas cahaya monokromatis yang melalui suatu larutan berwarna berlangsung secara eksponensial dan bergantung pada panjang larutan yang dilalui cahaya

dan kadar zat dalam larutan.



Hukum Beer-Lambert menghasilkan persamaan sebagai berikut :

$$\log \frac{I}{I_0} = -k c l$$

Keterangan :

- I₀ = intensitas cahaya masuk
- I = intensitas cahaya keluar
- k = konstanta yang didasarkan pada sifat-sifat zat dalam larutan
- c = konsentrasi zat tersebut
- l = panjang larutan yang dilalui cahaya

Perbandingan I/I₀ disebut sebagai **transmisi sinar** (T) dan dinyatakan dalam persen (%). Serapan (**absorbance**) = A atau disebut juga kerapatan optik (**optical density**) = OD, merupakan istilah yang sering digunakan dan berasal dari persamaan :

$$A = -\log T$$

$$A = k c l$$

Pada alat spektrofotometer yang lebih canggih, sinar yang datang benar-benar diusahakan berupa sinar monokromatis dengan cara membuat kontainer larutan (kuvet) yang sedemikian rupa, sehingga tidak ada sinar yang tertahan. Jika jalur sinar pada setiap bagian kuvet itu sama, maka nilai k untuk berbagai senyawa dalam berbagai larutan dan berbagai panjang gelombang dapat dihitung. Bila konsentrasi dinyatakan dengan mol per liter, jarak tempuh cahaya dalam cm, maka nilai k disebut sebagai koefisien ekstingsi molar (ε_m), yaitu serapan (**absorbancy**) 1 M suatu larutan dengan jarak tempuh cahaya 1 cm.

$$\varepsilon = \frac{\text{Ekstingsi}}{\text{Konsentrasi (molar)}}$$

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ adalah koefisien ekstingsi untuk larutan 1 % (1gr/100ml dengan 10 mg/ml) dan jarak tempuh cahaya 1 cm. Koefisien ekstingsi dapat dilihat pada tabel-tabel beberapa buku tertentu (a.l. Merck's Index).

Pada alat-alat yang tidak begitu canggih spektrum sinar yang melalui zat adalah lebih besar (sinar tidak terlalu monokromatis) misalnya Spectronic 20 Bausch – Lomb. Dalam memakai hukum Beer-Lambert pada alat-alat seperti ini maka nilai k diganti dengan k^1 sehingga :

$$A = k^1 c l$$

Bila kita melakukan beberapa pemeriksaan, maka nilai k^1 dan l adalah sama, sehingga persamaan menjadi :

$$\begin{aligned} A_1 &= k^1 c_1 l \\ A_2 &= k^1 c_2 l \\ A_1/A_2 &= c_1/c_2 \\ C_1 &= A_1/A_2 \times C_2 \end{aligned}$$

Bila c_2 kita ketahui kadarnya (sebagai standar), maka c_1 dapat kita tentukan kadarnya. Jadi dengan menentukan A pada setiap larutan dengan hanya menggunakan satu standar dapat kita tentukan kadar dari tabung-tabung lainnya. Dengan membuat serangkaian larutan standar, dapat juga dibuat suatu kurva kalibrasi standar. Dengan demikian, kadar bahan yang tidak diketahui dapat ditentukan dari kurva standar tersebut dengan menggunakan perhitungan regresi linier. Hal ini dilakukan dalam pengukuran sampel yang sangat banyak.

Pada penetapan kadar zat dalam darah atau urin akan terjadi pengenceran bahan-bahan yang diperiksa dengan berbagai pereaksi, sehingga dari persamaan di atas dapat dikembangkan persamaan berikut :

Untuk zat dalam darah/serum :

$$Cu (g / dL) = \frac{Au}{As} \times Cs \times \frac{Vu}{Vs} \times \frac{100}{ml \text{ serum yang dianalisa}}$$

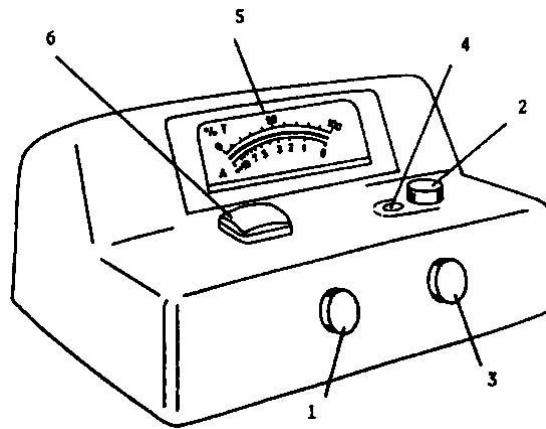
Untuk zat dalam urin :

$$Cu \text{ (g / urin 24 jam)} = \frac{Au}{As} \times Cs \times \frac{Vu}{Vs} \times \frac{\text{Volume urin 24 jam}}{\text{Volume urin yang dianalisa}}$$

Keterangan :

- Cu = kadar bahan yang akan ditentukan
- Cs = kadar standar
- Au = serapan bahan yang akan diperiksa
- As = serapan standar
- Vu = volume bahan yang diperiksa
- Vs = volume standar yang dipakai

Pada umumnya $Vu = \approx Vs$ sehingga Vu/Vs bisa dihilangkan.



Gambar 1.1 Spektrofotometer Spectronic-20

Keterangan gambar :

- 1 = tombol “on/off”
- 2 = tombol pengatur panjang gelombang
- 3 = tombol pengatur cahaya (A = 0, T = 100%)
- 4 = penunjuk panjang gelombang
- 5 = penunjuk serapan dan % *transmittance* (A dan %T)
- 6 = tempat sampel dengan tutup

Prosedur pemakaian Spectronic 20 Bausch-Lomb :

1. Putar tombol (1) (tombol yang disebelah kiri) ke kanan. Biarkan 15 menit untuk

- memanaskan alat. Atur tombol sampai menunjuk angka 0 pada petunjuk %T.
2. Putar tombol (2) (tombol yang ada disebelah atas alat) untuk memilih panjang gelombang, sesuai dengan panjang gelombang yang diinginkan.
 3. Masukkan kuvet yang berisi paling sedikit 3 ml aquadest ke dalam tempat sampel (sebelum memasukkan kuvet, pastikan bahwa kuvet dalam keadaan kering dengan mengeringkannya menggunakan kertas tisu). Tutup penutup tempat sampel.
 4. Putar tombol (3) (tombol yang terletak disebelah kanan) sehingga %T menunjuk angka 100 atau A menunjuk angka 0.
 5. Angkat kuvet yang berisi aquadest dari tempat sampel (6). Ganti isi kuvet dengan larutan blanko, baca serapannya.
 6. Ganti larutan blanko dalam kuvet dengan larutan standar atau larutan uji. Baca serapannya.

Hal-hal yang perlu diperhatikan selama pemeriksaan :

1. Pada tiap pemeriksaan jangan lupa menutup tempat kuvet.
2. Tabung kuvet yang akan dibaca harus dalam keadaan bersih.
3. Bila pada dinding tabung kuvet terdapat udara, hilangkan dengan menjentik-jentikkan tabung dengan jari.
4. Jangan sampai menumpahkan cairan yang diperiksa ke dalam lubang tempat kuvet atau pada alat.
5. Pastikan bahwa larutan yang akan diperiksa sudah tercampur dengan baik sebelum dilakukan pengukuran.
6. Pengukuran selalu dikerjakan dalam duplo.
7. Untuk penetapan pada panjang gelombang yang berbeda pada tiap panjang gelombang (λ) alat harus ditera dengan aquadest. (A harus menunjuk angka 0 atau 100% T).

KARBOHIDRAT

I. TUJUAN

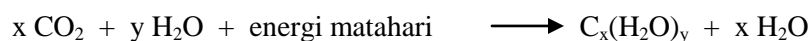
1. Mahasiswa mengetahui sifat umum dan sifat khusus karbohidrat.
2. Mahasiswa dapat melakukan uji kualitatif terhadap karbohidrat.

II. LANDASAN TEORI

Karbohidrat adalah sumber energi dan kalori utama bagi manusia. Meskipun jumlah kalori yang dihasilkan 1 gram karbohidrat hanya 4 Kal (kkal). Bila dibanding protein dan lemak, karbohidrat merupakan sumber kalori yang murah.

Dalam tubuh karbohidrat berguna untuk mencegah timbulnya ketosis, pemecahan protein tubuh yang berlebihan, kehilangan mineral dan membantu metabolisme lemak dan protein. Dalam tubuh manusia karbohidrat dapat dibentuk dari beberapa asam amino dan sebagian dari gliserol lemak. Tetapi sebagian besar karbohidrat diperoleh dari bahan makanan sehari-hari, terutama bahan makanan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan.

Karbohidrat diperoleh dari sintesa tumbuh-tumbuhan yang berwarna hijau melalui proses yang disebut fotosintesa. Proses ini dibentuk dari CO_2 dan H_2O dengan bantuan energi matahari dan persamaan reaksi kimianya sebagai berikut :



Berdasarkan strukturnya, karbohidrat didefinisikan sebagai senyawa yang terdiri dari atau dapat dihidrolisa menjadi polihidroksi aldehyd atau polihidroksi keton dan mempunyai rumus umum $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_m$.

2.1. Jenis Karbohidrat

Pada umumnya karbohidrat dapat dikelompokkan menjadi monosakarida, oligosakarida, serta polisakarida.

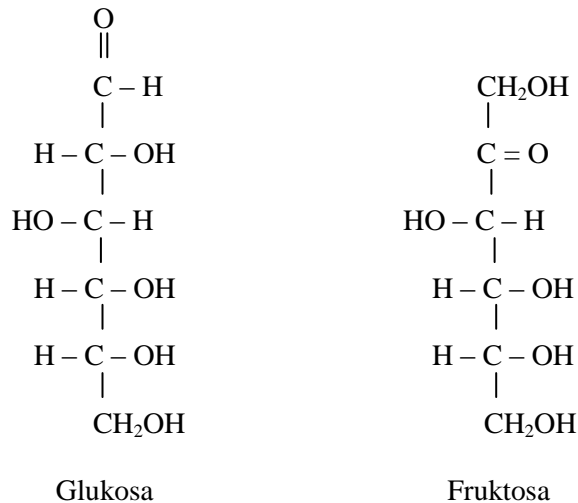
a. Monosakarida

Karbohidrat sederhana yang dikenal sebagai monosakarida atau manosa adalah karbohidrat yang molekulnya paling sederhana dibandingkan molekul karbohidrat yang lain. Molekul monosakarida yang kecil ini tidak dapat diperkecil lagi dengan cara hidrolisa. Walaupun molekul monosakarida dapat diperkecil dengan cara lain, maka sifat karbohidrat dari monosakarida tersebut akan hilang. Karena monosakarida memiliki rasa manis dan bentuk yang paling sederhana, maka senyawa ini dikenal sebagai “gula sederhana”, contoh : glukosa dan fruktosa.

Monosakarida adalah suatu persenyawaan yang netral dan mudah larut dalam air. Kelarutannya dalam alkohol kecil sekali dan dalam eter sama sekali tidak larut.

Struktur dan Sifat-Sifat Monosakarida

Struktur monosakarida mudah dipelajari dengan menggunakan glukosa dan fruktosa sebagai dasar. Senyawa-senyawa tersebut memiliki rumus molekul yang sama yaitu $C_6H_{12}O_6$ tetapi memiliki struktur yang berbeda.



Struktur ini menunjukkan bahwa glukosa mempunyai sifat ganda sebagai aldehyd dan alkohol sehingga dikenal sebagai aldehydo-alkohol, sedang fruktosa mempunyai sifat sebagai keton dan alkohol sehingga dikenal sebagai keto-alkohol. Monosakarida yang mempunyai gugus aldehyd dinamakan aldosa, sedang yang mempunyai gugus keton dinamakan ketosa. Berdasarkan jumlah atom karbon yang terkandung dalam molekul monosakarida, maka dibedakan menjadi triosa, tetrosa, pentosa dan seterusnya.

Sifat-sifat monosakarida :

1. Reaksi Oksidasi – Reduksi

Karena aldosa memiliki gugus aldehyd maka dapat mengalami oksidasi dan reduksi, sedang ketosa yang memiliki gugus keton hanya mengalami reduksi. Oksidasi aldosa menghasilkan asam sedangkan reduksi aldosa dan ketosa menghasilkan polihidroksi alkohol. Oksidator yang sering digunakan untuk menunjukkan sifat oksidasi aldosa adalah larutan perak beramoniak (pereaksi tollens) atau larutan fehling, sehingga pereaksi-pereaksi ini sering digunakan untuk mengidentifikasi karbohidrat.

2. Reaksi dengan Alkali kuat

Pada penambahan alkali kuat, aldosa dapat membentuk damar, sedang keton tidak.

3. Reaksi dengan Fenilhidrazin

Osazon adalah senyawa berwarna kuning yang terbentuk bila kita memanaskan monosakarida dan disakarida pereduksi tertentu dengan fenilhidrazin. Bentuk kristalnya dapat dilihat dengan mikroskop dan untuk beberapa macam gula berbeda bentuknya. Reaksi ini dapat dipergunakan untuk membedakan bermacam-macam gula pereduksi dengan cara melihat bentuk kristal asazonnya.

4. Reaksi Dehidrasi

Pentosa mempunyai sifat khusus yaitu mudah mengalami dehidrasi dan membentuk furfural pada pemanasan dengan asam klorida.

b. Oligosakarida

Oligosakarida terdiri dari dua atau lebih monosakarida yang bergabung menjadi satu dengan ikatan glukosida. Karena pengaruh asam dapat mengalami hidrolisa menjadi bentuk-bentuk monosakarida penyusunnya. Bila oligosakarida merupakan gabungan dari dua molekul monosakarida dinamakan disakarida dan bila tersusun atas tiga molekul monosakarida disebut trisakarida dan seterusnya.

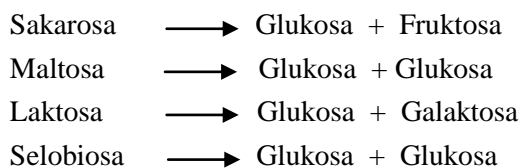
Sifat-sifat disakarida :

1. Reaksi oksidasi

Sakarosa, maltosa dan disakarida yang lain tidak memiliki gugus aldehid, tetapi beberapa disakarida dapat mereduksi larutan fehling atau larutan perak beramoniak. Suatu disakarida dapat berfungsi sebagai pereduksi apabila didalamnya terdapat gugus OH pada atom C yang diikat oleh atom O dalam ikatan glukosida. Dengan demikian sakarosa tidak dapat mereduksi larutan fehling, sedang maltosa akan memberikan hasil positif dengan larutan tersebut.

2. Reaksi Hidrolisa

Karena pengaruh asam, disakarida akan mengalami hidrolisa menjadi bentuk-bentuk monosakarida.



c. Polisakarida

Polisakarida atau poliosa adalah karbohidrat majemuk yang mempunyai susunan kompleks dengan berat molekul yang besar serta merupakan polimer dari monosakarida. Senyawa ini merupakan gabungan dari banyak molekul monosakarida dengan ikatan glukosakarida. Senyawa-senyawa yang termasuk dalam golongan polisakarida antara lain : pati, dekstrin dan selulosa. Secara umum dirumuskan $(C_6H_{10}O_5)_n$.

Sifat-sifat umum polisakarida : tidak menunjukkan mutarotasi, tidak dapat mereduksi, tidak dapat membentuk osazon dan relatif stabil terhadap pengaruh alkali.

2.2. Analisis Sakarida

Berdasarkan sifat-sifat sakarida dan reaksi-reaksi kimia yang spesifik, karbohidrat dapat dianalisa secara kualitatif dan kuantitatif.

Analisis Kualitatif

Karbohidrat dengan zat tertentu akan menghasilkan warna tertentu yang dapat digunakan untuk analisis kualitatif. Bila karbohidrat direaksikan dengan larutan naftol dalam alkohol, kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat secara hati-hati, pada batas cairan akan terbentuk furfural yang berwarna ungu. Reaksi ini disebut reaksi Molisch dan merupakan reaksi umum bagi karbohidrat.

Uji Antron

Sebanyak 0,2 ml larutan contoh di dalam tabung reaksi ditambahkan ke dalam larutan antron (0,2% dalam H₂SO₄). Timbul warna hijau atau hijau kebiruan menandakan adanya karbohidrat dalam larutan contoh. Uji ini sangat sensitif sehingga juga dapat memberikan hasil positif jika dilakukan pada kertas saring yang mengandung selulosa. Uji antron ini telah dikembangkan untuk uji kuantitatif secara colorimetric bagi glikogen, inulin dan gula dalam darah.

Inulin

Pereaksi terdiri dari kupri asetat dan asam asetat. Kedalam 5 ml pereaksi dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml larutan contoh, kemudian tabung reaksi ditempatkan dalam air mendidih selama 1 menit. Endapan berwarna merah oranye menunjukkan monosakarida dalam contoh.

Uji Benedict

Pereaksi terdiri dari kupri sulfat, natrium sitrat, dan natrium karbonat. Ke dalam 5 ml pereaksi dalam tabung reaksi tambahkan 8 tetes larutan contoh, kemudian tabung reaksi ditempatkan dalam air mendidih selama 5 menit. Timbulnya endapan warna hijau, kuning atau merah oranye menunjukkan adanya gula pereduksi dalam contoh.

Uji Orsinol Bial-HCl

Ke dalam 5 ml pereaksi ditambahkan 2-3 ml larutan contoh, kemudian dipanaskan sampai timbul gelembung-gelembung gas ke permukaan larutan. Timbulnya endapan dan larutan berwarna hijau menandakan adanya pentosa dalam contoh.

Uji Hayati

Pereaksi terdiri dari garam Rochelle atau kalium natrium tartrat, gliserol, dan kupri sulfat. Uji dan tanda-tanda dilakukan sama seperti uji benedict.

Uji Iodin

Larutan contoh diasamkan dengan HCl. Sementara itu dibuat larutan iodin dalam larutan KI. Larutan contoh sebanyak satu tetes ditambahkan ke dalam larutan iodin. Timbulnya warna biru menunjukkan adanya pati dalam contoh, sedangkan warna merah menunjukkan adanya glikogen atau eritrodekstrin.

Uji Molisch

Ke dalam 2 ml larutan contoh dalam tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi α -naftol 10% (baru dibuat dan dikocok). Secara hati-hati 2 ml H_2SO_4 pekat ditambahkan ke dalam tabung reaksi tadi sehingga timbul dua lapisan cairan dalam tabung reaksi di mana larutan contoh akan berada pada lapisan atas. Cincin berwarna merah ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya karbohidrat pada contoh.

Uji Seliwanoff

Pereaksi dibuat segera sebelum uji dimulai. Pereaksi ini dibuat dengan mencampurkan 3,5 ml resorsinol 0,5 % dengan 12 ml HCl pekat, kemudian diencerkan menjadi 35 ml dengan air suling. Uji dilakukan dengan menambahkan 1 ml larutan contoh ke dalam 5 ml pereaksi, kemudian ditempatkan dalam air mendidih selama 10 menit. Warna merah cherry menunjukkan adanya fruktosa dalam contoh.

Uji Tauber

Sebanyak 2 tetes larutan contoh ditambahkan ke dalam 1 ml larutan benzidina, dididihkan dan dinginkan cepat-cepat. Timbulnya warna ungu menunjukkan adanya pentosa.

Analisis Kuantitatif

Karbohidrat mempunyai sifat dapat memutar bidang cahaya terpolarisasi ke kanan (+) atau ke kiri (-), dan setiap gula mempunyai sudut putaran khas yang berbeda-beda. Misalnya sukrosa $+66,5^\circ$ dan glukosa $+90^\circ$. Sifat ini dipakai untuk analisa kuantitatif dengan menggunakan polarimeter.

III. ALAT DAN BAHAN**3.1. Alat yang digunakan**

- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Gelas piala
- Lampu spiritus
- Pipet tetes
- Pengaduk
- Penangas air

3.2. Bahan yang digunakan

- Sampel karbohidrat
- Larutan Iodine
- Etanol 25 %
- Fehling A/B
- HCl pekat
- NaOH 10 %
- NaOH 3 M
- $AgNO_3$ 5 %
- NH_4OH 2 %
- H_2SO_4 pekat
- HNO_3 pekat
- Pereaksi Molish
- Pereaksi Benedict
- Resorsinol 0,5 %
- Aquades
- Kertas lakmus
- Kertas saring

IV. CARA KERJA

4.1. Uji Kelarutan

- Siapkan tujuh tabung reaksi, masukkan berturut-turut glukosa, galaktosa, laktosa, sukrosa, kanji, madu dan sirup. Catat warna dan bentuk dari fisik karbohidrat tersebut.
- Tambahkan 10 ml aquades ke dalam setiap tabung reaksi, selanjutnya tutup dengan ibu jari dan gojog dengan baik. Bandingkan kelarutan masing-masing karbohidrat dan catat dalam lembar pengamatan.
- Untuk membuktikan apakah kanji membentuk larutan atau suspensi, saring seperempat bagian cairan menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dan seperempat cairan yang tidak disaring diberi 2 tetes larutan iodine. Jika kanji larut, maka keduanya nampak sama. Iodine dan kanji memberi warna ungu.
- Ulangi langkah diatas, namun karbohidrat dilarutkan dalam etanol 25 %.

4.2. Uji Fehling (Sifat Mereduksi)

- Siapkan tujuh tabung reaksi, berturut turut diisi 1 ml larutan glukosa, galaktosa, laktosa, sukrosa, kanji, madu dan sirup yang mempunyai konsentrasi 2 %.
- Kemudian masing-masing tabung reaksi diisi 2,5 ml fehling A dan B, selanjutnya digojog.
- Tempatkan tabung reaksi tersebut dalam penangas air mendidih selama 10 menit, kemudian amati dan catat pada lembar pengamatan.
- Uji positif jika terbentuk endapan merah bata.

4.3. Uji Molish (Tes Umum Karbohidrat)

- Masukkan 3 ml glukosa 2 % ke dalam tabung reaksi.
- Tambahkan 2 tetes pereaksi molish (10 % α -naftol dalam alkohol) dan gojog beberapa kali.
- Miringkan tabung reaksi tersebut, dan tuangkan dengan hati-hati 3 ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi sampai membentuk suatu lapisan pada bagian bawah.
- Amati warna pada bidang batas antara asam dan larutan air. Uji positif jika terbentuk cincin berwarna ungu pada bidang batas tersebut.
- Ulangi pengujian ini terhadap larutan galaktosa, laktosa, sukrosa, amilum, madu, sirup dan potongan kertas saring.

4.4. Uji Benedict (Tes Karbohidrat Pereduksi)

- Masukkan 1 ml larutan glukosa 2 % ke dalam tabung reaksi.
- Tambahkan 1 ml pereduksi benedict dan gojog berulang kali.
- Panaskan beberapa saat, maka akan terjadi perubahan warna.
- Amati dengan teliti dan catat pada lembar pengamatan
- Reaksi positif jika terbentuk endapan merah bata.
- Ulangi pengujian ini terhadap galaktosa, laktosa, sukrosa, amilum, madu dan sirup.

4.5. Uji Tollens

- Cuci tabung reaksi yang sudah bersih dengan larutan NaOH 3 M kemudian bilas dengan air.
- Masukkan ke dalam tabung reaksi tersebut 20 tetes AgNO₃ 5 %, tambahkan 1 tetes NaOH 3 M, kemudian tambahkan tetes demi tetes NH₄OH 2 % sampai endapan yang terbentuk larut sempurna (pereaksi tollens).
- Campurkan sama banyak larutan glukosa dengan pereaksi tollens dalam tabung reaksi.
- Gojog beberapa kali dan panaskan.
- Reaksi positif jika terbentuk lapisan tipis menyerupai cermin pada bagian bawah tabung reaksi. Cermin ini akan hilang jika diberi HNO₃ pekat.
- Ulangi pengujian ini terhadap larutan galaktosa, laktosa, sukrosa, amilum, madu dan sirup.

4.6. Uji Seliwanorf

- Siapkan dua buah tabung reaksi, berturut-turut diisi 1 ml larutan glukosa dan fruktosa.
- Tambahkan 5 ml pereaksi seliwanorf (dibuat dengan cara menambahkan 3,5 ml recolsinol 0,5 % ke dalam 12 ml HCl pekat dan encerkan dengan aquades sampai volume 35 ml) ke dalam masing-masing tabung reaksi tersebut.
- Gojog beberapa kali dan panaskan dalam penangas air mendidih selama 10 menit.
- Amati perubahan yang terjadi.
- Reaksi positif jika terbentuk warna merah.

4.7. Uji Iodin

- Siapkan 2 buah tabung reaksi, berturut-turut diisi 1 ml larutan glukosa dan 1 ml larutan amilum.
- Kemudian larutan diasamkan dengan HCl.
- Tambahkan 1 tetes campuran ini ke dalam larutan iodin.
- Amati dan catat perubahan yang terjadi.
- Pembentukan warna biru menunjukkan adanya pati dan warna merah menunjukkan adanya glikogen atau erithrodekstrin.

PROTEIN

I. TUJUAN

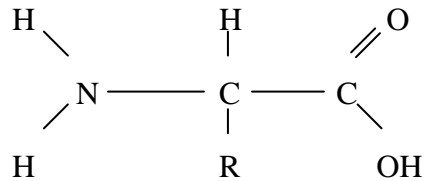
1. Mahasiswa mengetahui sifat umum dan sifat khusus protein.
2. Mahasiswa dapat melakukan uji kualitatif terhadap protein.

II. LANDASAN TEORI

Protein adalah senyawa organik yang molekulnya sangat besar dan susunannya sangat kompleks serta merupakan polimer dari alfa asam-asam amino. Karena protein tersusun atas asam-asam amino, maka dalam protein selalu terdapat unsur-unsur C, H, N, O dan kadang-kadang mengandung unsur yang lain, seperti S, P, Fe atau Mg.

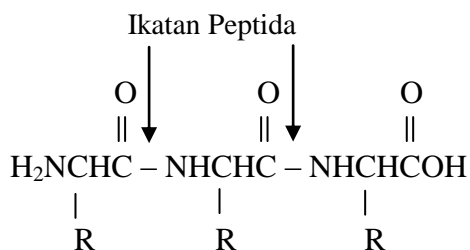
Fungsi utama protein bagi tubuh adalah untuk membentuk jaringan baru dan mempertahankan jaringan yang telah ada. Protein dapat juga digunakan sebagai bahan bakar apabila keperluan energi tubuh tidak terpenuhi oleh karbohidrat dan lemak.

Bila protein dihidrolisa dengan asam, alkali, atau enzim, akan dihasilkan campuran asam-asam amino. Sebuah asam amino terdiri dari sebuah gugus amino, sebuah gugus karboksil, sebuah atom hidrogen, dan gugus R yang terikat pada sebuah atom C yang dikenal sebagai karbon α , serta gugus R merupakan rantai cabang.



Gugus amino Rantai Cabang Gugus karbonil

Asam-asam amino dalam membentuk protein terikat satu sama lain dengan ikatan amida. Ikatan amida ini disebut ikatan peptida yang dibentuk oleh gugus α -amino dari suatu asam amino dan gugusan karboksil dari asam amino lainnya.



Suatu tripeptida

2.1. Sifat-Sifat Protein

- Protein murni tidak berbau dan tidak berwarna, tetapi apabila protein tersebut dipanaskan, warnanya akan berubah menjadi coklat dan baunya seperti bau bulu atau bau rambut terbakar. Misalnya, keratin adalah protein yang mengandung asam amino sistein, apabila dibakar mempunyai bau yang sangat tidak enak.
- Protein terdapat dalam bentuk amorf, hanya sedikit protein yang berbentuk kristal. Protein nabati lebih mudah membentuk kristal dibandingkan protein hewani. Protein hewani seperti hemoglobin mudah membentuk kristal, albumin dan ovalbumin sukar membentuk kristal.
- Viskositas larutan protein dipengaruhi oleh jenis protein dan konsentrasi. Pada konsentrasi yang sama larutan protein fibrosa mempunyai viskositas lebih tinggi dibandingkan globular. Protein dengan molekul besar mempunyai viskositas lebih tinggi dibandingkan protein dengan molekul kecil. Viskositas protein paling rendah pada pH isoelektris.
- Kelarutan protein dalam aquades mempunyai banyak variasi, misal ada yang larut dalam segala perbandingan, ada yang kelarutannya kecil dan ada yang tidak larut sama sekali.
- Sebagian besar protein bersifat sebagai koloidal hidrofil sehingga dapat diendapkan, tetapi sukar dipisahkan dan dimurnikan.
- Protein dapat dihidrolisa
Schutzenberger menghidrolisa protein dengan cara memanaskan protein dengan air berat, sehingga dihasilkan garam barium dari berbagai jenis asam amino.
Emil Fisher melakukan hidrolisa protein dengan larutan HCl atau asam sulfat yang dipanaskan. Hasil hidrolisa protein antara lain, asam amino asetat (glisin), asam alpha amino propionat (alanin), asam alpha amino iso valerat (valin) dan lain-lain.

2.2. Reaksi Kimia

a. Reaksi Biuret

Reaksi biuret digunakan untuk menunjukkan besar kecilnya molekul protein atau banyak sedikitnya ikatan-ikatan peptida yang terdapat dalam molekul protein. Warna merah muda atau merah jambu terbentuk apabila molekul protein yang dianalisa kecil, misal proteosa dan pepton. Warna violet sampai kebiru-biruan terbentuk apabila molekul protein yang diselidiki besar, misal gelatin. Protein dengan molekul kecil lebih sedikit mengandung ikatan-ikatan peptida dibandingkan protein dengan molekul besar.

b. Reaksi Ninhidrin

Reaksi ninhidrin dipakai untuk penentuan kuantitatif asam amino. Zat pengoksidasi ninhidrin dengan larutan protein membentuk warna ungu sampai biru. Reaksi akan berjalan sempurna pada pemanasan dengan pH antara 5 – 7. Prolina dan hidroksi prolin yang gugus aminonya tersubstitusi akan terbentuk warna kuning.

c. Reaksi Xantoprotein

Protein yang mempunyai residu penyusun tyrosin atau fenilalanin, pada penambahan asam nitrat pekat mula-mula terbentuk gumpalan berwarna putih. Pada pemanasan gumpalan putih akan berubah menjadi kuning, yang akhirnya menjadi jingga apabila

ditambah dengan alkali. Proses ini adalah proses nitrasi inti benzena dari asam amino penyusun protein.

d. Reaksi Hopkins-Cole

Asam glioksilat dan asam sulfat pekat dengan larutan protein yang mempunyai unit penyusun triptofan, akan membentuk larutan berwarna violet. Gelatin dan protein-protein lain yang tidak mempunyai asam amino triptofan dengan reaksi Hopkins-Cole ini tidak dapat memberi warna violet pada penggojogan. Adanya klorat, nitrat atau nitrit dapat mengganggu jalannya reaksi ini.

e. Reaksi Millon

Reaksi ini khusus untuk protein yang mempunyai asam amino tyrosin. Larutan protein apabila ditambah pereaksi Millon (larutan merkuro dan merkuri nitrat), mula-mula terbentuk gumpalan berwarna putih yang segera berubah menjadi merah pada pemanasan.

f. Reaksi Molisch

Larutan protein yang mempunyai radikal prostetik karbohidrat (glycoprotein atau mukoprotein), pada penggojogan secara hati-hati dengan \square Naftol dalam alkohol dan asam sulfat akan timbul cincin berwarna ungu diantara dua lapisan. Pada proses ini glycoprotein atau mukoprotein akan mengalami hidrolisa menjadi protein sederhana dan karbohidrat.

g. Reaksi Sullivan

Larutan protein yang mempunyai asam amino sistein, dengan pereaksi Sullivan (Natrium-1,2-naftoquinon-4-sulfonat dan Natrium hidrosulfid) dapat membentuk warna merah. Intensitas warna yang terbentuk tergantung dari banyak sedikitnya asam amino sistein. Selain dengan pereaksi Sulifan, warna merah dari protein yang demikian dapat juga terjadi apabila protein tersebut ditambah larutan Natrium nitroprusid dalam ammonium hidroksida.

h. Reaksi Sakaguchi

Asam amino arginin dengan larutan \square Naftol dalam natrium hipoklorid akan membentuk warna merah yang intensif. Beberapa senyawa organik lain yang mempunyai gugusan guanida bebas memberikan hasil yang sama bila dilakukan uji ini. Asam amino arginin dengan kadar 0,0004 mg per ml dengan uji seperti ini masih dapat menunjukkan warna merah.

i. Reaksi Adam Kiewics

Larutan protein yang mengandung triptopan ditambah asam asetat glasial dan asam sulfat pekat, akan terjadi cincin yang berwarna violet diantara lapisan asam dan air. Uji ini menunjukkan terjadinya asam glioksilat.

j. Uji belerang

Protein yang mengandung sistein dan sistin bila dipanaskan dengan larutan natrium hidroksida akan terurai menjadi sulfida. Penambahan larutan garam timbal akan memberikan endapan dari timbal sulfida.

III. ALAT DAN BAHAN**3.1. Alat yang digunakan**

- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Gelas piala
- Lampu spiritus
- Pipet tetes
- Pengaduk
- Penangas air

3.2. Bahan yang digunakan

- Sampel protein
- NaOH 10 %
- NaOH 40 %
- CuSO₄ 0,5 %
- Ninhidrin 0,2 %
- Larutan ferri klorida
- Larutan cupri sulfat
- Larutan merkuri klorida
- Larutan plumbo asetat
- HNO₃ pekat
- H₂SO₄ pekat
- Asam asetat glasial
- Pereaksi Molish

IV. CARA KERJA**4.1. Larutan Asam Amino dan Protein**

- Pecahkan sebutir telur, ambil bagian putihnya dan masukkan ke dalam gelas beaker 500 ml. Tambahkan aquades 300 ml aduk sebentar. Saringlah larutan ini melalui sehelai kain putih yang bersih.
- Bandingkan wujud larutan putih telur dengan 20 ml larutan gelatin 1 %, 10 ml alanin 1 %, dan 10 ml larutan asam glutamat 1 %.
- Amati wujud dispersi protein dan larutan asam amino tersebut.

4.2. Uji Biuret

- Campurkan 2 ml albumin telur dengan 2 ml NaOH 10 % dalam tabung reaksi.
- Tambahkan dengan tepat 2 tetes larutan CuSO₄ 0,5 % dan aduk sempurna.
- Reaksi positif jika terbentuk warna merah muda atau ungu.
- Ulangi langkah kerja ini terhadap gelatin, alanin dan asam glutamat.

4.3. Uji Ninhidrin

- Siapkan lima tabung reaksi yang bersih. Masukkan 1 ml larutan putih telur, gelatin, alanin, asam glutamat dan susu encer ke dalam tabung reaksi.
- Tambahkan 1 ml larutan ninhidrin 0,2 % ke dalam masing-masing tabung reaksi tersebut, kemudian kocok (kalau perlu panaskan dalam penangas air) dan amati warna yang timbul.
- Bandingkan hasil yang diperoleh dan catat pada lembar pengamatan.

4.4. Percobaan Hehler

- Larutan protein encer, masukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan beberapa tetes asam nitrat pekat.

- Amati warna dan lapisan yang terbentuk. Pembentukan lapisan berwarna putih menunjukkan bahwa protein telah terdenaturasi karena pengaruh asam mineral pekat.

4.5. Uji Xanthoprotein

- Masukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih 2 ml larutan protein.
- Tambahkan masing-masing dengan 1 ml asam nitrat pekat, kemudian tempatkan kedua tabung reaksi dalam penangas air.
- Amati warna yang timbul, kemudian amati juga warnanya jika ditambahkan amonia.

4.6. Uji Molish

- Masukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih 2 ml larutan protein.
- Tambahkan 2 ml pereaksi molish ke dalam masing-masing tabung diatas dan kocok hingga sempurna.
- Kemudian ke dalam tiap-tiap tabung tersebut masukkan asam sulfat pekat dengan cara mengalirkan melewati dinding tabung reaksi.
- Amati baik-baik. Bila protein yang saudara selidiki mengandung karbohidrat sebagai radikal protetis, akan terbentuk cincin berwarna ungu.

4.7. Uji Sulfida

- Sediakan tabung reaksi dan isilah dengan 2 ml larutan protein dan tambahkan dengan volume yang sama larutan sodium hidroksida 40%.
- Tempatkan tabung reaksi dalam penangas air mendidih selama satu menit untuk merubah s-organik menjadi sodium sulfida.
- Kemudian tambahkan beberapa tetes larutan plumbo asetat. Jika protein yang dianalisa mengandung sulfur, maka terbentuk endapan berwarna hitam.

4.8. Uji Adam Kiewic

- Masukkan ke dalam sebuah tabung reaksi yang bersih 2 ml larutan protein.
- Tambahkan 2 ml asam asetat glasial dan beberapa tetes asam sulfat pekat.
- Amati dan catat perubahan yang terjadi.

LEMAK

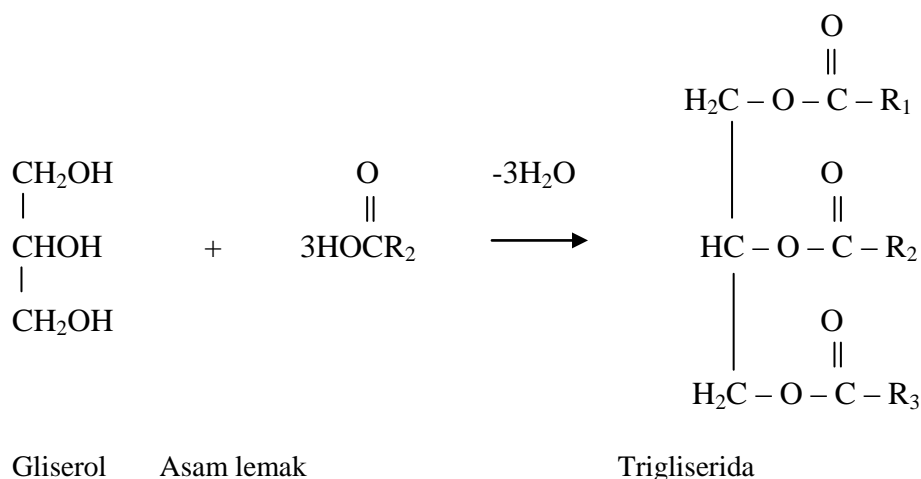
I. TUJUAN

1. Mahasiswa mengetahui sifat umum dan sifat khusus lemak.
2. Mahasiswa dapat melakukan uji kualitatif terhadap lemak.

II. LANDASAN TEORI

Lemak adalah senyawa yang tidak larut dalam air yang dapat dipisahkan dari sel dan jaringan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut organik yang non polar, misalnya dietil eter atau kloroform. Oleh sebab itu, senyawa ini dibagi menurut sifat fisiknya yaitu senyawa yang larut dalam pelarut non polar dan yang tidak larut dalam air. Meskipun struktur lemak bermacam-macam, semua lemak mempunyai sifat struktur yang spesifik, yaitu mempunyai gugusan hidrokarbon hidrofob yang banyak sekali dan sedikit gugusan hidrokarbon hidrofil. Hal ini menggambarkan sifat struktur lemak yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut non polar.

Minyak dan lemak tergolong gliserida, yaitu ester antara gliserol dan asam lemak, dimana ketiga radikal hidroksil dari gliserol semuanya diesterkan. Struktur kimia dari lemak yang berasal dari hewan, manusia, tanaman maupun lemak sintetis, mempunyai bentuk umum sebagai berikut :



Sifat – Sifat Fisis Lemak

1. Titik lebur (melting point) lemak relatif rendah, tetapi selalu lebih tinggi dari temperatur dimana ia menjadi padat kembali (setting point). Misal lemak sapi mencair pada 49 °C dan menjadi padat kembali pada 36 °C. Titik lebur lemak tergantung pada panjang pendeknya rantai karbon dari asam lemak penyusunnya dan banyak sedikitnya ikatan-ikatan rangkap. Makin panjang rantai karbon tersebut makin tinggi titik lebur lemak, dan makin banyak ikatan rangkap makin rendah titik leburnya. Misal titik lebur tripalmitin 66 °C dan tristearin 71 °C. Titik lebur triolein yang mempunyai tiga buah ikatan rangkap mempunyai titik lebur -5 °C.

2. Lemak netral tidak larut dalam air, tetapi dapat larut dalam pelarut-pelarut lemak seperti eter, chloroform, petroleum eter, carbon tetrakhlorida. Lemak dapat larut dalam alkohol panas dan sedikit larut dalam alkohol dingin.
3. Berat jenis lemak padat sekitar 0.63, sedangkan minyak atau lemak cair 0.915 – 0.940. Karena berat jenis lemak lebih rendah dari pada berat jenis air menyebabkan lemak menjadi terapung diatas air bila keduanya dicampur.
4. Lemak murni tidak berwarna, tidak berbau, tidak ada rasanya serta mempunyai sifat netral. Lemak yang berbau atau berwarna disebabkan karena adanya figment-figment dari asalnya atau mengalami perubahan struktur disebabkan pengaruh udara dalam jangka waktu yang cukup lama. Beberapa minyak nabati yang berwarna kuning disebabkan karena adanya figment seperti carotene dan xanthophyl.

Sifat – Sifat Kimia Lemak

1. Lemak dapat dihidrolisa dengan dipanaskan pada temperatur dan tekanan tinggi. Jika didihkan pada tekanan biasa hidrolisa berjalan lambat. Hidrolisa yang umum dilakukan dengan basa kuat (NaOH / KOH), dihasilkan gliserol dan garam yang disebut sebagai sabun. Sabun dan gliserol larut dalam air. Untuk memisahkan sabun dengan gliserol ditambahkan garam NaCl.
2. Lemak tak jenuh dapat mengaddisi hidrogen, sehingga menjadi lemak jenuh. Proses ini disebut hidrogenasi katalitik sebab diperlukan katalisator, yaitu serbuk nikel. Kadang disebut juga proses pematatan atau pengerasan lemak jenuh sebab pada proses ini lemak tak jenuh (cair) menjadi lemak jenuh (padat).
3. Bila lemak tak jenuh ditambah beberapa tetes aquabromata dan kemudian campuran ini dikocok maka warna dari aquabromata akan luntur. Dalam hal ini brom dari aquabromata diaddisi oleh ikatan rangkap yang ada pada lemak tak jenuh tersebut. Disamping mengaddisi brom, lemak tak jenuh dapat mengaddisi Iod. Reaksinya identik dengan reaksi diatas hanya brom diganti dengan Iod.
4. Hidrogenolisis lemak dapat diartikan sebagai pembongkaran lemak oleh pengaruh hidrogen menjadi alkohol. Untuk lemak tak jenuh mula-mula akan terjadi gliserol dan asam lemak tak jenuh. Kemudian asam lemak tak jenuh yang terbentuk mengalami hidrogenasi katalitik sehingga terbentuk alkohol jenuh.
5. Reaksi penyebab ketengikan (rancidity) adalah perubahan kimia yang menimbulkan aroma/bau dan rasa tidak enak pada lemak. Ketengikan pada lemak jenuh yang asam lemak penyusunnya mempunyai rantai pendek, dapat terjadi hanya karena pengaruh hidrolisa. Sedangkan ketengikan lemak tak jenuh yang asam lemak penyusunnya mempunyai rantai panjang, dapat terjadi melalui dua proses yaitu proses oksidasi dan hidrolisa. Penambahan oksigen atau anti oksidan dapat mencegah terjadinya ketengikan.

III. ALAT DAN BAHAN**3.1. Alat yang digunakan**

- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Corong
- Labu takar
- Gelas piala
- Gelas ukur
- Pipet tetes
- Pengaduk

3.2. Bahan yang digunakan

- Sampel lemak
- Metilen klorida
- Eter
- Alkohol 96 %
- NaOH
- Etanol
- KMnO_4
- Kertas saring

IV. CARA KERJA**4.1. Kekentalan dan Bau**

Amati wujud, kekentalan dan bau dari lemak dan asam lemak berikut ini : minyak kelapa, lemak (gajah), asam stearat, asam oleat.

4.2. Kelarutan

- Siapkan dua buah tabung reaksi, tabung pertama diisi 3 ml aquades dan tabung kedua diisi metilen klorida.
- Masukkan sedikit lemak ke dalam kedua tabung reaksi tersebut, dan gojog beberapa kali.
- Amati larutan yang terjadi, dan bandingkan kedua tabung tersebut.

4.3. Noda Lemak / Spot Tes

- Lemak atau minyak tambahkan beberapa eter atau pelarut lemak/minyak yang lain. Kocoklah kuat-kuat.
- Ambillah kertas biasa atau kertas saring. Pada kertas tersebut teteskan lemak cair/minyak tersebut. Pada kertas akan terjadi noda yang sukar hilang.

4.4. Saponifikasi Lemak / Penyabunan

- Masukkan 2 ml minyak kelapa, 1 gr NaOH kristal dan 20 ml etanol ke dalam labu erlenmeyer.
- Tempatkan pada penangas air mendidih selama 10 – 15 menit.
- Dinginkan larutan tersebut dalam air dingin. Ambillah sedikit zat padat yang terbentuk dengan menggunakan batang pengaduk dan larutkan dengan sedikit air di dalam tabung reaksi.
- Kocok dan amati dengan baik.

4.5. Uji Ikatan Rangkap pada Lemak Tak Jenuh

- Sediakan tabung reaksi dan isilah dengan 1,5 – 2 ml lemak cair/minyak.
- Tambahkan 1 – 2 tetes KMnO_4 .
- Kocoklah dengan kuat, dan reaksi positif jika warna KMnO_4 luntur.

4.6. Sifat Emulsi Sabun

- Siapkan 4 buah tabung reaksi, tabung pertama diisi 2 ml alkohol 96 %, tabung ke dua 2 ml eter, tabung ketiga 2 ml aquades, dan yang terakhir diisi 2 ml Na_2CO_3 1 %.
- Tambahkan pada masing-masing tabung setetes minyak kelapa dan tutuplah mulut tabung dengan ibu jari, lalu kocok kuat-kuat, biarkan selama 5 menit.
- Amati dan catat apa yang terjadi.

4.7. Pembuatan Asam Minyak

- Ambil 20 ml larutan sabun kemudian asamkan dengan HCl pekat atau H_2SO_4 encer.
- Kemudian kocok larutan untuk membebaskan asam-asam lemak dari garam-garamnya, diamkan hingga diperoleh 2 lapisan.
- Amati dan tunjukkan apa yang di dapat dalam ke dua lapisan tersebut.

4.8. Penentuan Angka Asam

- Timbang lebih kurang 20 gr lemak atau minyak, masukkan ke dalam erlenmeyer, dan tambahkan 50 ml alkohol 95% netral. Setelah ditutup dengan pendingin balik, panaskan sampai mendidih dan digojog kuat - kuat untuk melarutkan asam lemak bebasnya.
- Setelah dingin, larutan lemak dititrasikan dengan 0,1 N larutan KOH standar memakai indikator phenolphthalein (PP). Akhir titrasi tercapai apabila terbentuk warna merah muda yang tidak hilang selama setengah menit.
- Apabila cairan yang dititrasikan berwarna gelap dapat ditambahkan pelarut yang cukup banyak dan atau dipakai indikator bromothymol-blue sampai berwarna biru.
- Angka asam dinyatakan sebagai mg KOH yang dipakai untuk menetralkan asam lemak bebas dalam 1 gram lemak atau minyak.

Perhitungan :

$$\text{Angka asam} = \frac{\text{ml KOH} \times \text{N KOH} \times 56,1}{\text{Berat bahan}}$$

Apabila contoh banyak mengandung asam lemak bebas, dapat ditimbang contoh kurang dari 5 gram.

4.9. Penentuan Angka Penyabunan

- Timbang minyak atau lemak dengan teliti antara 1,5 – 5,0 gram dalam erlenmeyer 200 ml. Tambah 50 ml larutan KOH yang dibuat dari 40 gram KOH dalam 1 liter alkohol. Setelah itu ditutup dengan pendingin balik, dididihkan dengan hati-hati selama 30 menit.
- Selanjutnya dinginkan dan tambahkan beberapa tetes indikator phenolphthalein (PP) dan titrasilah kelebihan larutan KOH dengan larutan standar 0,5 N HCl.
- Untuk mengetahui kelebihan larutan KOH ini perlu dibuat titrasi blanko, yaitu dengan prosedur yang sama kecuali tanpa bahan lemak atau minyak.
- Angka penyabunan dinyatakan sebagai banyaknya mg KOH yang dibutuhkan untuk menyabunkan lemak secara sempurna dari 1 gr lemak atau minyak.

Perhitungan :

$$\text{Angka penyabunan} = \frac{28,05 \times (\text{titrasi blanko} - \text{titrasi contoh})}{\text{Berat bahan}}$$

4.10. Penentuan Angka Yodium

- Timbang minyak atau lemak dengan teliti antara 0,1 – 0,5 gram dalam erlenmeyer bertutup. Tambah 10 ml khloroform dan 25 ml reagen yodium-bromida dan biarkan di tempat gelap selama 30 menit dengan kadangkala digojog.
- Kemudian tambahkan 10 ml larutan KI 15 % dan tambahkan 50-100 ml aquades yang telah dididihkan, dan segera dititrasi dengan larutan Na₂S₂O₃ 0,1 N sampai larutan berwarna kuning pucat, kemudian tambahkan 2 ml larutan pati. Titrasi dilanjutkan sampai warna biru hilang.
- Larutan blanko yang dibuat dari 25 ml reagen yodium bromida dan ditambahkan 10 ml KI 15 % diencerkan dengan 100 ml aquades yang telah dididihkan dan dititrasi dengan larutan Na₂S₂O₃ 0,1 N.
- Banyaknya larutan Na₂S₂O₃ 0,1 N untuk titrasi blanko dikurangi titrasi sesungguhnya adalah ekuivalen dengan banyaknya yodium yang diikat oleh lemak atau minyak.

Perhitungan :

$$\text{Angka yodium} = \frac{\text{ml titrasi (blanko} - \text{contoh)}}{\text{Berat bahan}} \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 12,691$$

4.11 Penentuan Asam Lemak Bebas (FFA)

- Bahan harus diaduk merata dan berada dalam keadaan cair pada waktu diambil contohnya. Timbang sebanyak $28,2 \pm 0,2$ gr contoh dalam erlenmeyer. Tambahkan 50 ml alkohol netral yang panas dan 2 ml indikator PP.
- Titrasi dengan larutan 0,1 N NaOH yang telah distandarisir sampai warna merah jambu tercapai dan tidak hilang selama 30 detik.

- Persen asam lemak bebas dinyatakan sebagai oleat pada kebanyakan minyak dan lemak. Untuk minyak kelapa dan minyak inti kelapa sawit dinyatakan sebagai laurat, sedang pada minyak kelapa sawit dinyatakan sebagai palmitat.
- Asam lemak bebas dinyatakan sebagai % FFA atau sebagai angka asam.

Perhitungan :

$$\% \text{ FFA} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{BM asam lemak}}{\text{Berat bahan} \times 1000} \times 100$$

- Asam lemak bebas ditentukan sebagai kandungan asam lemak yang terdapat paling banyak dalam minyak tertentu. Asam lemak bebas sebagai berikut ini dipakai sebagai tolak ukur jenis minyak tertentu :

Sumber minyak	Jenis Asam Lemak terbanyak	Berat Molekul
Sawit	Palmitat	256
Inti Sawit Kelapa	Lamat	200
Susu	Oleat	282
Jagung, kedele, kacang, dll	Linoleat	278

Angka asam = mg KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan 1 gr contoh. Untuk merubah % FFA menjadi angka asam, kalikan % FFA dengan faktor. {faktor = BM KOH / (BM asam lemak/10)}.

Misal faktor untuk oleat = 56/28,2 = 1,99.

Dari angka asam menjadi % FFA dikalikan dengan faktor sebaliknya {faktor = (BM Asam lemak/10) / BM KOH}.

METABOLISME GLIKOLISIS DALAM SEL RAGI

A. TUJUAN

1. Mempelajari atau mengamati proses glikolisis di dalam sel ragi dengan mengukur kadar glukosa yang tersisa dan tinggi kolom CO₂ yang dihasilkan.
2. Mempelajari/mengamati pengaruh inhibitor seperti flourida dan arsenat terhadap proses glikolisis.

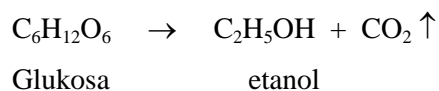
B. DASAR TEORI

Metabolisme adalah segala proses reaksi kimia yang terjadi di dalam makhluk hidup, mulai dari makhluk bersel satu yang sangat sederhana seperti bakteri, protozoa, jamur, tumbuhan, hewan sampai kepada manusia. Metabolisme meliputi proses sintesis dan proses penguraian senyawa atau komponen dalam sel hidup.

Pada dasarnya metabolisme glukosa di bagi dalam dua bagian yang tidak menggunakan oksigen atau anaerob dan yang menggunakan oksigen atau aerob. Reaksi anaerob terdiri atas serangkaian reaksi yang mengubah glukosa menjadi asam laktat. Proses ini disebut *glikolisis*.

Glikolisis dalam Sel Ragi

Glukosa oleh enzim-enzim glikolisis di dalam sel ragi akan diubah menjadi etanol dan CO₂.



Pada penambahan inhibitor, lebih sedikit glukosa yang diubah menjadi etanol dan CO₂.

Penetapan Kadar Glukosa Cara Folin-Wu

Glukosa yang terdapat dalam larutan dipanaskan dalam larutan tembaga alkalis. Glukosa akan mereduksi ion kupri menjadi senyawa kupro yang tidak larut. Pada penambahan pereaksi asam fosfomolibdat senyawa kupro akan larut dan mereduksi ion fosfomolibdat yang berwarna biru tua. Intensitas biru tua menyatakan banyaknya tembaga yang direduksi dan dengan demikian menyatakan jumlah glukosa yang ada.

Penetapan kadar glukosa cara Folin-Wu terlebih dahulu dilakukan deproteinisasi bahan yang akan diperiksa dengan cara Folin-Wu.

C. PROSEDUR PERCOBAAN**1. Glikolisis dalam Sel Ragi****Alat dan Bahan :**

- Tabung peragian.
- Suspensi ragi.
- Larutan glukosa 2%.
- Inhibitor proses glikolisis : larutan flourida dan larutan arsenat.

Cara Kerja :

1. Sediakan 4 tabung peragian yang bersih dan kering, dimana tabung 1 digunakan sebagai kontrol positif, tabung 2 sebagai kontrol negatif, tabung 3 dan 4 untuk melihat pengaruh inhibitor.
2. Pipetkan ke dalam setiap tabung :

Tabung	1	2	3	4
Suspensi ragi	21 ml	-	20 ml	20 ml
Suspensi ragi yang telah dididihkan	-	21 ml	-	-
Larutan fluorida	-	-	1 ml	-
Larutan arsenat	-	-	-	1 ml
Larutan glukosa 2%	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml

3. Campurkan tabung dengan membalik-balikkannya 3 sampai 4 kali, sehingga lengan tertutupnya terisi dengan suspensi ragi. Biarkan 15 menit dalam suhu kamar.
4. Setelah tepat 15 menit lakukan pengukuran pada setiap tabung tersebut :
 - a. Tinggi kolom CO₂ yang terbentuk pada lengan tertutup
 - b. Kadar glukosa

2. Penetapan Kadar Glukosa**Alat dan Bahan :**

- Spektrofotometer.
- Erlenmeyer.
- Bahan yang diperiksa (hasil glikolisis sel ragi).
- Aquades.
- Larutan natrium tungstat 10 %.
- Larutan asam sulfat 2/3 N.
- Larutan tembaga alkalis mengandung natrium karbonat, tembaga sulfat dan asam tartrat.
- Pereaksi asam fosfomolibdat mengandung asam molibdat dan natrium tungstat.
- Larutan standar glukosa mengandung 0,1 mg/ml.

Cara Kerja :

Deproteinisasi

1. Pipetkan 7 ml akuades ke dalam labu erlenmeyer 125 ml yang kering.
2. Tambahkan 1 ml bahan yang akan diperiksa, goyang labu dengan perlahan.
3. Tambahkan 1 ml Na-tungstat 10%, campur dengan mengoyang labu.
4. Tambahkan 1 ml H₂SO₄ 2/3 N secara tetes demi tetes sambil terus menggoyang labu.
5. Diamkan 10 menit.
6. Saring melalui kertas saring yang kering dan filtrat yang keluar ditampung.

Penetapan Kadar Glukosa

Pengukuran kadar glukosa ini dilakukan dengan menggunakan tabung Folin-Wu atau tabung reaksi yang bersih dan kering.

Pipetkan ke dalam tabung :

Larutan	Blan ko	Standa r 1	Standa r 2	Uji 1	Uji 2
Filtrat bebas protein	-	-	-	2 ml	2 ml
Standar glukosa	-	2 ml	2 ml	-	-
Akuades	2 ml	-	-	-	-
Pereaksi tembaga alkalis	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Campurkan dengan baik dengan mengoyang-goyangkan tabung. Letakkan dalam penangas air mendidih selama tepat 8 menit. Kemudian dinginkan dalam es selama 3 menit					
Asam fosfomolibdat	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Campurkan dengan baik. Diamkan 3 menit untuk melarutkan Cu ₂ O. Kemudian encerkan sampai 25 ml dengan akuades. Baca serapan (A) tiap tabung pada spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm					

Perhitungan :

$$Kadar\ Glukosa = \frac{A_U - A_B}{A_S - A_B} \times 100\ mg / 100ml$$

Hasil :

Tabung	1 Kontrol +	2 Kontrol -	3 + Fluorida	4 + Arsenit
Tinggi Kolom CO ₂ yang terbentuk				
Kadar Glukosa				

ANALISIS KUALITATIF URIN

A. TUJUAN PERCOBAAN

1. Menetapkan kadar gula dalam urin secara semikuantitatif.
2. Membuktikan adanya indikan dalam urin.
3. Membuktikan adanya benda keton dalam urin.
4. Membuktikan adanya pigmen empedu dalam urin.

B. DASAR TEORI

Urin dibentuk oleh ginjal. Ginjal merupakan organ yang sangat khusus dengan 2 fungsi utama yaitu mengeliminasi sisa – sisa metabolisme dalam bentuk larutan serta mempertahankan homeostatis cairan tubuh.

Dalam keadaan normal pada orang dewasa akan dibentuk 1200 – 1500 ml urin dalam satu hari. Secara fisiologis dan patologis volume urin dapat bervariasi. Pembentukan urin dipengaruhi oleh cairan yang masuk dan jenis makanan. Diet tinggi protein akan meningkatkan pembentukan urin sebab urea yang terbentuk pada proses metabolisme protein mempunyai efek diuretik. Pada suhu lingkungan tinggi, volume urin berkurang. Volume urin yang diperlukan untuk mengekskresi produk metabolisme tubuh adalah 500 ml.

Poliurea (volume urin meningkat) ditemukan pada berbagai keadaan. Pada diabetes insipidus, akibat tidak adanya hormon anti diuretik, volume urin tiap hari dapat mencapai 10 – 20 liter. Pada diabetes melitus, volume urin dapat mencapai 5 – 6 liter dalam 1 hari.

Oligouria (volume urin berkurang) ditemukan pada keadaan demam, nefritis akut, glomerulonefritis kronis, diare dan gagal jantung.

Anuri (tidak terbentuk urin) pada suatu periode tertentu dapat terjadi pada keadaan syok, nefritis akut, keracunan air raksa atau batu ginjal.

Rasio antara urin siang hari (pukul 08.00 – 20.00) dan urin malam hari (pukul 20.00 – 08.00) adalah 2 : 1, kadang-kadang 3 : 1. Pada kelainan ginjal rasio ini dapat berubah atau bahkan terbalik.

Pada keadaan normal, urin yang dibentuk berwarna kuning muda dan jernih dengan bau yang khas dan juga dipengaruhi oleh jenis makanan. Berat jenis urin 24 jam adalah 1,003 – 1,030. pH bersifat asam (pH 6,0) dan sangat bervariasi antara 4,9 sampai 8,0.

Kandungan zat padat dalam urin 24 jam adalah sebagai berikut :

- Klorida sebagai NaCl : ±10 gr.
- Ca^{+2} , Mg^{+2} dan iodium : sedikit.

- Urea : ±20 - 30 gr.
- Kreatinin : 1,5 gr.
- Amonia : 0,7 gr.
- Asam urat : 0,7 gr.

Selain itu juga ditemukan sulfat, fosfat, oksalat, asam amino, vitamin, hormon dan enzim.

Pada keadaan abnormal dapat ditemukan glukosa, benda keton, protein dan berbagai senyawa lain seperti pigmen empedu, darah dan porfirin yang dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis penyakit tertentu.

Dalam saluran kemih dapat terjadi pembentukan batu sebagai akibat menurunnya kelarutan senyawa tertentu dalam urin. Kira – kira 1/3 batu saluran kemih terdiri dari Ca fosfat, Ca karbonat dan Mg amonium fosfat, Pembentukan batu terjadi akibat peningkatan ekskresi kalsium, infeksi dan peningkatan pH. Dalam urin juga dapat ditemukan batu oksalat dan batu asam urat.

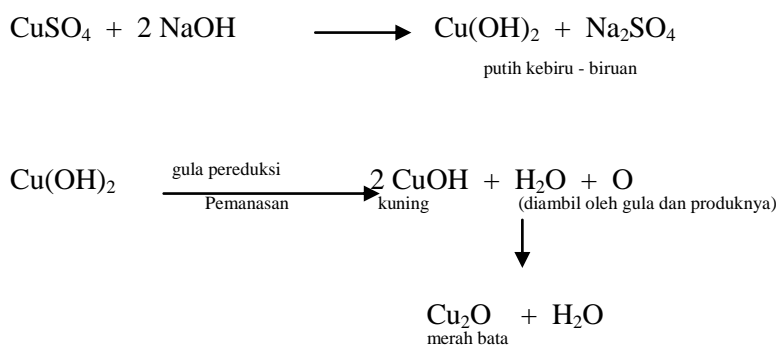
Dalam keadaan tertentu perlu dilakukan penetapan jumlah suatu zat dalam urin yang dikumpulkan selama 24 jam. Pada pengumpulan urin 24 jam ini perlu digunakan bahan pengawet seperti toluen, sebab dapat terjadi perubahan senyawa dalam urin akibat kerja bakteri dalam urin.

Pada wanita hamil dalam urin ditemukan hCG (human Chorionic Gonadotropin) yang dihasilkan oleh plasenta. Hormon ini memberi hasil positif pada uji kehamilan.

Uji Benedict Semikuantitatif

Gula yang mempunyai gugus aldehyd atau keton bebas mereduksi ion kupri dalam suasana alkalis menjadi kuprooksida yang tidak larut dan berwarna merah. Banyaknya endapan merah yang terbentuk sesuai dengan kadar gula yang terdapat di dalam urin. Uji ini tidak spesifik terhadap glukosa, karena gula lain yang mempunyai sifat mereduksi dapat juga memberi hasil yang positif.

Reaksi :



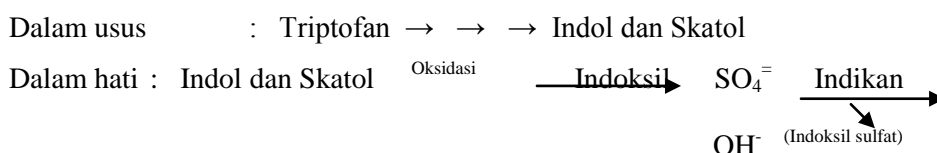
Uji Indikan (Obermeyer)

Bahan makanan akan diserap dari usus halus dan sisa makanan yang tidak diserap akan terus ke usus besar. Dalam usus besar terjadi penyerapan air sehingga gradual isi usus akan menjadi lebih padat. Dalam usus besar terjadi proses fermentasi dan pembusukan terhadap sisa bahan makanan oleh pengaruh enzim-enzim bakteri usus. Pada proses ini akan dihasilkan gas seperti CO₂, metan, hidrogen, nitrogen, H₂S, asam asetat, asam laktat dan asam butirat.

Dalam usus besar asam amino akan mengalami dekarboksilasi oleh enzim bakteri usus menghasilkan amin toksik (=ptomain). Asam amino triptofan akan membentuk indol dan skatol. Indol dan skatol akan diserap oleh usus, selanjutnya dalam hati akan dioksidasi menjadi indoksil. Indoksil akan berkombinasi dengan sulfat (proses konjugasi) membentuk indikan (indoksil sulfat). Indikan akan diekskresi ke dalam urin dan merupakan salah satu sulfat etereal dalam urin.

Indikan dalam urin berasal dari proses pembusukan asam amino triptofan dalam usus, bukan berasal dari katabolisme protein dalam tubuh. Ekskresi indikan ke dalam urin memberi gambaran proses pembusukan dalam usus. Pada keadaan normal, dalam sehari diekskresi 10 – 20 mg. Variasi ekskresi terutama ditentukan oleh jenis makanan. Makanan tinggi protein akan meningkatkan ekskresi indikan dalam urin dan sebaliknya pada makanan tinggi karbohidrat. Bila terjadi peningkatan proses pembusukan dalam usus atau bila ada stagnasi isi usus juga akan terjadi peningkatan ekskresi indikan dalam urin. Peningkatan indikan dalam urin juga dapat ditemukan bila ada dekomposisi protein dalam tubuh oleh bakteri, seperti pada gangren.

Reaksi pembentukan indikan :



Indikan dalam urin dapat ditetapkan dengan uji Obermeyer. Pereaksi Obermeyer yang mengandung FeCl₃ dalam HCl pekat akan mengoksidasi gugus indoksil membentuk biru indigo yang larut dalam kloroform.

Uji Benda Keton (Rothera)

Benda keton (asam β-hidroksibutirat, asam asetoasetat dan aseton) tidak ditemukan dalam urin normal. Pada penderita diabetes melitus, pada alkoholisme dan pada kelaparan yang berkepanjangan terjadi gangguan metabolisme karbohidrat yang disertai peningkatan metabolisme lipid. Pada keadaan ini terjadi peningkatan produksi benda keton dalam hati yang

selanjutnya diekskresi ke dalam urin.

Benda keton dalam urin dapat ditetapkan dengan uji Rothera.

Uji Pigmen Empedu (Gmelin)

Pada beberapa keadaan patologis dalam urin dapat ditemukan pigmen dan garam empedu. Bila ada empedu dalam urin, urin akan berwarna hijau kekuningan sampai coklat. Oksidasi terhadap pigmen – pigmen ini menghasilkan sejumlah pigmen – pigmen lain dengan bermacam - macam warna.

Pigmen empedu dalam urin dapat diperlihatkan dengan uji Gmelin.

C. PROSEDUR PERCOBAAN

1. Uji Benedict Semikuantitatif

Alat dan Bahan :

- Tabung reaksi.
- Penangas air mendidih.
- Pipet tetes.
- Urin.
- Larutan glukosa 0,3% ; 1% ; 5%.
- Pereaksi benedict.

Cara Kerja :

Pipetkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering :

<i>Larutan</i>	Tabung 1	Tabung 2	Tabung 3	Tabung 4
Pereaksi benedict	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Urin	4 tetes	-	-	-
Larutan glukosa 0,3 %	-	4 tetes	-	-
Larutan glukosa 1 %	-	-	4 tetes	-
Larutan glukosa 5 %	-	-	-	4 tetes

Panaskan dalam penangas air mendidih selama 5 menit atau didihkan diatas api kecil selama 1 menit. Biarkan menjadi dingin perlahan - lahan. Endapan berwarna hijau, kuning atau merah menandakan reaksi positif, sedangkan perubahan warna larutan saja tidak berarti reaksi positif.

Penafsiran Hasil :

Warna	Penilaian	Konsentrasi
Biru jernih	-	0
Hijau/hijau kekuningan	+ 1	Kurang dari 0,5 %
Kuning/Kuning kehijauan	+ 2	0,5 – 1,0 %
Jingga	+ 3	1,0 – 2,0 %
Merah	+ 4	Lebih dari 2 %

Hasil :

Sampel	Warna	Penilaian	Konsentrasi
Urin normal			
Urin mengandung glukosa 0,3 %			
Urin mengandung glukosa 1 %			
Urin mengandung glukosa 5 %			

2. Uji Indikan

Alat dan Bahan :

- Tabung reaksi.
- Pipet tetes.
- Urin.
- Pereaksi Obermeyer.
- Kloroform.

Cara Kerja :

Pipetkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering :

Larutan	Tabung
Urin	8 ml
Pereaksi Obermeyer	8 ml
Diamkan beberapa menit	
Kloroform	3 ml
Campurkan dengan membalik – balik tabung kira – kira 10 kali (jangan dikocok). Kloroform akan mengekstraksi warna biru indigo.	

Hasil :

3. Uji Benda Keton (Rothera)

Alat dan Bahan :

- Tabung reaksi.
- Pipet tetes.

- Urin.
- Kristal amonium sulfat.
- Larutan Na nitroprusid 5%.
- Amonium hidroksida pekat.

Cara Kerja :

Pipetkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering :

Larutan	Tabung
Urin	5 ml
Kristal amonium sulfat	Ditambah sampai jenuh
Na nitroprusid 5%	2 – 3 tetes
Amonium hidroksida pekat	1 – 2 tetes
Campurkan, diamkan 30 menit. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu.	

Hasil :

4. Uji Pigmen Empedu (Gmelin)

Alat dan Bahan :

- Tabung reaksi.
- Pipet tetes.
- Urin.
- Asam nitrat pekat.

Cara Kerja :

Pipetkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering :

Larutan	Tabung
Asam nitrat pekat	2 ml
Urin	2 ml (dengan hati – hati)
Reaksi positif ditunjukkan oleh adanya permainan warna mulai dari hijau menjadi biru, ungu, merah dan jingga.	

Hasil :

MIKROSKOP

Mikroskop mempunyai hubungan yang erat dengan mikrobiologi, karena ukuran mikroba sangat kecil dan baru dapat dilihat dengan mikroskop. Untuk mendapatkan pembesaran yang cukup suatu benda atau obyek yang sangat kecil (diameternya kurang dari 0,1 mm) diperlukan mikroskop.

Sebelum perang dunia II, para ahli mikrobiologi pada umumnya menggunakan mikroskop medan terang (*"bright field microscope"*) di dalam menggunakan pekerjaan-pekerjaan mereka. Sejak itu kemajuan teknologi di bidang mikroskop, boleh dikatakan telah berkembang pesat, hal ini karena ditemukannya alat-alat optik yang lebih baik disertai dengan perbaikan-perbaikan mekanik.

A. Macam-macam mikroskop

1. Mikroskop Medan Terang

Sebuah mikroskop yang baik dengan perlengkapan optik medan terang, merupakan alat paling besar bagi seorang ahli mikrobiologi. Seperti tercermin dari namanya, mikroskop medan terang adalah suatu mikroskop dengan medan yang mengelilingi specimen kelihatan terang (bercahaya cerah), sedangkan specimennya sendiri memperlihatkan warna yang lebih gelap. Hal ini disebabkan karena cahaya dari sumbernya lewat melalui sistem-sistem lensa ke atas tanpa mengalami perubahan, sehingga terbentuklah medan yang terang.

Berbeda dengan mikroskop lensa tunggal yang sederhana dari jaman **Leeuwenhoek**, mikroskop yang umum dipakai pada masa kini menggunakan sistem lensa terpisah, yaitu lensa obyektif dan lensa okuler untuk menambah perbesaran, karena itu sering kali disebut juga sebagai *mikroskop majemuk*.

Pada prinsipnya mikroskop ini terdiri dari dua bagian, yaitu bagian mekanik dan bagian optik.

- a. Bagian mekanik berupa : *statif, tubus, revolver*, meja benda, sekrup pengatur tubus (kasar dan halus), sekrup pengatur kondensor dan sekrup-sekrup penggerak meja benda.
- b. Bagian optik : lensa okuler, lensa obyektif, kondensor dan cermin pengatur cahaya.

Lensa Obyektif

Lensa obyektif di dalam tubus mikroskop membentuk bayangan nyata dari preparat (benda). Bayangan nyata ini selanjutnya diperbesar oleh lensa okuler.

Untuk memperoleh obyektif yang baik. Perlu diperhatikan perbesaran dan daya pisahnya.

a. Perbesaran

Makin pendek jarak fokus suatu lensa, makin kuat perbesarannya. Misalnya obyektif yang mempunyai perbesaran minimal (satu kali) mempunyai jarak fokus 55 mm, sedang obyektif yang mempunyai perbesaran maksimal (120x) mempunyai fokus 1,5 mm.

b. Daya Pisah

Daya pisah adalah kemampuan suatu obyektif untuk memisahkan 2 buah titik yang sangat berdekatan di dalam struktur pada suatu obyek. Jadi makin besar kemampuan suatu obyektif, makin kecil jarak dua buah titik yang berdekatan yang dapat dilihat secara terpisah dengan mikroskop itu.

Lensa Okuler

Lensa okuler merupakan lensa yang berfungsi untuk membuat bayangan semu terakhir, sehingga bayangan semu tersebut dapat dilihat langsung oleh mata.

Kondensor

Fungsi kondensor yaitu untuk mengatur intensitas cahaya yang masuk ke dalam mikroskop. Kondensor terdiri atas dua bagian, yaitu :

- a. Susunan lensa-lensa untuk mengumpulkan sinar-sinar sebelum masuk ke dalam mikroskop.
- b. Diafragma, untuk mengatur sinar-sinar tepi yang masuk ke dalam mikroskop. Dengan diafragma ini, kesalahan-kesalahan aberasi sferik dan aberasi astigmatisma akan berkurang.

2. Mikroskop Ultra Violet

Mikroskop ini menggunakan sinar ultra violet, dan dilengkapi dengan alat pemotret sebagai alat pengamatannya. Oleh karena cahaya yang digunakan sinar ultra violet (UV) mempunyai panjang gelombang yang pendek daripada sinar biasa, maka mikroskop ini mempunyai daya pisah yang kuat.

3. Mikroskop Fase Kontras

Mikroskop fase kontras berbeda dengan mikroskop biasa. Mikroskop ini dilengkapi dengan diafragma khusus, yaitu diafragma dengan celah berbentuk cincin dan lensa obyektifnya dilengkapi dengan lempeng defraksi. Pada mikroskop biasa perbedaan

indeks bias yang sangat kecil pada obyek tidak dapat terlihat, tetapi dengan adanya lempeng defraksi pada susunan lensa obyektif ini, maka perbedaan indeks bias yang kecil pada obyek itu dapat terlihat dengan jelas. Hal ini memungkinkan untuk dapat membedakan perbedaan-perbedaan struktur dengan jelas.

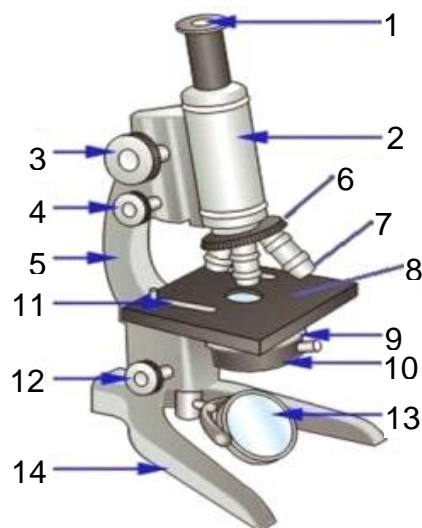
4. Mikroskop Elektron

Daya pisah mikroskop biasa kira-kira hanya 0,2 mikron, apabila daya pisah digunakan adalah maksimum. Pada mikroskop elektron digunakan sinar elektron yang mempunyai panjang gelombang sangat pendek, tergantung pada voltase yang digunakan. Untuk mendapat sinar elektron yang mempunyai panjang gelombang 0,005 diperlukan voltase (tegangan) 50.000 volt.

Dengan mikroskop biasa perbesaran yang dapat dicapai kurang lebih 2000 kali. Sedangkan mikroskop ultra violet, perbesaran yang dapat dicapai kurang lebih 3000 kali. Dengan mikroskop elektron perbesaran yang dicapai sedikitnya 10.000-30.000 kali atau lebih, sehingga dapat dipakai untuk melihat molekul-molekul protein, virus, *bakteriofage*, struktur dalam bakteri dan lain-lain.

Skema mikroskop dengan bagian-bagiannya :

1. Lensa okuler
2. Tubus
3. Sekrup pengatur tubus (kasar)
4. Sekrup pengatur tubus (halus)
5. Lengan mikroskop atau pegangan
6. Revolver
7. Lensa objektif
8. Meja benda
9. Kondensor
10. Diafragma
11. Penjepit
12. Sendi inklinasi
13. Cermin
14. Kaki mikroskop



B. Cara Menggunakan Mikroskop

Pada umumnya cara menggunakan mikroskop untuk pemeriksaan Parasitologi dan Mikrobiologi adalah sama dengan untuk pemeriksaan Biologi dan Histologi. Tetapi karena banyak parasit yang harus dilihat dengan lensa imersi, beberapa hal perlu diperhatikan.

1. Mikroskop harus dalam keadaan baik, yaitu semua tombol untuk menaik-turunkan laras mikroskop, untuk kondensor, tombol pada meja objek harus dapat diputar dengan lancar.
2. Yang paling penting ialah lensa dan cermin harus bersih.

Lensa okuler : 5x dan 10x (Leitz) atau 6x dan 10x (Reichert).

Sebelum mulai, periksa dahulu lensa. Cara memegang lensa yang salah akan meninggalkan sidik jari pada bagian bawah lensa sehingga dapat mengganggu penglihatan.

Lensa objektif : 10x, 45x dan 100x (lensa imersi)

Periksa apakah lensa-lensa ini bersih dan kering. Setelah memakai minyak imersi, bersihkan lensa dengan kapas kering bila memakai minyak imersi encer. Tetapi bila memakai minyak imersi kental pakailah sedikit xylol. Setelah itu sisa xylol dihapus dengan kapas kering. Terlalu banyak xylol dapat merusak semen lensa !!!

Kondensor :

Jagalah jangan sampai ada larutan (eosin, garam fisiologik, lugol, air, KOH) jatuh pada kondensor. Bersihkan segera dengan kapas kering.

Cermin

Jangan pegang permukaan cermin, tetapi peganglah pinggirnya.

Supaya dapat bekerja dengan baik dan tenang, aturlah tempat duduk Saudara supaya sesuai dengan ukuran badan Saudara.

1. Arahkan cahaya yang masuk ke mikroskop dengan mengatur letaknya cermin. Selama mengatur cahaya ini biarkanlah kondensor setinggi-tingginya. Bila memakai *sinar matahari* pakailah *cermin datar*. Bila memakai *sinar lampu* pakailah *cermin cekung*.
2. Bila cahaya sudah diperoleh secara maksimum, kemudian aturlah banyaknya cahaya menurut keperluan.

Untuk pemeriksaan :

- a. Sediaan dengan kontras sedikit

Misalnya sediaan tinja basah, sediaan sedimen urin, dll., kurangilah cahaya dengan cara :

- 1) Menurunkan kondensor atau,
- 2) Mengecilkan diafragma

b. Sediaan dengan kontras banyak

Misalnya sediaan darah yang dipulas, sediaan histology yang dipulas, cukuplah cahaya dengan cara :

- 1) Meninggikan kondensor dan membesarkan diafragma sehingga cukup terang, tetapi jangan sampai silau
- 2) Pada umumnya bila mempergunakan :
 - a) Pembesaran kecil → kondensor direndahkan
 - b) Pembesaran sedang → kondensor ditinggikan tetapi tidak maksimal
 - c) Pembesaran imersi → kondensor ditinggikan maksimal

PRAKTIKUM HELMINTOLOGI

TUJUAN :

1. Menjelaskan bentuk dan ukuran telur berbagai spesies nematoda usus
2. Menjelaskan bentuk dan ukuran telur berbagai spesies cestoda

KETERANGAN	GAMBAR
<p>Ascaris lumbricoides (Fertil)</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Bentuk : lonjong ▪ Besar : 60 x 45 mikron ▪ Dinding : tebal terdiri atas dua lapis, lapisan luar albuminoid, lapisan dalam vitelin ▪ Warna : kuning kecoklatan ▪ Isi : sel telur berupa sel tunggal yang belum membelah 	<p>Perbesaran : 10 x 45</p>
<p>Ascaris lumbricoides (telur tidak dibuahi)</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Bentuk : lonjong, lebih panjang ▪ Besar : 90 x 40 mikron ▪ Dinding : biasanya lebih tipis (lapisan albuminoid tipis) ▪ Isi : sel telur berupa protoplasma mati yang bersifat tidak teratur 	<p>Perbesaran : 10 x 45</p>
<p>Ascaris lumbricoides (telur dekortikasi)</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Telur dibuahi (fertile) ▪ Kehilangan lapisan albuminoid ▪ Bentuk bulat lonjong ▪ Dinding tebal, mulus 	<p>Perbesaran : 10 x 45</p>

<p>Ascaris lumbricoides (telur berembrio)</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Di dalam telur berisi embrio ▪ Embrio bersifat infeksi ▪ Dibentuk kira-kira 2-3 minggu di tanah 	
<p>Trichuris trichiura (Telur)</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Bentuk : seperti tempayan ▪ Besar : 50 x 22 mikron ▪ Pada kedua ujungnya terdapat kutub ▪ Kulit telur 2 lapis ▪ Kulit luar berwarna kuning jernih ▪ Isi telur berupa inti sel telur 	
<p>Taenia spp</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Bentuk : bulat ▪ Besar : 30 x 40 mikron ▪ Dinding : tebal dengan struktur radier (embriofor) ▪ Warna kuning coklat berisi embrio hexacant 	
<p>Cacing tambang</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Bentuk : lonjong, kedua ujungnya membulat (ovoid) ▪ Besar : 60 x 40 mikron ▪ Telur terdiri dari satu lapis ▪ Isi telur antara 4-8 sel, kadang berisi embrio 	
<p>Cacing tambang (larva filariform)</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Bentuk : halus panjang ▪ Besar : 600 mikron ▪ Esoagus : kira-kira ¼ panjang badan ▪ Mulut : tertutup ▪ Ekor : lancip ▪ Sifat : infeksi 	

<p>Hymenolepis diminuta</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Bentuk : bujur/ bulat▪ Besar : 35 – 45 mikron▪ Dinding tebal 2 lapis membrane luar dan dalam▪ Membrane dalam kedua kutub tanpa filamen▪ Berisi embrio heksaxan dengan 6 buah kait	
--	--

PRAKTIKUM ENTOMOLOGI

KETERANGAN	GAMBAR
<p>Ctenocephalides canis (dewasa)</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Kelompok pinjal ▪ Habitat di bulu anjing ▪ Kepala tumpul ▪ Posterior ada pygidium ▪ Kaki 3 pasang 	
<p>Cimex lectularius (dewasa)</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Tubuh bersegmen-segmen ▪ Kaki 3 pasang ▪ Alat kelamin : organ of balesse, aedogus 	
<p>Pediculus humanus capitis (dewasa)</p> <p>Perhatikan :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Tubuh bersegmen ▪ Kaki 3 pasang ▪ Tiap segmen ada spirakel ▪ Habitat di rambut kepala 	

DAFTAR PUSTAKA

- Bagian Biokimia FKUI. Biokimia Eksperimen Laboratorium. Widya Medika. Jakarta. 2000.
- Montgomery, dkk. Biokimia Berorientasi pada Kasus Klinik . Bina Rupa Aksara. Jakarta. 1993.
- Prijanti AR, dkk. Penuntun Praktikum Biokimia untuk Mahasiswa Keperawatan. Widya Medika. Jakarta. 2000.
- Rahayuni A. Praktikum Biokimia. Akademi Gizi Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Semarang. 1994.
- Staf Laboratorium Mikrobiologi Industri. Pengantar Praktikum Mikrobiologi Industri. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik UNDIP. Semarang. 1994
- Sumardjo D. Buku Petunjuk Praktikum Kimia Dasar I. Laboratorium Kimia Dasar UNDIP. Semarang.
- Schumm DE . Intisari Biokimia. Binarupa. Jakarta. 1993