

Bahan Makanan dan Enzim Pencernaan

Dr. Darmadi Goenarso



PENDAHULUAN

Bahan makanan dapat dikelompokkan ke dalam tiga kelompok besar yaitu: karbohidrat, lemak dan protein. Bahan makanan ini, mungkin tersedia dalam bentuk siap diserap, tetapi mungkin juga berada dalam bentuk yang belum siap untuk dimanfaatkan oleh sel. Bila bahan-bahan ini masih merupakan molekul dengan rantai panjang atau kompleks, maka perlu disiapkan atau harus dicerna (diurai atau dihidrolisis) terlebih dahulu. Pencernaan atau penguraian dapat dilaksanakan secara **mekanis** maupun **kimia**.

Pencernaan secara **mekanis** dapat terjadi pada waktu dikunyah di mulut atau pada saat penggerusan di tembolok, atau terjadi di saluran pencernaan pada saat pengadukan dan penekanan (gerakan peristaltik) sebagai hasil kontraksi otot yang melapisi saluran pencernaan.

Pencernaan secara **kimia** terjadi berkat jasa berbagai **enzim**, di dalam saluran pencernaan. Dalam proses pencernaan, bahan makanan yang kompleks diurai menjadi senyawa yang lebih sederhana. Protein diubah menjadi asam-asam amino; senyawa karbohidrat atau polisakarida diubah menjadi beberapa sakarida yang lebih sederhana; sedangkan lemak dihidrolisis menjadi asam-asam lemak dan gliserol. Setelah melalui proses hidrolisis, berbagai komponen yang berasal dari protein, lemak maupun karbohidrat berada dalam keadaan yang mudah untuk diabsorpsi oleh saluran pencernaan dan selanjutnya dapat disebarkan ke berbagai jaringan dengan bantuan sistem peredaran.

1. Isi Pokok Praktikum

Isi pokok Praktikum meliputi: percobaan-percobaan pengujian untuk mengenal karbohidrat, lemak dan protein; enzim-enzim pencernaan yang berfungsi mengurai bahan makanan tertentu dan pengaruh berbagai kondisi (pH, kadar substrat, suhu) terhadap aktivitas kerja enzim.

Modul Praktikum ini terdiri dari 2 Kegiatan Praktikum yaitu:

Kegiatan Praktikum 1 : Bahan Makanan

Kegiatan Praktikum 2 : Enzim Pencernaan (Pencernaan pada saluran pencernaan mamalia)

KEGIATAN PRAKTIKUM 1

Bahan Makanan

PERCOBAAN TES KUALITATIF BAHAN DALAM MAKANAN

Pendahuluan

Bahan makanan terdiri dari tiga kelompok besar yaitu Karbohidrat, Protein dan Lemak.

1. Karbohidrat

Karbohidrat adalah sekelompok senyawa berisi unsur C, H dan O yang memiliki rumus empiris $(CH_2O)_n$. Termasuk ke dalamnya adalah monosakarida, disakarida, polisakarida.

Contoh: monosakarida: glukosa, fruktosa;

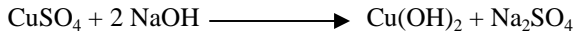
Disakarida : maltosa, laktosa, sukrosa;

Polisakarida : glikogen, pati atau kanji (amilum).

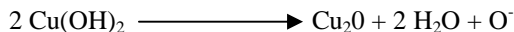
Disakarida dan polisakarida dapat dihidrolisis dengan asam kuat menjadi monosakarida dengan terputusnya ikatan glikosida. Reaksi dehidrasi terhadap monosakarida menghasilkan turunan furfural yang dapat bereaksi dengan senyawa tertentu menghasilkan senyawa berwarna.

Monosakarida seperti glukosa dan fruktosa, termasuk kelompok gula yang memiliki gugus aldehid atau keton yang mempunyai kemampuan mereduksi.

Glukosa mempunyai gugus aldehid (CHO) yang mempunyai daya mereduksi senyawa-senyawa tertentu seperti oksida-oksida logam dengan mengusir oksigennya; reaksi berlangsung seperti berikut



Bila di dalam tabung yang berisi senyawa-senyawa tersebut terdapat gula pereduksi, kemudian dididihkan, maka $Cu(OH)_2$ (hidroksida kupri) akan diubah menjadi oksida kupro (Cu_2O), suatu endapan berwarna merah jingga agak kekuningan; selain itu juga terjadi pengeluaran oksigen:



Sukrosa dan maltosa merupakan disakarida. Maltosa termasuk ke dalam gula pereduksi sedangkan sukrosa tidak, karena tidak memiliki gugus aldehid atau keton yang bebas untuk dapat mereduksi logam. Bila sukrosa dihidrolisis oleh asam, akan diubah menjadi dua monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa, yang kedua-duanya merupakan gula pereduksi.

2. Protein

Protein merupakan bahan makanan yang esensial bagi semua organisme. Protein dalam tubuh merupakan komponen struktural maupun fungsional. Senyawa ini berada dalam plasma, otot dan pada berbagai jaringan sebagai komponen struktural dan sebagai komponen fungsional dalam bentuk enzim. Protein dibangun oleh 20 macam asam-asam amino. Kekhususan protein bergantung pada susunan dan jumlah asam-asam amino. Asam amino saling terikat membentuk protein melalui ikatan peptida.

3. Lemak

Lemak dan asam lemak larut dalam pelarut organik seperti etanol dan eter. Bila ditetaskan pada selembar kertas akan meninggalkan bintik berminyak. Lemak membentuk emulsi bila dikocok dengan air. Bila lemak dihidrolisis, akan menghasilkan gliserol dan asam-asam lemak. Suatu pengujian lemak yang penting adalah penentuan nilai penyabunan. Bila lemak dan minyak dipanaskan dengan alkali, akan terbentuk **sabun**. Proses hidrolisis lemak dengan OH^- dikenal sebagai saponifikasi; pada proses ini terbentuk ion karboksilat yang dengan adanya kation akan membentuk sabun.

Lemak jenuh tidak mudah teroksidasi, sedang **lemak tidak jenuh** lebih mudah dioksidasi. Bila lemak dibiarkan selama beberapa hari di suatu tempat yang terbuka pada suhu kamar, lemak ini akan menjadi tengik. Keadaan tengik ini (**rancidity**) karena terjadi peroksida (reaksi oksidasi terhadap lemak yang tidak jenuh). Oksidasi terjadi pada ikatan rangkap, hingga terputus dan terbentuk aldehid. Oksidasi ini berlanjut hingga terbentuk asam-asam lemak. Lemak yang tengik memiliki rasa tidak enak untuk dimakan dan agak toksik.

Prinsip - umum.

Asam lemak tidak jenuh berbeda dari yang jenuh dalam hal kandungan ikatan rangkap di dalam molekulnya. Asam lemak tak jenuh mampu mengikat Iod pada ikatan rangkapnya.

Nilai Iod (**Iodine number**) menunjukkan jumlah asam lemak tak jenuh yang terdapat dalam suatu lemak. Nilai ini dinyatakan dalam jumlah gram Iod yang terikat pada 100 g lemak. Nilai Iod merupakan uji untuk menentukan derajat ketidakjenuhan. Jumlah Iod yang dapat diikat lemak ditentukan dengan menitrasi Iod yang dilepaskan; titrasi menggunakan larutan baku tiosulfat.

Setelah melakukan praktikum ini Anda diharapkan mampu untuk:

1. mendeteksi karbohidrat atau gula;
2. membedakan disakarida dengan mono sakarida;
3. mendeteksi polisakarida;
4. mendeteksi protein;
5. mendeteksi asam amino secara umum atau tirosin khususnya;
6. mendeteksi lemak/minyak;
7. melaksanakan pembuatan sabun dari lemak; dan
8. menentukan nilai keasaman dan nilai Iod suatu lemak.

A. PERCOBAAN KUALITATIF KARBOHIDRAT

1. Karbohidrat (poli -, di -, mono-sakarida)

Alat-alat

Peralatan yang digunakan dalam percobaan ini adalah: penangas air (*water bath*), alat penggerus; tabung reaksi, beberapa pipet tetes.

Bahan-bahan

- a. Senyawa kimia yang dipakai: pereaksi Benedict; larutan CuSO_4 1%; α -naphthol; etil alkohol;
- b. asam sulfat pekat; larutan Fehling A dan Fehling B;
- c. larutan NaOH 20%; pereaksi Anthrone; larutan Iod;
- d. larutan HCl pekat; pereaksi Barfoed; pereaksi Molisch.
- e. Bahan karbohidrat, yang dipakai adalah: larutan glikogen 1%; sukrosa (gula pasir); glukosa; larutan kanji (pati) 1%.

a. *Uji Umum Karbohidrat*

Cara kerja

1) Uji Molisch

- a. Larutan glikogen (\pm 2 ml) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 2-3 tetes larutan α naftol (larutan 5% α -naftol dalam etanol). Selanjutnya, posisi tabung diletakkan agak miring
- b. Dengan menggunakan pipet tetes lain tambahkan 2 tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat (!) secara hati-hati melalui sisi tabung.
Tabung jangan dikocok.
Hati-hati: asam sulfat pekat dapat "membakar" pakaian dan kulit Anda.
- c. Perhatikanlah sekarang terdapat dua lapis larutan.
- d. Langkah berikutnya, tabung dijepit di antara dua telapak tangan. Kemudian kedua telapak tangan digerakkan dengan arah berlawanan beberapa kali sehingga tabung berputar-putar dan kedua permukaan larutan tercampur.
- e. Terbentuk cincin ungu muda pada lapisan pertemuan kedua larutan, yang menunjukkan adanya karbohidrat.

2) Uji Anthrone

- a. Masing-masing sebanyak 2ml larutan 1% glukosa, sukrosa dan glikogen dituangkan ke dalam tabung reaksi
- b. Ke dalam setiap tabung ditambahkan 1 ml pereaksi anthrone dan dikocok
- c. Warna larutan menjadi hijau kebiruan. Hal ini menunjukkan di dalam larutan terdapat gula.

b. *Uji Spesifik untuk Gula Pereduksi.*

1) Uji Benedict

- a. Masukkan larutan glukosa 1% sebanyak 2 ml di dalam tabung kemudian ditambah pereaksi Benedict sebanyak 5 ml.
- b. Tabung dididihkan selama 2 menit dalam penangas air (**water bath**).
- c. Bila endapan merah atau kuning terbentuk berarti larutan di dalam tabung mengandung gula pereduksi; dalam hal ini adalah glukosa.

2) Uji Fehling

- a. Larutan Fehling A dan Fehling B dicampur dengan perbandingan volume yang sama.
- b. Larutan campuran tersebut sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lain dan ditambah larutan glukosa 1% sebanyak 1 ml. Isi tabung dikocok dan dididihkan dalam penangas air.
- c. Terbentuknya endapan merah oksida kupro di tabung menunjukkan adanya gula pereduksi. Gula dioksidasi oleh tembaga bervalensi dua; sebaliknya, tembaga direduksi menjadi tembaga bervalensi satu.

c. Uji untuk Disakarida

1) Uji Benedict untuk Sukrosa

- a. Masukkan larutan 1 % sukrosa sebanyak 5 ml di dalam tabung kemudian ditambahkan pereaksi Benedict sebanyak 2 ml.
- b. Selanjutnya larutan campuran ini dididihkan selama 2 menit. Endapan tidak terjadi.
Tes berikutnya:
- c. 5 ml larutan Sukrosa ditambahkan setetes HCl pekat (**hati-hati asam pekat**) dan dididihkan selama beberapa menit,
- d. Selanjutnya, larutan dinetralkan dengan penambahan setetes NaOH 20 %.
- e. Terhadap larutan tersebut dilakukan tes Benedict (mengikuti prosedur percobaan b.1).
- f. Bila pada tes kali ini terjadi endapan merah, berarti sukrosa telah diurai menjadi monosakarida.

2) Uji Barfoed

Tes Fehling merupakan tes spesifik untuk monosakarida dan gula pereduksi lainnya. Tetapi tes Barfoed dipakai untuk membedakan antara monosakarida dengan disakarida. Tes ini berdasarkan pada perbedaan kecepatan reaksi dengan tembaga asetat dalam asam asetat.

- a. Siapkanlah air mendidih pada penangas air. Siapkan pula jam tangan untuk mencatat waktu-reaksi.
- b. Masukkan larutan glukosa, sukrosa dan maltosa masing-masing dengan kadar 1% sebanyak 5 ml kemudian ditambahkan pereaksi Barfoed sebanyak 5 ml, pula.

- c. Ketiga tabung ditempatkan ke dalam penangas air (berisi air mendidih) selama 30 menit.
 - d. Bila terjadi endapan merah kekuningan dalam waktu 2 hingga 5 menit, berarti di tabung terdapat monosakarida
 - e. Pada tabung yang berisi maltosa, akan terjadi endapan sedikit dalam waktu lebih lama. **Catatlah pada menit keberapa endapan mulai tampak.**
 - f. Pada tabung yang berisi sukrosa, mestinya tidak akan terjadi endapan.
- d. *Uji untuk Kanji*
- 1) Uji Iod
 - a. Larutan kanji 1 % dituangkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml dan ditambah 0,5 ml larutan Iod.
 - b. Larutan selanjutnya diencerkan dengan aquades.
 - c. Bila larutan berwarna biru merupakan hasil tes positif untuk kanji.
 - 2) Hidrolisis kanji
 - a. Terhadap 5 ml larutan kanji ditambahkan 0,5 ml HCl pekat dan dididihkan menggunakan penangas air selama 5 menit.
 - b. Setelah didinginkan, larutan dinetralkan dengan penambahan dua tetes NaOH.
 - c. Selanjutnya ditambahkan 5 ml larutan Benedict dan dididihkan selama 3 menit dalam penangas air. Endapan berwarna merah atau jingga akan timbul. Pada tes ini kanji dihidrolisis oleh asam, mengubah kanji menjadi beberapa maltosa.

B. UJI KUALITATIF PENENTUAN PROTEIN

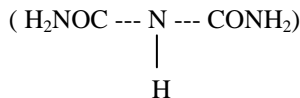
1. **Alat-alat.** Tabung reaksi; Penangas air; Gelas ukur 10 ml.
2. **Bahan atau pereaksi:** KOH 20%;
CuSO₄ 1%;
NaOH 0,5%;
Ninhidrin 0,1% (dibuat segar);
pereaksi Millon (Lampiran O);

BSA (Bovine serum albumin) 0,2 % (dibuat segar);
asam amino (0,2% glisin dan alanin).

3. Cara Kerja

a. Uji Biuret

- 1) Terhadap larutan albumin sebanyak 2 ml di dalam tabung ditambahkan KOH 20% sebanyak 1 ml
- 2) Larutan campuran diaduk dan ditambah dua tetes CuSO_4 1%
- 3) Larutan akan berwarna ungu muda yang disebabkan oleh terbentuknya senyawa Biuret.



Senyawa biuret

b. Uji Ninhidrin

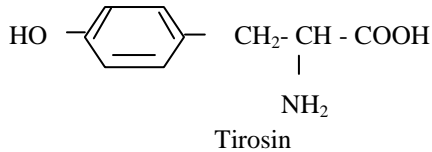
- 1) Larutan glisin sebanyak 2 ml bersama dengan 0,5 ml larutan Ninhidrin, dipanaskan dalam penangas air yang berisi air mendidih
- 2) Setelah itu tabung didinginkan
- 3) Warna larutan menjadi ungu muda yang menunjukkan adanya asam amino. Tes ini merupakan uji yang sangat peka untuk asam amino.

c. Uji Xanthoprotein.

- 1) Siapkan larutan albumin sebanyak 1 ml di dalam tabung reaksi.
- 2) Asam nitrat (HNO_3) pekat dituangkan (hati-hati asam pekat) sekitar 3 ml pada gelas ukur berukuran 10 ml
- 3) Pindahkan (menggunakan pipet tetes) asam nitrat sebanyak 0,5 ml ke tabung berisi larutan albumin.
- 4) Warna larutan menjadi kuning
- 5) Lalu tabung dididihkan di dalam penangas air setelah didinginkan, ditambah beberapa tetes NaOH hingga larutan menjadi basa
- 6) Warna kuning larutan asal berubah menjadi jingga. Tes ini merupakan pengujian untuk radikal benzenoid yang mengalami nitrasi.

d. *Uji Millon*

- 1) Terhadap 1 ml larutan albumin ditambahkan 3-4 tetes pereaksi Millon (pereaksi Millon berisi HNO_3 dan $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$), karenanya harus diperlakukan dengan sangat hati-hati.
- 2) Tabung dididihkan perlahan-lahan (hati-hati) dalam penangas air
- 3) Endapan kuning akan terbentuk (kompleks Hg-protein), yang akan berubah menjadi merah dengan pemanasan secara perlahan. Hal ini merupakan reaksi positif yang menunjukkan adanya gugus hidroksil pada cincin bensen (spesifik untuk tirosin).

**C. UJI KUALITATIF LEMAK****1. Percobaan 1: Uji Kualitatif Penentuan Lemak Dan Asam Lemak***Peralatan*

Tabung-tabung reaksi

Pereaksi:

- a. NaOH atau KOH 10%;
- b. minyak olive;
- c. asam stearat.

Cara kerja

(a) Pengemulsian

1. Minyak kelapa (± 2 tetes) di dalam tabung reaksi dicampur dengan air (2 ml) dan dikocok kuat-kuat.
2. Dari hasil pengocokan akan diperoleh emulsi putih susu.

(b) Uji kelarutan minyak

1. Terhadap ether (5 ml) di dalam tabung reaksi ditambahkan beberapa tetes minyak lalu dikocok kuat-kuat. Setelah beberapa saat terlihat bahwa minyak telah larut seluruhnya.

2. Selanjutnya ke dalam tabung ditambahkan air sebanyak 5 ml. Isi tabung dikocok lagi. Cairan di dalam tabung akan tampak putih susu, berarti terjadi emulsi.
- (c) Saponifikasi
1. Minyak dalam tabung sebanyak 1 ml ditambah larutan KOH sejumlah volume yang sama
 2. Isi tabung dididihkan selama beberapa menit lalu ditambah lagi air sebanyak 5 ml dan dididihkan kembali.
 3. Setelah itu dibiarkan dingin.
 4. Larutan di dalam tabung tampak berbusa seperti sabun. Hasil ini menunjukkan hasil saponifikasi.

2. Percobaan 2: Menentukan Nilai Keasaman Lemak.

Peralatan

1. Buret berskala dengan kapasitas 50 ml;
2. beaker 100 ml;
3. Lempeng pemanas (listrik).

Pereaksi

1. Larutan KOH 0,1 N;
2. pelarut (ether: alkohol 90% = 1:1);
3. fenolftalein 1% dalam etanol.

Bahan

Mentega

Cara kerja

- a. Ambillah beberapa sendok mentega dan tempatkan di mangkok terbuka hingga tengik (beberapa hari).
- b. Selanjutnya sediakan mentega yang masih baik dan mentega yang telah tengik masing-masing seberat 10 mg, di dalam beaker. Kedua beaker diletakkan di atas pelat pemanas hingga mentega meleleh.
- c. Ke dalam setiap beaker ditambahkan pelarut (ether : alkohol 90% = 1 : 1) sebanyak 50 ml dan diaduk dengan sempurna
- d. Tambahkan setetes fenolftalin ke setiap adukan tadi.
- e. Selanjutnya, larutan KOH 0,1 N diisikan ke buret.
- f. Larutan lemak tadi dititrasikan dengan KOH hingga warna merah muda mulai tampak.

- g. Pada saat terjadi perubahan warna ini, lakukanlah pencatatan jumlah (volume) KOH yang terpakai
- h. Bila KOH diteteskan terus maka warna larutan akan segera menjadi kuning, ini berarti titik akhir titrasi telah terlewat atau penambahan KOH terlalu banyak.
- i. Hasil titrasi pada mentega segar maupun mentega tengik, dicatat.
- j. Keadaan atau kadar tengik suatu lemak ditentukan oleh asam lemak yang terbentuk.
- k. Nilai keasaman lemak adalah jumlah (mg) KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam bebas yang terkandung dalam 1 g lemak.

3. Percobaan 3: Menentukan Nilai Iod Lemak (Iodine Number).

Peralatan

Tabung Erlenmeyer bertutup dengan kapasitas 250 ml;
buret 50 ml.

Pereaksi

1. Minyak (0,2 g/100ml dalam eter atau kloroform);
2. monoklorida-Iod (0,2 molar/1);
3. KI 10%;
4. Na-tiosulfat 0,1 molar;
5. kanji 0,1%;
6. kloroform.

Cara kerja.

- a. Lemak dituangkan sebanyak 10 ml ke dalam erlenmeyer bertutup dan dicampurkan dengan 25 ml larutan monoklorida Iodium; erlenmeyer segera ditutup,
- b. Dikocok kuat-kuat dan diletakkan di tempat gelap selama satu jam. Dapat pula dilakukan dengan membungkus tabung erlenmeyer dengan kertas hitam agar terlindung dari cahaya.
- c. Di dalam tabung erlenmeyer lain, larutan lemak digantikan oleh kloroform sebanyak 10 ml sebagai blanko (pembanding). Kedua erlenmeyer ditutup rapat.
- d. Setelah satu jam, sebanyak 10 ml KI ditambahkan ke dalam tabung berisi campuran lemak, Selanjutnya larutan campuran ini dititrasi terhadap larutan baku tiosulfat, hingga warna larutan menjadi kuning pucat

- e. Selanjutnya larutan kanji sebagai indikator sebanyak 1 ml ditambahkan hingga larutan menjadi biru
- f. Titrasi dilanjutkan hingga warna biru tepat hilang.
- g. Selama titrasi berlangsung, tabung harus selalu dikocok agar larutan di dalamnya tercampur semua.
- h. Titrasi serupa dilakukan pula pada tabung berisi larutan blanko. Setelah hasil kedua titrasi diperoleh, selanjutnya dilakukan penghitungan sebagai berikut:

Larutan tiosulfat terpakai dalam titrasi blanko = x ml

Larutan tiosulfat terpakai dalam titrasi lemak = y ml

Jumlah tiosulfat dipakai untuk bereaksi dengan I_2 = x - y = z

Jumlah I_2 dipakai = 12,69 g/1000 ml

Jumlah lemak dipakai = 0,2 g /100 ml

Jadi, nilai Iodium = z x 12,69/1000 x 100/0,2



LATIHAN

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

- 1) Bagaimana cara pengujian untuk suatu polisakarida?
- 2) Bagaimana cara pengujian untuk membedakan disakarida dari monosakarida?
- 3) Bagaimana cara pengujian terhadap protein?
- 4) Bagaimana cara pengujian suatu asam amino?
- 5) Bagaimanakah proses saponifikasi pada lemak?

Petunjuk Jawaban Latihan

Untuk membantu Anda dalam mengerjakan soal latihan di atas, lihat kembali cara kerja praktikum tentang:

- 1) uji untuk kanji;
- 2) uji umum untuk karbohidrat dan uji untuk disakarida;
- 3) uji Biuret;
- 4) uji Ninhidrin; dan
- 5) saponifikasi pada lemak.



RANGKUMAN

Terdapat tiga kelompok bahan makanan yang memiliki ciri-ciri khusus yang dapat dibedakan dan ditentukan melalui berbagai reaksi kimia. Bahan makanan dapat berada dalam bentuk molekul besar dapat pula dalam bentuk telah terurai. Tepung atau amilum sebenarnya terbentuk oleh serangkaian molekul kecil yaitu monosakarida. Protein dibangun oleh sejumlah besar asam-asam amino yang terikat satu dengan lainnya melalui ikatan peptida. Lemak terdiri dari asam lemak dan gliserol. Molekul-molekul kecil tersebut dapat dideteksi melalui reaksi kimia.



TES FORMATIF 1

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

Petunjuk A : Soal terdiri dari tiga butir soal yang menyatakan sesuatu, **SEBAB**, dan alasan. Perhatikanlah soal dengan seksama.

Pilihlah:

- (A) Jika pernyataan betul, alasan betul dan keduanya menunjukkan hubungan sebab akibat
- (B) Jika pernyataan betul, alasan betul tetapi keduanya tidak menunjukkan hubungan sebab akibat
- (C) Jika pernyataan betul dan alasan salah atau sebaliknya jika pernyataan salah dan alasan betul
- (D) Jika pernyataan dan alasan, keduanya salah

1) Bila minyak dikocok dalam air akan terbentuk emulsi

SEBAB

Minyak hanya larut dalam pelarut lemak yaitu eter

2) Saponifikasi merupakan proses reaksi antara lemak dengan alkali, dengan bantuan pemanasan

SEBAB

Asam lemak yang terurai dari lemak akan membentuk ester dengan kation dari alkali

- 3) Lemak tidak jenuh yang dibiarkan lama di udara terbuka akan menjadi tengik

SEBAB

Lemak tidak jenuh memiliki rasa kurang enak bila dimakan

Petunjuk B: Pilih satu jawaban yang paling tepat !

- 4) Tujuan uji Benedict adalah untuk mendeteksi gula pereduksi di dalam larutan; uji ini dinyatakan positif bila terbentuk endapan
- A. senyawa $\text{Cu}(\text{OH})_2$
 - B. senyawa Cu_2O
 - C. O
 - D. Na_2SO_4
- 5) Protein di dalam bahan makanan tertentu dapat dideteksi melalui uji
- A. Molisch
 - B. Biuret
 - C. Iod
 - D. Barfoed
- 6) Uji Ninhidrin bertujuan untuk mendeteksi dalam suatu larutan suatu senyawa yang tergolong ke dalam
- A. asam amino
 - B. sukrosa
 - C. asam lemak
 - D. minyak

Petunjuk C: Pilihlah

- (A) Jika 1, dan 2 yang betul
 - (B) Jika 1 dan 3 yang betul
 - (C) Jika 2 dan 3 yang betul
 - (D) Jika semuanya betul
- 7) Karbohidrat dapat berbentuk molekul besar maupun molekul kecil, seperti
- 1. maltosa
 - 2. disakarida
 - 3. glikogen

- 8) Monosakarida dapat dideteksi melalui uji
1. Molisch
 2. Benedict
 3. Fehling
- 9) Tujuan uji Molisch, adalah untuk mendeteksi senyawa di dalam larutan yang tergolong ke dalam
1. Polisakarida
 2. Lemak
 3. Glikogen
- 10) Uji Millon bertujuan untuk mendeteksi dalam suatu larutan senyawa
1. Tirosin
 2. Protein
 3. Asam amino

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 1 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 1.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan: 90 - 100% = baik sekali
80 - 89% = baik
70 - 79% = cukup
< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan kegiatan belajar selanjutnya. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

KEGIATAN PRAKTIKUM 2**Enzim Pencernaan**

Enzim adalah suatu protein. Fungsi enzim untuk mempercepat proses penguraian bahan makanan, menjadi molekul-molekul yang dapat diserap di saluran makanan. Dalam melaksanakan fungsinya, enzim dipengaruhi berbagai faktor. Karena Enzim sebagai suatu protein, enzim dapat dinonaktifkan misalnya oleh lingkungan: pH dan suhu yang sangat ekstrim.

Protein mengalami denaturasi dalam lingkungan asam maupun basa kuat. Pada pH optimum, enzim mampu mengurai bahan (substrat) secara maksimum. Pada kedua sisi di luar pH optimum, kecepatan reaksi akan menurun yang menunjukkan adanya hambatan atau penurunan aktivitas enzim pada lingkungan pH yang kurang cocok.

Suhu berpengaruh pula pada kerja enzim, fungsi enzim akan optimum pada suhu yang cocok. Pada suhu lebih dingin fungsi enzim akan menurun, dan pada suhu terlalu tinggi (lebih dari 50 °C) enzim akan rusak. Kerja enzim juga spesifik hanya terhadap substrat tertentu. Kadar substrat dapat juga mempengaruhi aktivitas kerja enzim.

Secara umum pencernaan pada mamalia dimulai sejak makanan dikunyah di mulut dan dibantu dengan enzim yang terdapat pada saliva (air ludah). Pencernaan oleh enzim terjadi juga pada tempat lain yaitu: di dalam lambung, dan di usus. Enzim yang berperan di usus di antaranya berasal dari kelenjar pankreas, enzim dari pankreas disekresikan ke duodenum.

Kanji adalah suatu polisakarida yang berisi unit-unit monosakarida (glukosa). Pada tahap awal hidrolisis amilum dilakukan oleh enzim amilase yang terdapat dalam saliva. Sebagai hasil hidrolisis oleh enzim ini akan terbentuk beberapa unit maltosa. Maltosa merupakan disakarida (dua unit glukosa), suatu gula pereduksi yang dapat mereduksi DNSA (asam Dinitro salisilat) hingga larutan berwarna merah. Akibatnya maltosa akan dioksidasi menjadi asam aldonat. Metode ini digunakan dalam penentuan maltosa yang terbentuk karena hidrolisis.

Untuk percobaan aktivitas enzim dari lambung maupun pankreas, dapat dilakukan dengan membuat ekstrak enzim atau dengan memperoleh dari perusahaan bahan kimia yang menjual ekstrak enzim yang telah siap pakai. Selanjutnya ekstrak ini dicampur dengan bahan makanan (substrat) dan hasil

pencernaannya diuji dengan Metode kualitatif atau kuantitatif (kolorimetri atau spektrofotometri).

Cairan lambung berupa cairan agak bening, disekresikan di lambung yang bersuasana asam. Cairan ini berisi 0,4% NaCl dan garam klorida lain. Keasaman dalam lambung disebabkan oleh HCl. Asam ini disekresikan oleh sel lendir dan sel parietal lambung. Pada cairan lambung terdapat tiga enzim, yaitu pepsin, renin dan lipase. Di dalam lambung, protein dan lemak dihidrolisis sebagian oleh enzim-enzim tersebut.

Cairan pankreas merupakan cairan bersuasana basa. Di dalamnya terdapat ion-ion bikarbonat. Cairan ini disekresikan oleh kelenjar pankreas dan dialirkan ke usus melalui saluran pankreas. Enzim-enzim yang terkandung didalamnya adalah protease, lipase dan amilase. Enzim proteolitik yang utama adalah tripsin, kimotripsin dan karboksipeptidase. Semuanya disekresikan dalam bentuk zimogen (bentuk tidak aktif yang kelak akan diubah menjadi bentuk aktif dengan bantuan enterokinase). Lipase, bagaimanapun juga disekresikan dalam bentuk aktif. Enzim ini memutuskan ikatan ester pada trigliserida. Amilase seperti biasanya mengubah karbohidrat menjadi unit-unit maltosa. Sifat kerjanya seperti amilase saliva.

Setelah melakukan praktikum ini, Anda diharapkan mampu melaksanakan percobaan dan

1. mengamati aktivitas enzim (amilase, proteolitik, lipase);
2. mengukur aktivitas enzim pada berbagai pH medium;
3. mengukur aktivitas enzim pada berbagai kadar substrat;
4. mengukur aktivitas enzim pada berbagai suhu;
5. menjelaskan ciri aktivitas enzim pada lambung mamalia; dan
6. menjelaskan ciri aktivitas enzim dari pankreas.

A. PERCOBAAN AKTIVITAS BERBAGAI ENZIM

1. Percobaan 1: Pengamatan Aktivitas Amilase Pada Saliva Manusia

Peralatan

Tabung-tabung reaksi; beaker 50 ml; termometer; lempeng penguji. Jam tangan atau jam lainnya yang dilengkapi dengan jarum penunjuk detik.
Kain pengikat/pembalut luka

Pereaksi

Larutan kanji 1% (1 gram per 100 ml air destilat); larutan buffer dengan pH 6,8; larutan Iod 0,02 N.

Cara kerja.

Saliva (ludah) manusia mengandung enzim amilase

- a. Persiapan amilase saliva dimulai dengan:
 1. Berkumur dengan air destilasi.
 2. Kemudian mengunyah parafin atau karet penghapus yang bersih, untuk beberapa saat.
 3. Cairan ludah yang ke luar, ditampung ke beaker bersih hingga mencapai jumlah yang diperlukan.
 4. Cairan ludah ini selanjutnya disaring; penyaringan saliva dapat menggunakan satu atau dua lapis kain pembalut luka.
- b. Filtrat yang diperoleh sebanyak 1 ml, diencerkan dengan menambahkan air destilat (aquadest) sebanyak 10 ml.
- c. Larutan kanji 1% dibuat baru.
 1. Tepung kanji (1 gram) dibuat pasta dengan air sedikit, lalu ditambah lagi air destilat panas sebanyak yang diperlukan (100 ml) sehingga tercapai kadar 1%;
 2. Bila perlu dapat dibantu dengan pemanasan untuk melarutkan seluruh kanji, setelah itu didinginkan;
 3. Larutan kanji sebanyak 3 ml dicampur dengan larutan buffer (pH = 6,8) di dalam tabung dan diletakkan pada suhu 37°C (penangas air).
- d. Siapkanlah lempeng uji (**tes plate**) yang telah diberi tetesan Iodium.
- e. Siapkanlah pencatat waktu (jam tangan atau jam lainnya) yang memiliki jarum penunjuk detik. **Catatlah** waktu pada saat pencampuran awal!
- f. Pencampuran-pencampuran berikutnya dilakukan dengan selang satu menit!

Cairan ludah yang sudah diencerkan dituangkan sebanyak 2 ml ke dalam tabung berisi kanji dan larutan buffer. Agar terjadi pengenceran dengan baik maka larutan dapat diaduk dengan bantuan batang pengaduk gelas.

Uji pertama segera dilakukan.

- a. Teteskanlah (satu atau dua tetes) larutan campuran ini pada pelat uji yang telah mengandung Iod dan warna yang terjadi diperhatikan. Batang pengaduk gelas untuk pencampuran larutan jangan ditukar-tukarkan.
Catatan: Jangan menggunakan sebuah batang pengaduk gelas untuk dua keperluan, yaitu untuk meneteskan Iod dan juga untuk mengaduk campuran pada pelat uji.
- b. Larutan Iod yang terbawa ke tabung pencernaan akan menghambat proses pencernaan. Pada penetesan larutan pertama seharusnya menyebabkan larutan Iod menjadi biru. Bila terjadi warna lain (merah atau bahkan kuning) berarti telah terjadi reaksi penguraian amilum oleh enzim sejak awal; **percobaan perlu diulangi!**
- c. Tetesan-tetesan larutan pencernaan berikutnya dilakukan pada setiap waktu tertentu, dengan selang 1 menit untuk setiap tetes. Perhatikan warna yang terbentuk: larutan Iod menjadi ungu, coklat dan seterusnya hingga akhirnya tidak terjadi perubahan warna larutan pada lempeng uji. Waktu yang diperlukan dari saat mulai pencernaan (saat penambahan air ludah pada larutan kanji) hingga tidak menimbulkan lagi perubahan warna pada larutan Iod, dicatat. Waktu ini merupakan perkiraan lamanya pencernaan kanji oleh enzim.
- d. Bila tidak terjadi perubahan warna seperti yang diuraikan di atas, berarti enzim telah rusak selama melakukan persiapan percobaan; **percobaan perlu diulangi!**

2. Percobaan 2: Pengaruh Ph Terhadap Aktivitas Amilase

Peralatan : sama seperti pada eksperimen sebelumnya (percobaan 1)

Pereaksi : sama dan ditambah larutan-larutan buffer dengan pH 5,6; 6,0; 6,4; 6,8; 7,2; 7,6 dan 8,0 (Buffer fosfat Sorensen).

Cara kerja :

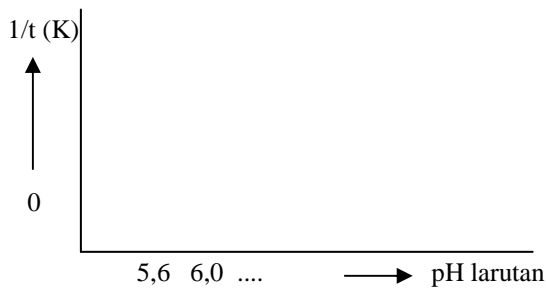
Ekstrak saliva dibuat seperti pada percobaan terdahulu

- a. Prosedur percobaan juga dilakukan seperti pada percobaan 1.1, akan tetapi pada setiap tahap percobaan dilakukan pada pH yang berbeda.
- b. Sehingga akan diperoleh hasil waktu yang diperlukan saliva untuk mengurai kanji pada pH tertentu.
- c. Hasilnya ditabulasikan menurut Tabel 1.1 berikut.

Tabel 1.1

pH	Kecepatan reaksi (t dalam menit)	$1/t = K$
5,6		
6,0		
6,4		
6,8		
7,2		
8,0		

Atas dasar data tersebut di atas dapat dibuat grafik yang menyatakan hubungan antara pH dengan $1/t$ (K).



Gambar 1.1

Dari grafik yang terbentuk dapat ditentukan pH larutan yang memungkinkan aktivitas kerja enzim paling optimal (nilai K terbesar).

3. Percobaan 3: Pengujian Amilase Saliva Dengan Metode Kolorimeter

Peralatan : Spektrofotometer atau kolorimeter yang memiliki filter hijau; penangas air dengan pengatur suhu; tabung-tabung reaksi, termometer, pencatat waktu.

Pereaksi :

- (a) Larutan kanji 1 % (1 g kanji dilarutkan dalam 100 ml 0,02M buffer fosfat pada pH 6,0 dan berisi 0,0067M NaCl).

- (b) Asam dinitrosalisilat (DNSA = Dinitrosalicylic acid) : 1 g 3,5-dinitrosalisilat dalam 20 ml 2N NaOH dan 50 ml air destilat. Selanjutnya 30 g garam rochelle, ditambahkan dan dibuat tepat menjadi 100 ml dengan penambahan air destilat (menggunakan labu ukur). Kontaminasi CO₂ terhadap larutan ini harus dicegah.
- (c) Parafin wax. (Waks lilin)
- (d) Larutan baku maltosa (100 mg/ 100 ml air).

Bahan : Ekstrak saliva disiapkan seperti pada eksperimen terdahulu.

Cara kerja :

- a. Enzim amilase (saliva) disiapkan seperti pada Percobaan 1 yaitu Pengamatan aktivitas Amilase pada Saliva manusia, kemudian diinkubasikan pada suhu 25 °C
- b. Larutan kanji 1 ml diinkubasikan pula pada suhu yang sama.
- c. Siapkanlah pencatat waktu.
- d. Enzim 1 ml dicampur dengan larutan kanji selama tiga menit. Pencampuran ini akan menghasilkan maltosa
- e. Setelah waktu selesai 3 menit reaksi enzim diganggu oleh penambahan pereaksi DNSA sebanyak 2 ml
- f. Segera setelah penambahan pereaksi DNSA, tabung dimasukkan ke dalam air mendidih, selama lima menit
- g. Selanjutnya tabung didinginkan pada pancuran air kran
- h. Larutan di dalam tabung berwarna coklat gelap, menunjukkan terjadinya reduksi pada pereaksi DNSA
- i. Isi tabung ini dituangkan pada beaker kecil (50 ml) dan tambahkan padanya air destilat sebanyak 20 ml
- j. Spektrum adsorpsi (OD) larutan ini diukur pada kolorimeter yang menggunakan filter hijau atau dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang cahaya 540 mμ.
- k. Larutan blanko disiapkan dengan cara yang sama, tetapi tanpa ekstrak enzim. Pada tabung terakhir ini tidak terbentuk warna coklat dan digunakan sebagai larutan blanko (titik nol) pada pengukuran.

Pembuatan kurva baku maltosa

- a. Untuk mengukur jumlah maltosa terbentuk sebagai hasil kerja enzim, maka perlu dibuat kurva kalibrasi menggunakan maltosa dengan kadar-kadar: 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 dan 1 mg/ml air destilat.

- b. Larutan-larutan ini disiapkan sebaik-baiknya dengan pengenceran larutan maltosa baku.
- c. Dengan menggunakan tujuh tabung reaksi, dibuat susunan larutan masing-masing seperti pada Tabel 1.2.

Tabel 1.2.

Jenis bahan	No. Tabung						
	1	2	3	4	5	6	7
Lar. Baku maltosa (ml)	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	0
Air destilat (ml)	2,9	2,8	2,6	2,4	2,2	0,0	1,0
DNSA	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

- a. Jumlah volume di dalam setiap tabung adalah 5ml; larutan, di dalam tabung no. 7 digunakan untuk blanko
- b. Tabung-tabung dipanaskan di dalam penangas air yang berisi air mendidih, selama 5 menit hingga terbentuk warna merah tua
- c. Tabung didinginkan dan larutan diencerkan dengan penambahan air destilat masing-masing sebanyak 20 ml.
- d. Spektrum absorpsi (OD) diukur pada 540 m μ dan hasilnya ditampilkan pada grafik yang menyatakan hubungan antara OD dengan kadar maltosa dalam mg/ml
- e. Selanjutnya kurva ini digunakan untuk menentukan kadar larutan maltosa hasil hidrolisis kanji oleh enzim
- f. Setelah membaca nilai OD larutan tersebut yang diukur pada panjang gelombang yang sama
- g. Aktivitas amilase dinyatakan dalam jumlah (mg) maltosa dihasilkan dalam waktu tiga menit pada suhu 25 °C oleh 1 ml ekstrak enzim

4. Percobaan 4: Pengaruh Kadar Substrat Terhadap Aktivitas Enzim

Peralatan : Sama seperti pada eksperimen sebelumnya.

- Pereaksi* : a. Larutan kanji 1%;
 b. larutan buffer fosfat pH = 6,8;
 c. ekstrak enzim;
 d. pereaksi DNSA.

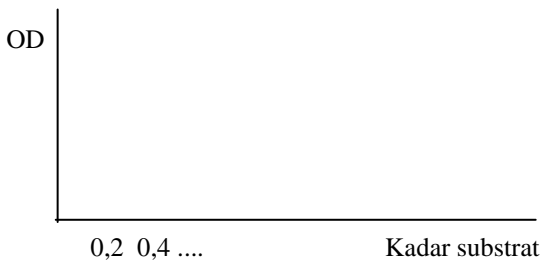
Cara kerja :

Disiapkan enam buah tabung reaksi yang diisi larutan dengan komposisi seperti pada Tabel 1.3 berikut.

Tabel 1.3

Jenis Bahan	No. Tabung					
	1	2	3	4	5	6
Substrat (kanji) (ml)	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,0
Larutan Buffer fosfat (ml)	0,8	0,6	0,4	0,2	0,0	1,0
Enzim (saliva) (ml)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0

- Tabung no. 6 dipakai sebagai blanko
- Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 25 °C selama 3 menit; segera setelah itu aktivitas enzim dihentikan dengan penambahan larutan DNSA sebanyak 2 ml ke dalam setiap tabung.
- Selanjutnya isi tabung dididihkan dalam penangas air, didinginkan dan volume larutan dalam tabung dijadikan 20 ml dengan penambahan air destilat
- Penentuan titik nol pada kolorimeter menggunakan larutan dari tabung no. 6 (blanko);
- Seluruh pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 540 mμ.
- Buatlah kurva yang menyatakan hubungan antara OD hasil pengukuran dengan kadar substrat.



Gambar 1.2.

Dari kurva ini dapat disimpulkan bahwa kerja enzim mencapai tingkat optimal pada kadar substrat tertentu.

5. Percobaan 5 : Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim

Peralatan : Sama seperti percobaan sebelumnya (percobaan 3).

Pereaksi : Sama seperti percobaan sebelumnya (percobaan 3).

Cara kerja :

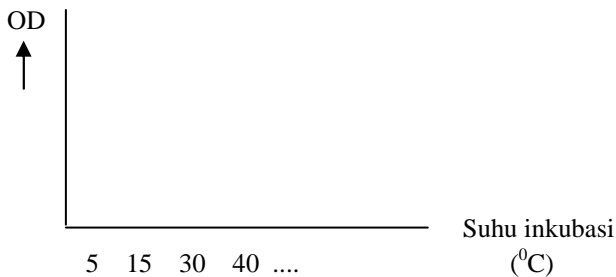
- Sebelum dimulai dengan pembuatan larutan, siapkanlah dahulu beberapa media dengan suhu inkubasi yang diperlukan; untuk suhu dingin diperlukan lemari es atau es batu, sedangkan suhu inkubasi yang lebih tinggi dari 30 °C memerlukan penangas air
- Pasangan bahan yang akan dicampur (substrat dan enzim), masing-masing di dalam tabung terpisah diletakkan pada suhu yang sama (sebelum pencampuran dilaksanakan)
- Disiapkan 12 buah tabung reaksi, 6 tabung untuk substrat dan 6 tabung untuk enzim, disusun seperti tertera pada Tabel 1.4 berikut

Tabel 1.4

Jenis Bahan	No. Tabung					
	1	2	3	4	5	6
Substrat (kanji) (ml)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Enzim	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Suhu (°C)	4	15	30	40	50	>80

- Pasangan tabung no. 1 dimasukkan ke dalam lemari es suhu rendah (4 °C)
- pasangan tabung no.2 masukkan ke dalam lemari es suhu sedang (15 °C) atau di laci bagian bawah yang biasa digunakan untuk penyimpanan sayuran;
- Pasangan tabung-tabung 3, 4 dan 5 dimasukkan ke dalam penangas air yang telah diatur suhunya masing-masing pada, 30° C, 40° C, dan 50° C, selama 3 menit
- Pasangan tabung no. 6 dimasukkan ke dalam air mendidih, juga selama 3 menit. Ketepatan suhu inkubasi hendaknya selalu diperiksa dengan termometer.
- Catatlah waktu pada saat pencampuran pasangan isi tabung dilakukan!**
- Tepat tiga menit (usahakanlah!) setelah pencampuran, DNSA ditambahkan ke setiap tabung sebanyak 2 ml

7. Tabung-tabung diangkat kembali dari penangas air, atau lemari es
8. Selanjutnya dilakukan langkah-langkah seperti pada percobaan terdahulu.
9. Setelah dilakukan pengukuran dengan kolorimeter atau spektrofotometer, dibuat kurva hubungan OD setiap larutan dengan suhu.
10. Berapa suhu optimum untuk kerja enzim ini?



Gambar 1.3

B. PERCOBAAN AKTIVITAS ENZIM PADA ORGAN TERTENTU

1. Percobaan 1 : Pencernaan di Lambung

Peralatan : Tabung-tabung reaksi dan penangas air.

Pereaksi : a. HCl 0,4% dan 0,2%;
 b. NaOH 0,2%;
 c. pepsin 0,75% (dibuat baru);
 d. albumin telur masak.

Bahan : Tikus yang baru dibunuh.

Cara kerja

- 1) Persiapan cairan lambung
 - a. Lambung tikus atau kambing yang baru dibunuh (dari rumah pematogan hewan) diambil sebagian. Lambung dibedah dan lapisan lendirnya (permukaan dalam) dipisahkan, lalu direndam di dalam HCl 0,4% (\pm 5 ml), masukan ke dalam beaker

- b. Beaker berisi lapisan lendir usus ini disimpan pada suhu 37° C selama 24 jam, setelah ditambah beberapa tetes gliserin
 - c. Selanjutnya cairan disaring dan filtrat yang bening (berisi pepsin) akan digunakan dalam percobaan selanjutnya
Catatan: Sebagai pilihan, selain menggunakan potongan lambung, dapat pula menggunakan bubuk pepsin yang dapat dibeli dari penjual bahan kimia.
 - d. Serbuk pepsin seberat 750 mg dilarutkan dalam 0,1 N HCl sebanyak 100 ml. Sebagai substrat protein, dipakai selapis tipis putih telur yang telah masak.
- 2) Pengukuran pH
Cairan, lambung secara alami bersifat asam. Nilai pH-nya dapat diukur dengan indikator kertas pH.
- 3) Pencernaan
- a. Lima buah tabung reaksi berisi larutan tertentu disusun sebagai berikut:
 - a. 5 ml 0,4% HCl
 - b. 5 ml larutan pepsin (0,75%) atau ekstrak cairan lambung dan 5 ml 0,4% HCl.
 - c. 5 ml larutan pepsin dan 5 ml 0,02% HCl.
 - d. 5 ml larutan pepsin dan 5 ml 0,2% NaOH.
 - e. 5 ml larutan pepsin yang telah dididihkan dan 5 ml air.
 - b. Ke dalam setiap tabung dimasukkan sepotong kecil fibrin atau putih telur masak.
 - c. Tabung-tabung dimasukkan ke dalam penangas air dengan suhu 40° C
 - d. Tabung direndam selama 1 - 1,5 jam, sambil sekali-sekali dikocok

Keadaan dalam tabung diamati dengan cermat, ternyata bahwa di dalam tabung no. b; putih telur akan mengembang dan kemudian larut; menunjukkan adanya pencernaan. Tabung no. e digunakan sebagai kontrol. Pada tabung-tabung lain tidak tampak tanda-tanda terjadinya pencernaan. Mengapa demikian?

2. Percobaan 2: Pencernaan oleh Pankreas

Peralatan

Tabung-tabung reaksi
penangas air.

Pereaksi

- a. Pankreatin; larutan tripsin 1%;
- b. minyak dalam suasana netral;
- c. indikator warna merah fenol (phenol red);
- d. larutan kanji 2% dalam 0,04 g NaCl dalam buffer fosfat pada pH 6,4;
- e. maltosa 1%; larutan Iod;
- f. larutan Na_2CO_3 3,5%.

Bahan : Pankreas yang baru diambil dari seekor tikus atau babi atau domba.

Cara Kerja

- a. Cairan yang mengandung enzim dapat diekstrak dari pankreas segar. Jaringan lemak yang tampak melekat pada kelenjar pankreas harus secepatnya dibuang.
- b. Pankreas dihancurkan dalam blender atau digerus dengan alu porselin.
- c. Penggerusan dilakukan dalam beberapa tetes air destilasi dingin dan dicampur dengan pasir yang telah dicuci bersih
- d. Ekstrak selanjutnya disaring dengan kain halus dan dapat disimpan di lemari es bila tidak akan segera digunakan
- e. Untuk menghindarkan terjadinya pembusukan dapat ditambah beberapa tetes kloroform atau toluen.

Catatan : Pankreatin, bahan siap pakai yang dijual di penyalur bahan kimia juga dapat digunakan, bila ekstrak segar untuk percobaan lipase dan amilase pankreas tidak tersedia. Sedangkan untuk percobaan penguraian protein oleh enzim proteolitik dari pankreas dapat menggunakan tripsin siap pakai yang juga di jual di penyalur bahan kimia.

a. *Lipase pankreas*

- 1) Disiapkan larutan pankreatin 5 % (5 g pankreatin dalam 100 ml air destilat) atau ekstrak pankreas yang diperoleh menurut prosedur seperti dijelaskan di atas.
- 2) Disiapkan minyak netral (minyak olive).
- 3) Siapkan juga tiga buah tabung reaksi dengan komposisi masing-masing seperti tercantum pada Tabel berikut.

Tabel 1.5.

No Tabung	Jenis Bahan (ml)		
	Minyak netral	Ekstrak pankreas	Air destilat
1	0,5	5	4,5
2	0,5	5	4,5
3	0,5	0	9,5

1. Beberapa tetes merah fenol ditambahkan ke setiap tabung. Tabung dikocok. Setelah penambahan pewarna merah fenol, isi tabung akan berubah menjadi merah muda.
2. Selanjutnya, tabung no. 2 dididihkan (enzim dirusak) selama beberapa menit, kemudian bersama tabung-tabung lainnya ditempatkan ke dalam penangas air dengan suhu 37° C selama dua jam.
3. Larutan di dalam tabung no. 1 berubah menjadi kuning, menunjukkan adanya pencernaan lemak. Pada tabung lain tidak terjadi perubahan warna. Mengapa ?
4. Hasil yang lebih baik akan diperoleh, bila tabung-tabung dibiarkan dalam penangas air dalam waktu lebih lama.

b. *Aktivitas Amilase.*

1. Larutan, pankreas sebanyak 2 ml dituang ke dalam tabung dan ditambah larutan kanji sebanyak 5 ml (pH dibuat 6,4 dengan larutan buffer).
2. Ke dalam tabung lain dimasukkan larutan pankreas yang telah dididihkan sebanyak 2 ml dan larutan kanji sebanyak 5 ml (kontrol).
3. Kedua tabung ditempatkan ke dalam penangas air dengan suhu 37 °C.

4. Setelah satu jam, dilakukan pengujian isi tabung.
5. Satu atau dua tetes isi tabung dicampurkan dengan larutan Iod hingga kanji diurai (tampak pada campuran dengan larutan Iod, tidak terjadi perubahan warna). Isi tabung larutan kontrol akan selalu menimbulkan warna biru dengan Iod.
6. Bila warna biru tidak terjadi lagi, berarti titik akromatis telah tercapai, menunjukkan bahwa kanji telah terurai semua.
7. Seluruh tabung dikeluarkan dari penangas air
8. Terhadap setiap isi tabung dilakukan uji Benedict untuk menentukan adanya gula pereduksi
9. Ke dalam setiap tabung ditambahkan beberapa tetes larutan Benedict (percobaan karbohidrat)
10. Tabung dipanaskan dalam penangas air
11. Timbulnya endapan merah coklat di dasar tabung, menandakan telah terbentuk gula pereduksi maltosa di dalam tabung.
12. Di dalam tabung no. 2 tidak akan terbentuk endapan merah coklat.

c. *Aktivitas tripsin*

1. Dibuat larutan tripsin 1% dari bahan bubuk tripsin yang diperoleh dari penyalur bahan kimia.
2. Selanjutnya disusun tiga buah tabung reaksi masing-masing dengan isi sebagai berikut.
 - a. Larutan tripsin 5 ml, air destilat 4 ml, dan 0,5% Na_2CO_3 1 ml;
 - b. Larutan tripsin 5 ml, 0,4% HCl 4 ml dan 0,5% Na_2CO_3 1 ml;
 - c. Larutan tripsin 5 ml (telah dipanaskan terlebih dahulu) dan air destilat 5 ml.
3. Sepotong kecil albumin dimasukkan ke dalam setiap tabung
4. Selanjutnya setiap tabung dimasukkan ke dalam penangas air bersuhu 40° C
5. Tabung-tabung dikocok sesekali.
6. Setelah sekitar satu jam pada tabung akan terlihat bahwa albumin telah habis.

Mengapa di dalam tabung-tabung lain tidak terjadi pencernaan? Bagaimanakah hal ini dapat dijelaskan?



LATIHAN

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

- 1) Bagaimanakah pengaruh pH terhadap aktivitas enzim?
- 2) Bagaimanakah pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim?
- 3) Apakah kadar substrat mempengaruhi aktivitas kerja enzim?
- 4) Bahan makanan kelompok apa (protein, lemak, karbohidrat) yang dapat diurai dihidrolisis di lambung mamalia? Jelaskan alasannya!
- 5) Bahan makanan kelompok apa yang dapat dihidrolisis oleh enzim dari pankreas mamalia?

Petunjuk jawaban Latihan

Untuk membantu Anda dalam mengerjakan soal latihan tersebut, baca kembali teori dan hasil praktikum tentang:

- 1) pengaruh pH terhadap aktivitas kerja enzim;
- 2) pengaruh suhu terhadap aktivitas kerja enzim;
- 3) pengaruh kadar substrat terhadap aktivitas kerja enzim; dan
- 4) aktivitas enzim pada organ tertentu.



RANGKUMAN

Penguraian bahan makanan selain dilakukan secara mekanis, juga dilakukan dengan bantuan enzim (secara kimia). Enzim, yang sebenarnya adalah juga suatu protein, yang aktivitas kerja dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu suhu, pH dan kadar substrat. Aktivitas enzim dapat diukur atas dasar waktu kerja atau jumlah bahan yang dapat diurai dalam waktu tertentu. Pada suhu optimum, aktivitas enzim paling baik; bila diukur dari waktu penguraian suatu bahan, maka pada suhu tersebut waktu yang diperlukan untuk menghidrolisis adalah waktu tersingkat bila dibandingkan dengan hasil kerjanya pada suhu-suhu lain (suhu lebih rendah atau lebih tinggi).

Selain suhu, aktivitas enzim juga dipengaruhi pH medium. Saluran pencernaan memiliki pH berbeda-beda; karenanya enzim yang berfungsi didalamnya juga berlainan; enzim tertentu hanya berfungsi pada suasana pH tertentu pula.

Ciri khas enzim lainnya adalah substrat yang juga spesifik. Enzim pengurai lemak berbeda dari pengurai protein, berbeda pula dari pengurai karbohidrat. Selain itu, kadar substrat yang akan diurai juga mempengaruhi aktivitas kerja enzim.



TES FORMATIF 2

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

Petunjuk A : Soal terdiri dari tiga bagian, yaitu pernyataan, kata **SEBAB** dan alasan yang disusun berurutan.

Pilihlah:

- (A) Jika pernyataan betul, alasan betul dan keduanya menunjukkan hubungan sebab akibat
- (B) Jika pernyataan betul, alasan betul akan tetapi keduanya tidak menunjukkan hubungan sebab akibat
- (C) Jika pernyataan betul dan alasan salah atau sebaliknya
- (D) Jika pernyataan dan alasan, keduanya salah

- 1) Percobaan enzim lipase yang diperoleh dari pankreas manusia akan lebih baik bila dilakukan pada suhu 37 °C

SEBAB

Enzim yang diuji berasal dari organisme dengan suhu tubuh 37 °C

- 2) Pengujian kerja enzim amilase dari saliva akan lebih baik bila dilakukan pada pH 6,0

SEBAB

Saliva mulut memiliki suasana asam

- 3) Penguraian protein hanya terjadi di lambung yang berisi cairan lambung yang asam

SEBAB

Untuk mengurai protein dengan pepsin pH medium harus bersifat asam

Petunjuk B : Pilih satu jawaban yang paling tepat!

- 4) Penguraian karbohidrat tahap awal dilakukan di mulut secara mekanis (dikunyah) dan juga dengan bantuan saliva yang merupakan enzim
- lipase
 - amilase
 - peptidase
 - sukrose
- 5) Kerja enzim dipengaruhi pH, percobaan hidrolisis amilum oleh enzim pada saliva manusia akan berlangsung lebih singkat bila dilakukan pada pH
- 6,0
 - 6,4
 - 6,8
 - 7,2
- 6) Pada percobaan enzim proteolitik dari lambung dapat menunjukkan hasil yang positif bila
- dibantu HCl pekat
 - suhu percobaan pada 40 °C
 - pH medium agak asam (5,0)
 - protein sebagai substrat

Petunjuk C: Pilihlah

- (A) Jika 1 dan 2 yang betul
(B) Jika 1 dan 3 yang betul
(C) Jika 2 dan 3 yang betul
(D) Jika semuanya betul
- 7) Protein dapat dihidrolisis pada beberapa bagian saluran pencernaan yaitu
- lambung
 - usus besar
 - duodenum
- 8) Protein dapat diurai oleh beberapa macam enzim, antara lain
- karboksipeptidase
 - zimogen
 - tripsin

- 9) Kerja enzim terhadap substrat, bersifat spesifik misalnya enzim karboksipeptidase akan menghidrolisis
1. protein
 2. maltosa
 3. albumin
- 10) Amilum yang dihidrolisis oleh saliva akan terurai membentuk:
1. disakarida
 2. monosakarida
 3. maltosa

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 2 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan: 90 - 100% = baik sekali
80 - 89% = baik
70 - 79% = cukup
< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan modul selanjutnya. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

Kunci Jawaban Tes Formatif

Tes Formatif 1

- 1) B
- 2) A
- 3) C
- 4) B
- 5) B
- 6) A
- 7) D
- 8) C
- 9) B
- 10) B

Tes Formatif 2

- 1) A
- 2) D
- 3) C
- 4) B
- 5) C
- 6) D
- 7) B
- 8) B
- 9) B
- 10) B

Daftar Pustaka

Rastogi, S.C. (1982). *Experimental Physiology*. Wiley Eastern Limited. New Delhi.

Panduan Praktikum Khusus untuk Instruktur

BAHAN MAKANAN DAN ENZIM PENCERNAAN

Modul praktikum Fisiologi hewan memuat percobaan untuk mengamati berbagai proses faal yang terjadi pada organisme hidup. Bila mahasiswa yang akan melakukan kegiatan praktikum bahan makanan dan enzim pencernaan sudah melakukan kegiatan praktikum sejenis ini pada praktikum Biologi Kimia maka tidak wajib melakukannya lagi dalam praktikum Fisiologi Hewan. Percobaan dilakukan terhadap organ atau jaringan atau produk jaringan maupun organ tertentu, yang telah diisolasi dan berada terpisah dari tubuh (**in vitro**) atau terhadap organ yang masih berada pada tubuh hewan percobaan (**in vivo**) maupun terhadap hewan secara keseluruhan. Teori yang mendasari percobaan yang dilakukan disertakan secara singkat sebagai latar belakang atau pendahuluan pada setiap percobaan. Selain itu seyogianya Anda mempelajari juga modul teori yang berkaitan dengan percobaan yang akan dilakukan Modul 1 dan Modul 2. Bagi yang berminat untuk mendalami teori dari suatu percobaan dapat menelusuri acuan yang ada pada akhir panduan praktikum.

Sasaran percobaan akan dapat dicapai bila mengikuti prosedur kerja secara cermat, sejak dari cara pengambilan bahan uji, pengamatan dan pencatatan hasil percobaan hingga mengevaluasi data yang diperoleh. Untuk pengamatan atau pencatatan proses faal, seringkali diperlukan bantuan peralatan. Untuk menggunakan peralatan, diperlukan kemahiran dan keterampilan pelaksana percobaan dalam menangani alat yang diperlukan. Seyogianya seorang pelaksana percobaan (praktikan) telah melakukan latihan menggunakan alat yang diperlukan dalam suatu percobaan. Kalibrasi suatu alat sering kali harus dilakukan, sebelum dapat digunakan untuk setiap rangkaian pengukuran dalam percobaan. Bila menggunakan alat dalam suatu percobaan tanpa memahami benar cara penggunaannya akan mengaburkan hasil percobaan.

Kebersihan dan kerapian dalam menangani suatu alat akan sangat membantu dalam pemeliharaan alat, sehingga dapat memperpanjang umur manfaat suatu alat. Alat yang masih baik akan memperlancar pelaksanaan

percobaan. Sebaliknya suatu percobaan yang menggunakan alat yang tidak terpelihara akan diperoleh hasil pengamatan yang meragukan.

Setelah melaksanakan praktikum Bahan Makanan dan Enzim Pencernaan kepada mahasiswa asuhan/bimbingan Anda diharapkan mampu:

1. membedakan tiga bahan pokok makanan dengan uji kimia;
2. menjelaskan fungsi dan hasil urai enzim pencernaan;
3. menjelaskan pengaruh pH, substrat dan suhu terhadap aktivitas kerja enzim.

A. ISI POKOK PRAKTIKUM

Modul praktikum ini dibagi ke dalam tiga modul yang terdiri dari:'

Modul 1 : berisi percobaan mengenai bahan makanan (karbohidrat, protein dan lemak), dan enzim pencernaan.

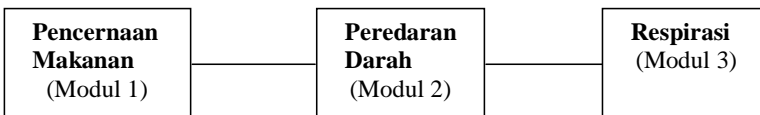
Modul 2 : berisi percobaan mengenai darah dan ciri-cirinya.

Modul 3 : berisi percobaan mengukur aktivitas pernapasan pada hewan air dan hewan terestrial.

Modul ini juga dilengkapi beberapa lampiran yang terdapat di akhir modul ini.

B. DIAGRAM KETERKAITAN

Hubungan antara jenis percobaan sesuai dengan kaitan antara sistem yang terdapat pada organisme hidup. Hasil pencernaan pada saluran makanan akan diserap oleh sistem peredaran. Distribusi bahan-bahan yang diserap, dilakukan melalui sistem peredaran darah. Sistem peredaran sangat berperan pada respirasi makluk hidup. Pengangkutan oksigen dan karbondioksida dilaksanakan dengan bantuan peredaran darah.



Bagan 1. Hubungan modul-modul percobaan/praktikum

Beberapa hal yang perlu diperhatikan sebelum melakukan percobaan pada praktikum fisiologi maka perlu sekali memperhatikan beberapa hal

1. Penanganan Hewan

Percobaan fisiologi seringkali bergantung pada keadaan atau kondisi hewan percobaan. Karenanya, penanganan hewan untuk percobaan merupakan bagian yang amat penting dalam seluruh proses percobaan.

Hewan untuk percobaan fisiologi dapat diperoleh dari suatu peternakan atau sumber lain yang melakukan cara pemeliharaan atau pembiakan yang baik. Kadang-kadang hewan percobaan yang diperlukan dapat saja diperoleh (dibeli) dari pasar hewan atau dari hasil penangkapan di kebun.

Bila diperlukan penyimpanan sementara di laboratorium, hendaknya menggunakan sangkar yang sesuai. Sangkar memiliki luas yang cukup untuk ukuran hewan percobaan hingga hewan percobaan mudah bergerak dan cukup ventilasi. Bila sangkar digunakan berulang-kali hendaknya dibersihkan. Penyimpanan sementara bila mungkin menggunakan sangkar khusus untuk jenis hewan tertentu. Hewan harus diperlakukan dengan hati-hati; pemberian pakan dengan komposisi bahan yang sesuai bagi keperluannya, dilakukan secara teratur.

Selanjutnya ruang tempat sangkar hendaknya memiliki lantai yang mudah dibersihkan. Ruang tersebut sebaiknya mendapat penyiaran yang cukup dan memiliki sistem sirkulasi udara (ventilasi) yang baik.

2. Pemeliharaan Alat Laboratorium

Keberhasilan suatu percobaan yang menggunakan peralatan bergantung pada kondisi alat tersebut. Kondisi peralatan bergantung pula pada penanganan atau cara pemakai (menggunakan peralatan. Segera setelah selesai suatu percobaan, alat hendaknya segera dicuci atau dibersihkan dan dikeringkan; selanjutnya dirapikan kembali pada tempat yang sesuai. Tetesan senyawa kimia pada alat yang mengandung logam harus dibersihkan dengan kain basah dan segera dilap lagi hingga kering. Kelembaban pada umumnya dan larutan fisiologis atau larutan kimia tertentu mudah sekali menyebabkan karat pada peralatan yang mengandung logam. Bila diketahui adanya kelainan pada alat yang sedang digunakan segeralah menghubungi teknisi. Menangani dan menggunakan alat dengan baik berarti membantu memelihara dan menambah daya guna alat tersebut maupun laboratorium secara keseluruhan. Selanjutnya akan membantu pula kelancaran suatu percobaan.

Dalam penggunaan peralatan listrik perlu disadari benar kebutuhan akan tegangan listrik yang sesuai. Penggunaan tegangan (voltase) sumber arus yang tidak sesuai dapat menyebabkan alat rusak (rangkaiian listrik terbakar) atau alat tidak dapat digunakan karena tegangan dari sumber arus listrik yang terlalu rendah.

Hal lain yang perlu mendapat perhatian adalah sumber air bersih. Air merupakan bahan yang paling sering dibutuhkan, sebagai bahan pencampur atau pelarut atau sebagai bahan pencuci setelah selesai melakukan percobaan.

3. Keselamatan Kerja

Untuk beberapa peralatan yang memerlukan penghubung dengan kabel listrik hendaknya dipakai kabel yang masih memiliki isolator yang baik agar tidak terjadi hubungan pendek; hubungan pendek dapat menyebabkan kebakaran. Selain itu kabel yang tidak terisolasi dengan baik dapat terpegang dan menimbulkan kejutan karena aliran listrik.

Beberapa senyawa kimia tertentu perlu mendapat perhatian pelaksana percobaan, karena selain dapat merusak alat atau piranti yang terbuat dari logam dapat juga mengganggu kesehatan, misalnya menyebabkan gangguan pernapasan. Senyawa kimia dapat pula merusak pakaian; bila sampai menembus pakaian dan mengenai kulit, dapat menyebabkan luka bakar. Senyawa ini tergolong ke dalam asam kuat (HCl, H₂SO₄ dan lain sebagainya). Karena hal-hal tersebut disarankan agar Anda menggunakan baju laboratorium (Jas-lab) selama melakukan percobaan.

Bila suatu percobaan memerlukan pemanasan dan menggunakan api, maka perlu diingat bahaya yang sekecil apa pun. Kebakaran sering terjadi karena kelalaian manusia, yang sebenarnya bisa dicegah.

4. Pembuatan laporan:

Pembuatan laporan tertulis merupakan keharusan setelah melakukan percobaan. Sejak awal hingga akhir percobaan, pencatatan yang menyangkut jalannya percobaan harus dibuat secara cermat, rinci dan akurat.

Setiap laporan hendaknya memuat hal-hal berikut.

a. Tujuan:

Setiap percobaan mempunyai tujuan atau sasaran yang hendak dicapai sehingga dalam laporan harus pula dinyatakan tujuan percobaan secara jelas.

Tujuan suatu percobaan tersirat pada judul setiap percobaan.

b. *Peralatan.*

Peralatan yang digunakan, harus dinyatakan dalam laporan. Bila memungkinkan, pada percobaan tersebut hendaknya dinyatakan pula keterangan tentang alat yang digunakan (tipe, merek atau buatan pabrik tertentu). Bila peralatan yang digunakan merupakan modifikasi (diubah dan disesuaikan untuk keperluan tertentu) atau hasil rancangan sendiri maka harus pula dinyatakan secara rinci dengan dilengkapi gambar, skema, atau potret dengan keterangan gambar selengkapnya).

c. *Senyawa Kimia.*

Seluruh senyawa kimia yang digunakan hendaknya diuraikan. Bila bahan yang digunakan merupakan campuran beberapa senyawa kimia maka hendaknya diuraikan pula komposisi dan cara pembuatannya.

d. *Bahan / hewan percobaan.*

Dalam laporan disebutkan pula nama hewan atau organ atau jaringan yang digunakan. Asal usul hewan dinyatakan apakah diperoleh dari pasar, hasil biakan di laboratorium tertentu atau dari tempat budi daya perikanan, atau merupakan hasil penangkapan dari lapangan.

e. *Teori.*

Teori yang mendasari suatu percobaan ditulis secara singkat tetapi jelas dengan menyebutkan sumber (pustaka) teori tersebut.

f. *Cara percobaan.*

Termasuk ke dalamnya adalah metode dan prosedur percobaan. Dalam prosedur percobaan diuraikan secara rinci langkah-langkah yang sebenarnya dilakukan selama percobaan, misalnya cara mengisolasi organ atau jaringan; cara pengamatan; cara pencatatan (menggunakan **recorder** atau secara manual) dan lain sebagainya.

g. *Hasil*

sebuah hasil percobaan harus dicantumkan; dimulai dari data empiris sebagai hasil pengamatan / pencatatan hingga tabel dan grafik sebagai hasil olah data. Gambar atau potret dapat pula ditambahkan untuk lebih menjelaskan proses percobaan yang dilakukan.

h. *Pembahasan:*

Bagian ini memuat pembahasan yang menyangkut seluruh hasil yang diperoleh. Dapat pula ditambahkan pembahasan mengenai kesulitan

maupun kemudahan metode yang digunakan. Dapat pula disampaikan berbagai saran untuk perbaikan yang menyangkut prosedur kerja.

Laporan hendaknya ditulis selengkap-lengkapnyanya hingga dapat dimengerti. Gambar dan tabel dibuat atas dasar fakta dari percobaan yang dilakukan. Laporan ditulis rapi bersih. Anggaplah bahwa pembaca laporan adalah orang awam, sedangkan pembuat laporan adalah seorang ahli dalam percobaan tersebut.

C. PERALATAN DAN PENGGUNAAN

Agar percobaan dan pengamatan hasil percobaan dapat dilakukan dengan lebih akurat biasanya diperlukan berbagai peralatan. Beberapa peralatan telah diuraikan pada bagian awal panduan ini, khususnya peralatan yang menyangkut percobaan pada Modul Praktikum Bahan Makanan dan Enzim Pencernaan.

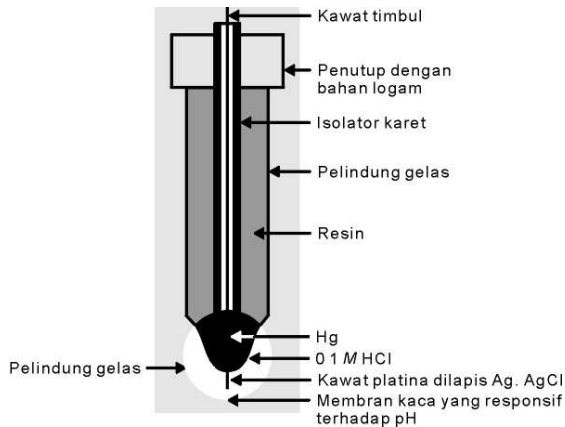
1. Pengukur pH

Berbagai cara dapat dilakukan untuk mengukur pH suatu larutan, di antaranya dengan kertas pH. Bahan ini mudah diperoleh dan mudah pula menggunakannya. Tidak memerlukan persiapan atau penanganan alat selama penggunaan. Selain itu tidak diperlukan tempat khusus untuk penyimpanan dan tidak pula diperlukan tindakan untuk pemeliharaan. Hanya disarankan disimpan di tempat yang tidak terlalu lembab. Setiap lembar kecil kertas pH hanya untuk satu kali penggunaan (pengukuran). Pengukuran pH larutan dengan kertas pH hanya dengan mencelupkan kertas pH pada larutan beberapa saat. Selanjutnya warna kertas akan berubah; warna yang terbentuk disesuaikan dengan warna standar yang tertera pada kemasan dan menunjukkan nilai pH tertentu.

Kemasan kertas pH terdapat dalam bentuk kemasan untuk berbagai kisaran pH tertentu; Misal daerah kisar dengan nilai pH 1 - 14 atau dalam daerah kisar yang lebih sempit dengan perbedaan nilai pH = 0,2. Penentuan pH yang lebih akurat dilakukan dengan alat ukur pH. Cara menggunakan alat ini bergantung pada model atau pabrik pembuatnya. Setiap alat akan dilengkapi dengan penuntun penggunaan yang tertera pada buku petunjuk penggunaan (**instruction manual**). Langkah-langkah praktis penggunaan biasanya tertera pada salah satu sisi alat yang mudah terbaca oleh pengguna.

Meskipun alat ukur ini dibuat oleh pabrik yang berbeda-beda dengan bentuk yang beragam, namun prinsip kerja alat ukur pH tetap sama.

Alat ukur pH yang lain dapat menggunakan elektroda, sering kali terdapat dua elektroda. Elektroda pertama biasanya merupakan elektroda **gelas khusus**, untuk pengukuran pH (Gambar1). Ujung elektroda menggebung berisi cairan elektrolit yang berhubungan dengan elektroda logam tertentu. Elektrolit yang biasa digunakan adalah 0,1 M HCl. Elektroda yang masih baru harus diaktifkan dahulu dengan merendamnya ke dalam larutan 0,1 M HCl selama kurang lebih 6 jam sebelum digunakan. Larutan-larutan ini biasanya telah tersedia (merupakan kelengkapan) pada alat ukur pH yang baru. Selain elektroda gelas ada juga **elektroda pembanding**. Pada pengukuran pH, kedua elektroda tersebut dicelupkan ke dalam larutan sehingga terjadi perbedaan potensial listrik di antara keduanya. Besar perbedaan potensial ini bergantung pada konsentrasi H^+ larutan tersebut. Nilai pH suatu larutan adalah $-\log (H^+)$



Gambar 1. Skema elektroda gelas pengukur pH

Perhatian.

1. Elektroda gelas mudah sekali pecah bila terbentur pada benda keras. Selain itu harga sebuah elektroda tergolong mahal.
2. Simpanlah selalu buku panduan bagi pengguna alat (**instruction manual**) yang menyertai setiap pengiriman alat baru dari penyalur atau pabrik.

2. Prinsip kerja

Seperti telah diuraikan di atas, elektroda perlu direndam dahulu di dalam larutan elektrolit tertentu (tercantum pada buku panduan).

- a. Alat dinyalakan, dan dibiarkan menyala sekitar 15 menit untuk "pemanasan".
- b. Selanjutnya dilakukan kalibrasi terhadap larutan buffer baku yang telah diketahui nilai pH-nya. Larutan ini dipesan bersamaan dengan pemesanan alat atau bahkan sudah merupakan kelengkapan pada alat. Larutan buffer baku dapat digunakan berulang kali; bukan untuk sekali pakai.
- c. Larutan buffer dituangkan pada beaker kemudian kedua elektroda dicelupkan ke dalam larutan buffer. Jarum penunjuk pada alat ukur diset pada pH yang sesuai dengan pH buffer yang digunakan. Alat dibiarkan tetap menyala, dan telah siap untuk mengukur pH suatu larutan.
- d. Setelah itu elektroda diangkat kembali dan dicuci dengan menyemprotkan air destilat (aquades) melalui botol penyemprot. Tetesan aquades pada ujung elektroda diserap secara hati-hati dengan kertas penyerap atau **tissue paper**.
- e. Pada waktu melakukan pengukuran, suhu larutan hendaknya diukur pula, karena suhu dapat mempengaruhi nilai pH. Pada beberapa alat ukur pH dilengkapi dengan pengatur kompensasi suhu.

Beberapa hal perlu diperhatikan dalam penggunaan alat ukur pH.

- a. Alat ukur pH harus sering kali dikalibrasi terhadap larutan buffer baku dengan pH tertentu.
- b. Pada saat tidak digunakan, elektroda harus selamanya direndam dalam aquades agar tidak kering.
- c. Pada saat memasukkan elektroda ke dalam larutan, harus dilakukan secara sangat hati-hati agar tidak membentur dasar atau pinggiran wadah larutan.

Bila akan digunakan untuk mengukur pH larutan lain, maka elektroda harus dibilas terlebih dahulu dengan aquades dan tetesan cairan pada elektroda selanjutnya diserap dengan kertas penyerap (tissue paper).

D. SPEKTROFOTOMETER

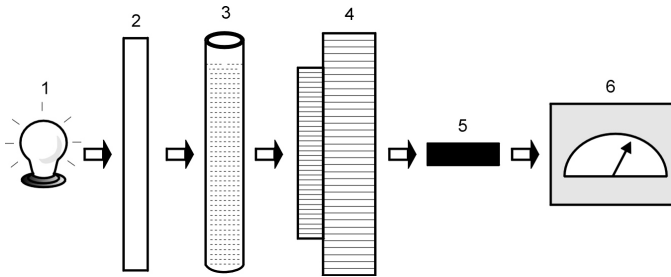
Bila suatu senyawa dapat diubah menjadi bahan terlarut yang berwarna maka konsentrasinya dapat diukur atas dasar "jumlah" (intensitas) warna yang terkandung. Pengukuran konsentrasi senyawa tersebut menggunakan fotometer atau kolorimeter atau spektrofotometer. Berbagai percobaan fisiologi, memerlukan alat fotometer (dengan filter cahaya tertentu) atau spektrofotometer.

Komponen dasar sebuah spektrofotometer terdiri dari:

1. sumber cahaya monokrom;
2. wadah untuk larutan (kuvet);
3. sel penangkap cahaya; dan
4. sebuah galvanometer untuk mengukur intensitas cahaya.

Pada produk terbaru alat jenis ini telah dilengkapi dengan sistem digital. Selain itu sumber cahaya monokrom diganti dengan sistem filter sehingga cahaya yang dipancarkan hanya dalam panjang gelombang tertentu saja. Panjang gelombang cahaya yang digunakan dapat diubah-ubah menurut keperluannya. Pada spektrofotometer biasanya digunakan prisma dan celah sinar untuk memilih panjang gelombang cahaya yang diperlukan.

Secara skematis prinsip kerja spektrofotometer dapat diikuti seperti berikut (Gambar 2): Cahaya berasal dari lampu (1) yang pancaran sinarnya melewati filter, prisma atau celah pemisah gelombang cahaya (2). Cahaya dengan panjang gelombang yang terpilih kemudian melewati kuvet yang berisi larutan (3) yang diukur konsentrasi senyawa terlarutnya. Jumlah cahaya yang bisa melewati larutan (tidak terserap oleh bahan terlarut di dalam kuvet) selanjutnya ditangkap oleh fotosel (penangkap gelombang cahaya) yang mengubah energi cahaya menjadi energi listrik (4). Energi listrik disalurkan lewat penguat arus (5 = amplifier) dan diukur pada sebuah pengukur kuat arus listrik (6 = galvanometer). Skala pada galvanometer dikalibrasi, menyatakan persen pemancaran (% T = % **Transmittance**) atau penyerapan (OD = **optical Density**; A = **Absorbance**). Persen pemancaran menyatakan jumlah cahaya yang bisa melewati larutan berwarna di dalam kuvet. Nilai penyerapan (OD), menyatakan jumlah cahaya yang diserap oleh larutan tersebut.



Gambar 2. Prinsip kerja spektrofotometer

Analisis kimia secara kuantitatif dapat dilakukan dengan kolorimeter atau spektrofotometer. Bila seberkas cahaya monokrom (panjang gelombang tertentu) dipancarkan melewati suatu larutan berwarna, maka intensitas cahaya yang terserap oleh larutan tersebut sebanding dengan konsentrasi larutan berwarna, dikalikan dengan jarak (ketebalan) larutan yang dilewati cahaya. Intensitas cahaya yang diserap berbanding lurus dengan logaritma panjang (jarak) jalur cahaya atau ketebalan medium larutan yang menyerapnya.

Prinsip tersebut berdasarkan pada hukum-hukum Lambert - Bouger - Bunsen - Roscoe - Beer, yang digabungkan dan secara umum dikenal sebagai **Hk. Beer**.

1. Intensitas cahaya yang diserap bergantung pada ketebalan medium yang dilaluinya:

$$^{10} \log \frac{I_0}{I} = ^{10} \log \frac{I}{T} = Kb$$

Keterangan:

I_0 = Intensitas cahaya dari sumber cahaya

I = Intensitas cahaya setelah melalui medium larutan

$\text{Log}(1/T)$ = Penyusutan (**extinction**)

K = Koefisien penyusutan

b = Ketebalan medium

2. Intensitas cahaya yang diserap berbanding lurus dengan logaritma dari konsentrasi larutan (c):

$${}^{10}\log \frac{I_0}{I} = {}^{10}\log \frac{I}{T} = Kc$$

Bila kedua hukum utama tersebut digabungkan, maka:

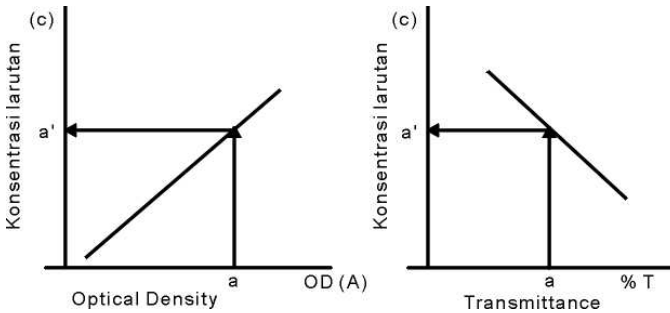
$${}^{10}\log \frac{I_0}{I} = {}^{10}\log \frac{I}{T} = Kbc$$

dimana:

- K = Koefisien penyusutan
- b = Ketebalan medium larutan
- c = konsentrasi senyawa di dalam larutan

${}^{10}\log (I_0 / I)$ disebut "**optical density**" (OD) atau penyerapan (**absorbance**, A), sedang I / I_0 disebut pemancaran (**transmittance**, T).

Bila ketebalan medium yang harus ditembus cahaya dibuat tetap, maka akan didapat hubungan antara OD dengan c, secara linier. Setelah diperoleh nilai OD dari larutan-larutan yang telah diketahui konsentrasinya (c), dibuat garis lurus yang menyatakan hubungan antara nilai penyerapan (OD) dengan konsentrasi (c) larutan baku. Garis regresi ini digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa yang sama di dalam suatu larutan (Gambar10.3). Setelah garis linier larutan baku dibuat, selanjutnya diukur OD atau %T larutan yang tidak diketahui konsentrasi senyawa A di dalam larutan tersebut. misalkan OD atau %T senyawa A adalah a (Gambar 3). Tariklah garis lurus ke atas hingga memotong garis linier; dari titik potong ditarik garis ke kiri hingga memotong ordinat pada a'; maka konsentrasi A di dalam larutan tersebut adalah a'.



Gambar 3. Garis regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan baku dengan OD atau % T

Cara penentuan konsentrasi suatu senyawa di dalam larutan dapat dilakukan dengan penghitungan berikut.

$$\frac{\text{Konsentrasi larutan A (tidak diketahui)}}{\text{Konsentrasi larutan baku}} = \frac{\text{OD larutan A yang terbaca}}{\text{OD larutan baku}}$$

Gunakanlah larutan baku yang telah diketahui konsentrasinya; pasangkan pada spektrofotometer dengan panjang gelombang yang sesuai dan baca yang tertera. Selanjutnya kuvet yang berisi larutan yang tidak diketahui konsentrasinya dipasangkan pada spektrofotometer dan bacalah nilai OD-nya. Dengan menggunakan rumus di atas konsentrasi larutan A dapat dihitung.

Perhatian.

1. Tegangan (**voltage**) sumber arus untuk peralatan listrik hendaknya dilewatkan dahulu melalui pengatur tegangan (stavol). Tegangan yang tidak tetap dapat merusak alat dan khususnya akan mengganggu skala pembacaan.
2. Larutan blanko harus digunakan untuk setiap pengukuran, dan (berisi semua pelarut yang dipakai) digunakan untuk menentukan titik 0 pada skala.

3. Pilih kuvet yang berkualitas baik; tidak mengandung goresan, tidak mudah tergores karena penggunaan maupun pencucian. Gunakanlah kuvet yang sama pada setiap pengukuran, pembilasan dengan menggunakan sedikit larutan yang akan diukur konsentrasinya.
4. Arah setiap pemasangan kuvet pada spektrofotometer harus tetap, terutama pada kuvet yang berbentuk silinder.
5. Lakukanlah waktu pemanasan alat sebelum digunakan untuk pengukuran seperti yang tercantum pada panduan penggunaan alat (**instruction manual**).
6. Larutan yang akan diukur harus merupakan larutan bening; kekeruhan akan mengganggu jalannya sinar. Kecuali bila tujuan percobaan memang untuk mengukur kekeruhan.
7. Bila pembacaan atau pengukuran dilakukan terhadap sampel yang banyak, maka perlu dilakukan pembacaan larutan blanko setiap saat; dilakukan pengulangan pembacaan blanko di antara pengukuran larutan yang belum diketahui konsentrasinya. Bila alat yang digunakan benar-benar mantap (stabil) maka pembacaan larutan blanko (setting O) dapat dilakukan sekali saja pada saat awal.
8. Sebelum dilakukan pembacaan pada sampel pada saat alat menyala, pastikanlah skala pemancaran (%T), menunjukkan nilai O, bila cahaya dari sumber arus ditutup (tidak mengenai sel penerima cahaya).

Lampiran 1.

Lampiran 1

SATUAN PENGUKURAN

1. Penggunaan singkatan dalam sistem metrik

Singkatan	Unit bagian	Penggunaan tanda satuan
Mikro	0,000001 atau $1,0 \times 10^{-6}$	μ g
Mili	0,001 atau $1,0 \times 10^{-3}$	mm; ml; mg
Senti	0,01 atau $1,0 \times 10^{-2}$	cm; cg
Desi	0,1 atau $1,0 \times 10^{-1}$	dm; dg
Deka	10 atau $1,0 \times 10^{+1}$	dkm; dkg
Hekto	100 atau $1,0 \times 10^{+2}$	hm; hg
Kilo	1000 atau $1,0 \times 10^{+3}$	km; kg

2. Ukuran volume

$$1 \text{ liter} = 10^3 \text{ ml (mililiter)}$$

$$= 10^6 \mu \text{ l (mikroliter)}$$

3. Konsentrasi

a. Kelarutan.

$$\% \text{ B/B} = \text{g senyawa terlarut} / 100 \text{ g air}$$

$$\% \text{ B/V} = \text{g senyawa terlarut} / 100 \text{ ml larutan}$$

$$\% \text{ V/V} = \text{ml senyawa terlarut} / 100 \text{ ml larutan}$$

(0,2 % larutan X berarti, terdapat 2 mg senyawa X / ml larutan)

$$\text{ppm} = \text{bagian perjuta} = \text{mg senyawa terlarut} / \text{liter air}$$

b. Molaritas

Larutan senyawa 1 molar = 1 gram molekul senyawa di dalam 1 liter air

Molaritas dinyatakan dengan M sebagai tanda yang berarti **gram mol / liter**

$$\text{larutan : 1 M glukosa} = 180 \text{ g/liter}$$

$$0,15 \text{ M NaCl} = 8,85 \text{ g/liter}$$

$$1 \text{ M NaCl} = 59 \text{ g/liter}$$

Lampiran 2.

BUFFER (LARUTAN PENYANGGA) DAN INDIKATOR**1. Buffer**a. *Buffer Asetat (0,2 M)*

Terhadap sejumlah tertentu (x ml) 0,2 M Asam Asetat ditambah 0,2 M Na asetat hingga volumenya menjadi 100 ml.

x ml :	92	83	63	43	22
pH :	3,6	4,0	4,4	4,8	5,2

b. *Buffer Barbiton (0,07 M; pH = 8,6)*

Asam dietil Barbiturat 2,58 g dan Na-dietil barbiturat 14,42 g dilarutkan dalam air; selanjutnya volume ditepatkan hingga 1 liter.

c. *Buffer Borat (0,3 M; pH = 8,6)*

Asam Borat 18,55 g dan NaOH 3,65 g dilarutkan dalam air, selanjutnya ditambah air hingga tepat 1 liter.

d. *Buffer Karbonat*

Terhadap x ml 0,1 M Na-bikarbonat ditambahkan 0,1 M Na_2CO_3 hingga tepat 100 ml

x ml:	93	73	49	18	5,5
pH: 9,0	9,6	10,0	10,6	11,0	

e. *Buffer Sorensen-fosfat*

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	11,876 g dalam 1 liter (M/15)
NAH_2PO_4	-	9,078 g dalam 1 liter (M/15)

Kedua larutan dibuat dalam dua bejana ukur yang terpisah dan dicampurkan berdasarkan volume tercantum dalam tabel dibawah untuk memperoleh pH yang diinginkan.

No	NaHPO ₄ (ml)	NaH ₂ PO ₄ (ml)	pH pada 18 °C
1	0,25	9,75	5,288
2	0,50	9,50	5,589
3	1,00	9,00	5,906
4	2,00	8,00	6,239
5	3,00	7,00	6,468
6	4,00	6,00	6,643
7	5,00	5,00	6,817
8	6,00	4,00	6,979
9	7,00	3,00	7,168
10	8,00	2,00	7,381
11	9,00	1,00	7,731
12	9,50	0,50	8,043

2. Indikator

Beberapa larutan indikator dan kisaran pH

Indikator	Pembuatan larutan: 0,1 g dalam 250 ml air dengan:	Warna asam	Warna basa	Kisaran pH
Thymol Blue	Air berisi 2,15 ml 0,1 N NaOH	Merah	Kuning	1,2 – 2,8
Bromophenol blue	Air berisi 1,49 ml 0,1 N NaOH	Kuning	Merah Ungu	3,0 – 4,6
Bromocresol purple	Air berisi 1,85 ml 0,1 N NaOH	Kuning	Ungu	5,2 – 6,8
Bromothymol blue	Air berisi 1,6 ml 0,1 N NaOH	Kuning	Biru	6,0 – 7,6
Cresol red	Air berisi 2,62 ml 0,1 N NaOH	Kuning	Merah	7,2 – 8,8

Lampiran 3.

PEMBUATAN REAGENSIA

1. Amilum

Buatlah pasta dari 2 g tepung amilum dengan air sedikit. Selanjutnya 200 ml air dididihkan dan ditambahkan ke dalam pasta amilum sambil terus mengaduknya. Larutan yang terbentuk merupakan larutan 1% amilum.

2. Anthrone

Senyawa Anthrone 0,2 g dilarutkan ke dalam 100 ml Asam Sulfat Pekat akan menjadi larutan 0,2 %. **Hati-hati** menangani asam sulfat pekat (H_2SO_4 conc) !

3. Barfoed

Tembaga asetat 66,5 g dilarutkan ke dalam 1 liter aquades. Setelah disaring ditambahkan 25 ml 38 % asam asetat (9 ml asam asetat diencerkan **hingga** 25 ml dengan aquades).

4. Benedict .

Larutan yang berisi tiga senyawa yang dilarutkan di dalam aquades

$CuSO_4$	17,3 g
Na-citrat	173 g
Na-karbonat (anhydrous)	100 g
Dilarutkan ke dalam	1000 ml aquades

5. Fehling

Larutan Fehling terdiri dari dua larutan yang dalam penggunaannya dicampur pada saat dilakukan pengujian (disimpan dalam keadaan terpisah).

Larutan A - 138,6 g serbuk $CuSO_4 \cdot H_2O$ dilarutkan ke dalam 2 liter aquades

Larutan B - 692 g Na-K- Tartrat (garam Rochele) dan 200 g NaOH dilarutkan ke dalam 2 liter aquades

6. Fenolftalein

Senyawa indikator ini dibuat dengan melarutkan 1 g fenolftalein dalam 100 ml etil alkohol 95%.

7. Iod

Terhadap 2 % K-iodida ditambahkan Iod hingga warna menjadi kuning

8. Larutan pencuci peralatan gelas

Campurkan 800 ml As. Sulfat **pekat** dengan 500 ml K-bikromat jenuh dalam air. Larutan dapat digunakan berulang kali dengan hati-hati ! Buanglah bila larutan telah berwarna hijau.

9. Millon

Larutkan 100 g Hg dalam 200 g HNO_3 pekat. Encerkan dengan aquades sebanyak 2 x volume asal.

10. Molisch

5 % Alfa-naftol dalam alkohol

11. Rochelle

Senyawa ini adalah garam K-Na-tartrat dengan rumus kimia $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Daftar Pustaka

Brown B.A. (1980). *Hematology: Principles and Procedures* 3rd Ed. Philadelphia. Lea & Febiger.

Rastogi, S.C. (1982). *Experimental Physiology*. New Delhi: Wiley Eastern Limited.

[*Kembali ke Daftar Isi*](#)