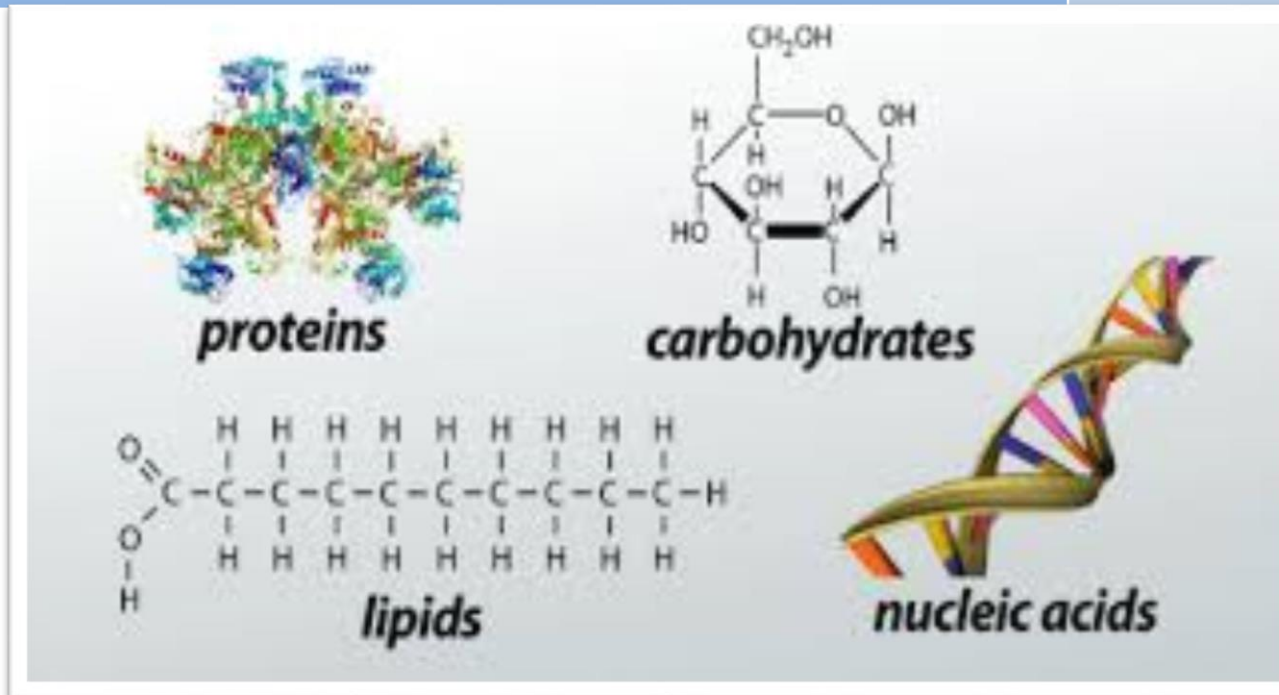


MODUL PRAKTIKUM BIOKIMIA



Oleh:

Neni Oktiyani, S.Pd, M.Sc
Jujuk Anton Cahyono, S.Si., M.Sc.
Yayuk Kustiningsih, S.KM., M.Kes.
Siti Khairunisya, S.ST., M.Si.
Maulidi Rahman, A.Md. Kes.

NAMA :

NIM :

KELAS :

POLTEKKES KEMENKES BANJARMASIN
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PRODI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM DIPLOMA III
2024

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Modul : Modul Praktikum Biokimia
Matakuliah : Biokimia
Kode Matakuliah/SKS : TLM204
Nama Penulis : Neni Oktiyani, S.Pd., M.Sc.
NIP/ NIDN : 197610091998032001/4009107601
Program Studi : Teknologi Laboratorium Medis
Program Diploma III

Banjarbaru, 15 Januari 2024

Menyetujui,

Ketua Prodi



Jujuk Anton Cahyono, S.Si., M.Sc.
NIP.197612091997031002

Tim Penyusun



Neni Oktiyani, S.Pd., M.Sc
NIP. 197610091998032001

Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Poltekkes Kemenkes Banjarmasin



H. Ahmad Muhlisin, S.Pd, M.Kes
NIP. 19681201 198903 1001

TIM PENYUSUN MODUL

MODUL PRAKTIKUM BIOKIMIA

Penulis:

Neni Oktiyani, S.Pd, M.Sc.

Jujuk Anton Cahyono, S.Si., M.Sc.

Yayuk Kustiningsih, S.KM., M.Kes.

Siti Khairunisya, S.ST., M.Si.

Maulidi Rahman, A.Md.Kes.

Cover & Layout

Neni Oktiyani, S.Pd, M.Sc.

Alamat

Jalan Mistar Cokrokusumo No.4A

Banjarbaru

Email: neni.okti76@gmail.com

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga Modul Praktikum Biokimia dapat diselesaikan. Modul Praktikum Biokimia ini ditujukan untuk Mahasiswa Perogram Studi Teknologi Labortorium Medis Program Diploma III Semester II.

Mata Kuliah Praktikum Biokimia diberikan sebagai mata kuliah dasar keahlian guna menunjang mata kuliah keahlian terutama Kimia Klinik, Mikrobiologi dan Biomolekuler. Pada mata kuliah ini Mahasiswa belajar tentang konsep dan metode analisis laboratorium bidang Biokimia menggunakan instrumentasi sederhana dan otomatis secara terampil dengan menerapkan kesehatan dan keselamatan kerja. Mata Kuliah ini memberikan pengetahuan konsep teoritis dan cara melakukan identifikasi tentang Karbohidrat, Lipid, Protein, Asam Nukleat, Enzim, Hormon, Mineral dan Vitamin serta metabolisme dalam tubuh manusia.

Mata kuliah ini menunjang Capaian Pembelajaran Lulusan Prodi, yaitu Mahasiswa menunjukkan sikap bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri, mampu menyusun laporan hasil dan proses kerja secara akurat dan sah serta mengkomunikasikannya secara efektif kepada pihak lain yang membutuhkan, mampu bekerja sama, berkomunikasi dan berinovatif dalam pekerjaannya dan mampu melakukan pemeriksaan laboratorium kesehatan di bidang Biokimia dengan menggunakan instrumen sederhana dan otomatis secara terampil dengan menerapkan kesehatan dan keselamatan kerja.

Demikian modul ini disusun, semoga dapat memberi manfaat bagi seluruh peserta didik.

Banjarbaru, 15 Januari 2023

Tim Penyusun Modul

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
BAB I IDENTIFIKASI KARBOHIDRAT	1
A. Pendahuluan.....	1
B. Penyajian Materi	1
C. Pelaksanaan Praktikum Uji Molisch	3
D. Pelaksanaan Praktikum Uji Seliwanoff.....	5
E. Pelaksanaan Praktikum Uji Fehling.....	7
F. Pelaksanaan Praktikum Uji Barfoed	8
G. Pelaksanaan Praktikum Uji Osazon	10
H. Pelaksanaan Praktikum Uji Iodium.....	12
I. Pelaksanaan Praktikum Uji Hidrolisis Amilum	14
J. Rangkuman	16
K. Latihan/Tugas/Eksperimen	16
BAB II IDENTIFIKASI LIPID	17
A. Pendahuluan.....	17
B. Penyajian Materi	17
C. Pelaksanaan Praktikum Uji Daya Larut Lipid.....	18
D. Pelaksanaan Praktikum Uji Keasaman Lipid.....	19
E. Pelaksanaan Praktikum Uji Pembentukan Emulsi	21
F. Pelaksanaan Praktikum Uji Benedict Kuantitatif.....	22
G. Pelaksanaan Praktikum Uji Dunstan.....	24
H. Pelaksanaan Praktikum Uji Salkowsky.....	25
I. Pelaksanaan Praktikum Uji Lieberman Burchard	27
J. Rangkuman	28
K. Latihan/Tugas/Eksperimen	28
BAB III IDENTIFIKASI PROTEIN DAN ASAM AMINO	29
A. Pendahuluan.....	29
B. Penyajian Materi	29

C. Pelaksanaan Praktikum Uji Biuret	30
D. Pelaksanaan Praktikum Uji Millon	31
E. Pelaksanaan Praktikum Uji Xantoprotein	33
F. Pelaksanaan Praktikum Uji Ninhydrin.....	34
G. Pelaksanaan Praktikum Uji Neumann.....	36
H. Pelaksanaan Praktikum Uji Cincin Heller.....	38
I. Pelaksanaan Praktikum Uji Sulfur	39
J. Pelaksanaan Praktikum Uji Pengendapan dengan Logam Berat	41
K. Pelaksanaan Praktikum Uji Pengendapan dengan Garam Netral.....	42
L. Rangkuman	44
M. Latihan/Tugas/Eksperimen	44
BAB IV PENGUJIAN FAKTOR-FAKTORYANG MEMENGARUHI AKTIVITAS ENZIM	45
A. Pendahuluan.....	45
B. Penyajian Materi	45
C. Praktikum Pengujian Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim	45
D. Praktikum Pengujian Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim	47
E. Rangkuman	49
F. Latihan/Tugas/Eksperimen	49
DAFTAR RUJUKAN	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Hasil Unjuk Kerja Uji Molisch	4
Tabel 1. 2 Hasil Unjuk Kerja Uji Seliwanoff.....	6
Tabel 1. 3 Hasil Unjuk Kerja Uji Fehling	7
Tabel 1. 4 Hasil Unjuk Kerja Uji Barfoed	9
Tabel 1. 5 Karakteristik Osazon.....	11
Tabel 1. 6 Hasil Unjuk Kerja Uji Iodium.....	13
Tabel 1. 7 Hasil Unjuk Kerja Uji Hidrolisis Amilum	15
Tabel 2. 1 Hasil Unjuk Kerja Uji Daya Larut Lipid.....	18
Tabel 2. 2 Hasil Unjuk Kerja Uji Keasaman Lipid	20
Tabel 2. 3 Hasil Unjuk Kerja Uji Pembentukan Emulsi	21
Tabel 2. 4 Hasil Unjuk Kerja Uji Benedict Kuantitatif.....	23
Tabel 2. 5 Hasil Unjuk Kerja Uji Dunstan.....	24
Tabel 2. 6 Hasil Unjuk Kerja Uji Salkowski.....	26
Tabel 2. 7 Hasil Unjuk Kerja Uji Lieberman Burchard	27
Tabel 3. 1 Hasil Unjuk Kerja Uji Biuret	30
Tabel 3. 2 Hasil Unjuk Kerja Uji Millon	32
Tabel 3. 3 Hasil Unjuk Kerja Uji Xantoprotein	33
Tabel 3. 4 Hasil Unjuk Kerja Uji Ninhydrin.....	35
Tabel 3. 5 Hasil Unjuk Kerja Uji Neumann.....	37
Tabel 3. 6 Hasil Unjuk Kerja Uji Cincin Heller.....	38
Tabel 3. 7 Hasil Unjuk Kerja Uji Sulfur	40
Tabel 3. 8 Hasil Unjuk Kerja Uji Pengendapan dengan Logam Berat	41
Tabel 3. 9 Hasil Unjuk Kerja Uji Pengendapan dengan Garam Netral.....	43
Tabel 4. 1 Hasil Unjuk Kerja Pengujian Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim	46
Tabel 4. 2 Hasil Unjuk Kerja Pengujian Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim.....	48

BAB I IDENTIFIKASI KARBOHIDRAT

A. Pendahuluan

Capaian pembelajaran yang akan dicapai Mahasiswa pada materi identifikasi karbohidrat ini adalah mampu melakukan identifikasi karbohidrat dengan menggunakan instrumen sederhana dan otomatis secara terampil dengan menerapkan kesehatan dan keselamatan kerja, bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri, mampu bekerja sama, berkomunikasi dan berinovatif dalam pekerjaannya dan mampu menyusun laporan hasil dan proses kerja secara akurat dan sah serta mengkomunikasikannya secara efektif kepada pihak lain yang membutuhkan.

Percobaan identifikasi karbohidrat meliputi Uji Molisch, Uji Seliwanoff (uji ketosa), Uji Reduksi (Uji Fehling dan Barfoed), Uji Osazon, Uji Iodium dan Uji Hidrolisis Amilum.

B. Penyajian Materi

1. Definisi Karbohidrat

Karbohidrat didefinisikan sebagai polihidroksi aldehid atau polihidroksi keton atau turunannya. Pada umumnya karbohidrat merupakan zat padat warna putih, sukar larut dalam pelarut organik, tetapi larut dalam air (kecuali beberapa polisakarida). Jika gugus karbonil itu terdapat pada ujung bangun molekul linier sebagai gugus aldehid, maka satuan itu dinamakan aldosa. Jika gugus itu terdapat pada urutan kedua rantai atom C sebagai gugus keton, maka dinamakan ketosa.

2. Penggolongan Karbohidrat

Karbohidrat dibagi menjadi 4 golongan, yaitu monosakarida, disakarida, oligosakarida dan polisakarida. Pada umumnya karbohidrat berupa serbuk putih yang mempunyai sifat sukar larut dalam pelarut nonpolar, tetapi mudah larut dalam air. Kecuali, polisakarida bersifat tidak larut dalam air. Ikatan antara satuan dasar yang satu terhadap yang lainnya dinamakan ikatan glikosidik. Monosakarida yang paling banyak terdapat di alam ialah yang beratom C 3 sampai 6, terutama yang berantai atom C5 dan 6 misalnya glukosa, fruktosa, ribosa, arabinosa, silosa, dan lain-lain. Atas dasar fungsinya polisakarida dibagi menjadi polisakarida cadangan, misalnya pati dan glikogen, polisakarida struktural yang bertindak sebagai kerangka pada dinding sel dan pelindung, pengisi antar sel jaringan pengikat, misalnya : khitin, selulosa pektin, dan lain-lain.

3. Pemeriksaan Identifikasi Karbohidrat

Karbohidrat yang terdapat dalam larutan dapat diidentifikasi dengan melakukan tes tertentu di laboratorium. Uji penting untuk deteksi karbohidrat adalah sebagai berikut:

a. Uji Molisch

Uji Molisch adalah uji skrining untuk mengkonfirmasi ada atau tidak adanya karbohidrat dalam larutan. Uji ini sangat sensitif untuk karbohidrat, monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida semuanya memberikan uji Molisch positif.

b. Uji Seliwanoff

Uji ini digunakan untuk mendeteksi monosakarida dengan gugus fungsi ketonik, membedakan antara gula aldosa dan ketosa. Ketosa dibedakan dari aldosa melalui fungsi keton/aldehidanya. Jika gula mengandung gugus keton, itu adalah ketosa dan jika mengandung gugus aldehida, itu adalah aldosa. Pengujian didasarkan pada fakta bahwa ketika dipanaskan, ketosa lebih cepat mengalami dehidrasi daripada aldosa.

c. Uji Reduksi

1) Uji Fehling

Uji Fehling adalah uji kimia yang digunakan untuk membedakan gula pereduksi dan gula non pereduksi. Uji ini juga dapat digunakan untuk membedakan karbohidrat gugus fungsi keton dan karbohidrat yang larut dalam air. Reaksi hanya terjadi dalam suasana basa. Dalam suasana asam, ion tembaga (II) akan menjadi stabil dan tidak mudah teroksidasi, sehingga reaksi tidak terjadi. Uji Fehling dilakukan di bidang medis untuk mendeteksi adanya glukosa dalam urin. Ini membantu untuk mengidentifikasi apakah pasien menderita diabetes atau tidak.

2) Uji Barfoed

Uji Barfoed adalah uji kimia yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan monosakarida yang mendeteksi monosakarida pereduksi dengan adanya disakarida. uji ini digunakan untuk mengidentifikasi monosakarida pereduksi dan membedakan disakarida pereduksi dari monosakarida pereduksi. Uji ini tidak dapat digunakan untuk mendeteksi glukosa dalam urin karena urin mengandung ion Cl^- yang dapat mengganggu reaksi.

d. Uji Osazon

Uji osazon digunakan untuk mendeteksi gula pereduksi. Uji ini bahkan memungkinkan diferensiasi gula pereduksi yang berbeda berdasarkan waktu terbentuknya kompleks. Uji ini juga disebut Uji Fenilhidrazin berdasarkan reagen yang digunakan. Gula yang memiliki sifat pereduksi bereaksi dengan fenilhidrazin hidroklorida untuk membentuk osazon (kristal) yang khas. Osazon ini dapat dikorelasikan dengan kondisi klinis seperti arabinosa pada autisme, xilosa pada penyakit usus kecil dan galaktosa pada galaktosemia.

e. Uji Iodium

Uji iodium adalah uji kimia yang digunakan untuk membedakan mono- atau disakarida dari polisakarida tertentu seperti amilase, dekstrin, dan glikogen. Monosakarida, disakarida, dan polisakarida bercabang seperti selulosa tetap tidak berwarna. Amilopektin menghasilkan warna oranye-kuning. Pereaksi yang digunakan dalam uji iodium adalah iodium Lugol, yang merupakan larutan encer dari unsur iodium dan kalium iodida.

f. Uji Hidrolisis Amilum dan Sakarosa

Hidrolisis adalah bentuk umum dari reaksi kimia dimana air sebagian besar digunakan untuk memecah ikatan kimia yang ada antara zat tertentu. Hidrolisis berasal dari kata Yunani, *hydro* yang berarti air dan *lysis* yang diterjemahkan menjadi kata istirahat atau melepaskan.

Hidrolisis amilum merupakan proses pemecahan molekul amilum menjadi komponen sederhana penyusunnya seperti dekstrin, maltotriosa, maltosa dan glukosa. Proses hidrolisis dapat dilakukan secara enzimatis dan asam. Ketika amilum dihidrolisis dan dipecah menjadi unit karbohidrat kecil, iodium tidak akan memberikan warna biru tua (atau ungu). Uji iodium digunakan dalam percobaan ini untuk menunjukkan penyelesaian hidrolisis.

C. Pelaksanaan Praktikum Uji Molisch

1. Tujuan: Menentukan adanya karbohidrat

2. Prinsip reaksi:

Reaksi terjadi karena adanya dehidrasi karbohidrat oleh H_2SO_4 pekat sehingga terbentuk furfural atau derivatnya. Kondensasi dengan α -naftol akan terbentuk kompleks ungu.

3. Alat dan Bahan:

a. Alat : Tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur 1 mL.

b. Bahan-bahan dan Pereaksi

- Sampel (larutan glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, manosa, amilum masing-masing 1%).
- Larutan Molisch (5 gram α -naftol dilarutkan dalam 100 ml alkohol 95%)
- H_2SO_4 pekat

4. Langkah Kerja:

a. Pipet 15 tetes masing-masing larutan sampel ke dalam tabung reaksi.

b. Tambahkan 3 tetes pereaksi Molisch dan dikocok.

c. Dialirkan perlahan-lahan 1 ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung

d. Lihat hasilnya, reaksi positif bila pada bidang pembatas kedua lapisan, terbentuk cincin berwarna ungu.

5. Interpretasi:

Hasil (+) positif: Terbentuk cincin berwarna ungu di perbatasan dua cairan yaitu larutan pereaksi Molisch dan asam sulfat.

Hasil (-) negatif: Tidak terbentuk cincin berwarna ungu di perbatasan dua cairan

6. Hasil Unjuk Kerja:

Tabel 1. 1 Hasil Unjuk Kerja Uji Molisch

No	Nama Sampel	Pengamatan	Hasil (+) / (-)
1	Glukosa		
2	Sukrosa		
3	Laktosa		
4	Maltosa		
5	Manosa		
6	Amilum		

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

D. Pelaksanaan Praktikum Uji Seliwanoff

1. Tujuan: Menentukan adanya ketosa
2. Prinsip reaksi:
Reaksi terjadi karena dehidrasi karbohidrat membentuk 1-hidroksi metil furfural yang dengan resorsinol (1,3-dihidroksi benzena) membentuk kompleks yang berwarna merah.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: Tabung reaksi, pipet ukur 5 mL, pipet tetes, lampu spiritus/ waterbath
 - b. Bahan-bahan dan Preaksi:
 - Sampel (larutan glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, manosa, amilum masing-masing 1%).
 - Preaksi seliwanoff (50 mg resorsinol dilarutkan dalam 100 ml HCl (1:1)).
4. Langkah Kerja
 - a. Pipet 2,5 ml preaksi Seliwanoff yang baru dibuat masukkan ke dalam tabung reaksi.
 - b. Tambahkan 5 tetes masing-masing larutan sampel di atas dan dikocok.
 - c. Didihkan di atas api selama 20 detik atau dalam penangas air (water bath) selama 60 detik.
 - d. Lihat hasilnya (reaksi positif bila terbentuk warna merah setelah beberapa detik).
5. Interpretasi:
 Hasil (+) positif: Warna merah ciri terbentuk di tabung reaksi saat didinginkan.
 Hasil (-) negatif: Tidak terbentuk warna merah ciri

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 1. 2 Hasil Unjuk Kerja Uji Seliwanoff

No	Nama Sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		Sebelum pemanasan	Setelah pemanasan	
1	Glukosa			
2	Fruktosa			
3	Sukrosa			
4	Laktosa			
5	Maltosa			
6	Amilum			

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

E. Pelaksanaan Praktikum Uji Fehling

1. Tujuan: menentukan adanya gula pereduksi
2. Prinsip Reaksi:

Gugus aldehyd bebas akan mereduksi ion kupri menjadi kupro dalam suasana basa yang akan mengendap dalam bentuk kupro oksida (Cu_2O) yang berwarna merah bata.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: rak tabung reaksi, tabung reaksi, pipet ukur 1 mL, waterbath
 - b. Bahan dan pereaksi
 - Sampel (larutan glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, manosa, amilum masing-masing 1%)
 - Fehling A (69,3 gram kristal CuSO_4 dilarutkan dalam 1 liter aquades)
 - Fehling B (364 gr K-Na-Tartrat + 100 gr NaOH dilarutkan dalam 1 liter aquades)
4. Langkah Kerja
 - a. Kedalam tabung reaksi pipet 1 ml Fehling A dan 1 ml Fehling B, dikocok
 - b. Tambahkan masing-masing 1 ml larutan contoh, dikocok.
 - c. Panaskan sampai mendidih selama 3-5 menit dalam water bath, lihat hasilnya (reaksi positif jika terjadi endapan kuning sampai merah bata).
5. Interpretasi:

Hasil (+) positif: Terbentuk endapan kuning sampai merah bata di dasar tabung reaksi

Hasil (-) negatif: Tidak terjadi perubahan warna/larutan biru
6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 1. 3 Hasil Unjuk Kerja Uji Fehling

No	Nama Sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		Sebelum pemanasan	Setelah pemanasan	
1	Glukosa			
2	Fruktosa			
3	Sukrosa			
4	Laktosa			
5	Maltosa			
6	Amilum			

- ## 7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

-
- a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

F. Pelaksanaan Praktikum Uji Barfoed

1. Tujuan: menentukan adanya monosakarida
2. Prinsip Reaksi
Reaksi reduksi oksidasi terjadi dalam suasana asam. Pada suasana asam larutan sampel yang masih mempunyai sifat mereduksi adalah monosakarida.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: Tabung reaksi, rak tabung, pipet ukur 5 mL, pipet tetes, waterbath
 - b. Bahan-bahan dan pereaksi
 - Sampel (larutan glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, manosa, amilum masing-masing 1%)
 - Larutan Barfoed (13,3 gram Cu asetat, 1,9 ml asam asetat glasial dilarutkan dalam 200 ml aquades)

4. Langkah Kerja:

- a. Pipet 3 ml pereaksi Barfoed kedalam masing-masing tabung reaksi
- b. Tambahkan 3 tetes larutan sampel ke dalam masing-masing tabung di atas, dikocok.
- c. Panaskan sampai mendidih selama 3-5 menit dalam water bath, lihat hasilnya.

5. Interpretasi:

Hasil (+) positif: terbentuk endapan kuning sampai merah bata

Hasil (-) negatif: tidak terjadi perubahan/larutan biru

6. Hasil Unjuk Kerja :

Tabel 1. 4 Hasil Unjuk Kerja Uji Barfoed

No	Nama Sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		Sebelum pemanasan	Setelah pemanasan	
1	Glukosa			
2	Fruktosa			
3	Sukrosa			
4	Laktosa			
5	Maltosa			
6	Amilum			

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

G. Pelaksanaan Praktikum Uji Osazon

1. Tujuan: menentukan jenis monosakarida dan disakarida
2. Prinsip Reaksi:

Suatu aldosa/ketosa dengan fenil hidrazin akan membentuk osazon. Jenis-jenis osazon dapat dilihat dalam bentuk kristalnya yang khas dalam mikroskop.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, rak tabung, pipet ukur 5 mL, pipet tetes, waterbath, pipet tetes, gelas objek, kaca penutup, mikroskop
 - b. Bahan dan pereaksi:
 - Sampel (larutan glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, manosa, amilum masing-masing 1%)
 - Larutan fenil hidrazin (2 gr fenil hidrazin-HCl dilarutkan dalam 30 ml aquades, saring tambahkan 3 gr Na-asetat)
4. Langkah Kerja:
 - a. Kedalam masing-masing tabung reaksi masukan 1 ml fenilhidrazin
 - b. Tambahkan 5 ml larutan sampel ke dalam masing-masing tabung di atas
 - c. Panaskan dalam water bath selama 1/2 jam.
 - d. Kemudian didinginkan sampai terlihat endapan berbentuk kristal.
 - e. Ambil sedikit kristal yang terbentuk dengan batang pengaduk dan letakkan pada gelas objek mikroskop, kemudian tutup dengan kaca penutup
 - f. Lihat bentuk kristalnya di bawah mikroskop dan gambarkan

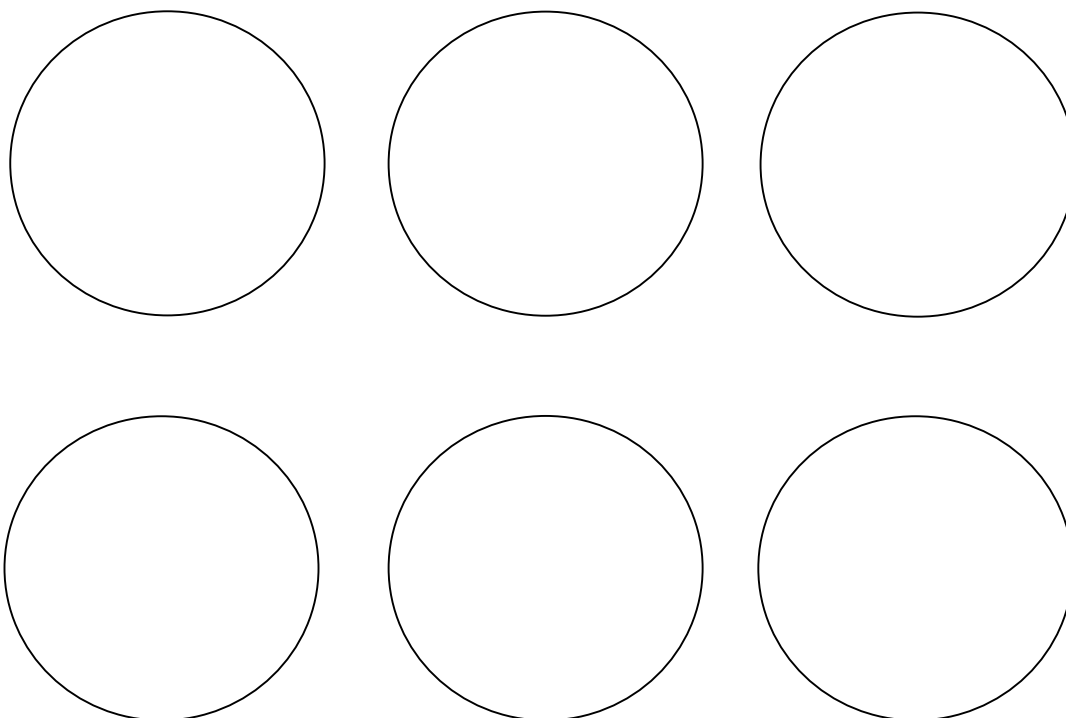
5. Interpretasi:

Tabel 1. 5 Karakteristik Osazon

Nama Gula	Bentuk Kristal	Waktu pembentukan kristal (menit)	Kondisi Fisik	
			Mendidih	Mendingin perlahan setelah mendidih
Glukosa	Jarum	6	+	++
Fruktosa	Jarum	4	+	++
Manosa	Jarum	10	+	++
Galaktosa	Bola dengan ujung berduri	10	+	++
Arabinosa	Jarum bola padat	15	+	++
Xylosa	Jarum halus panjang	15	+	++
Maltosa	Bunga matahari	30	-	+
Laktosa	Bola kapas	30	-	+

Sumber: <https://dx.doi.org/10.18535/jmscr/v4i12.14>

6. Hasil Unjuk Kerja



7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

H. Pelaksanaan Praktikum Uji Iodium

1. Tujuan: menentukan adanya polisakarida
2. Prinsip Reaksi
Polisakarida dengan iodium akan membentuk kompleks yang berwarna sesuai dengan sifat jenisnya.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: plate tetes/porselen, pipet tetes
 - b. Bahan-bahan dan pereaksi:
 - Sampel (larutan glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, manosa, amilum masing-masing 1%)
 - Larutan Iodium 0,01 M, larutan NaOH 2N, larutan HCl 2N
4. Langkah Kerja:
 - a. Teteskan 1 tetes larutan sampel ke dalam cawan proselin pada masing-masing lubang.
 - b. Tambahkan satu tetes larutan Iodium ke dalam masing-masing larutan sampel.
 - c. Lihat perubahan warna yang terjadi.
 - d. Tambahkan 1 tetes NaOH 2N, amati perubahan warna yang terjadi.
 - e. Tambahkan 1 - 2 tetes HCl 2N, amati perubahan warna yang terjadi.

5. Interpretasi:

Hasil (+) positif: terbentuk warna

Hasil (-) negatif: tidak terbentuk warna

Jika warna larutan berubah pada penambahan iodium, itu menunjukkan bahwa terdapat polisakarida dalam larutan. Sifat polisakarida dideteksi berdasarkan warna yang terbentuk.

- Jika terbentuk warna biru, larutan mengandung amilase atau pati/amilum
- Jika terbentuk warna ungu kemerahan, larutan mengandung dekstrin
- Jika terbentuk warna coklat kemerahan, larutan mengandung glikogen

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 1. 6 Hasil Unjuk Kerja Uji Iodium

No	Nama Sampel	Pengamatan			Hasil (+) / (-)
		I ₂	NaOH	HCl	
1	Glukosa				
2	Sukrosa				
3	Laktosa				
4	Maltosa				
5	Manosa				
6	Amilum				

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

I. Pelaksanaan Praktikum Uji Hidrolisis Amilum

1. Tujuan: mengidentifikasi hasil hidrolisis amilum
2. Prinsip reaksi
Hidrolisis amilum oleh HCl akan menghasilkan amilosa → amilopektin → eritrodekstrin → akrodekstrin → maltosa → glukosa. Hasil hidrolisis yang berbentuk diuji dengan larutan Fehling.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: pipet ukur 5mL, pipet tetes, waterbath, plate tetes, kertas pH universal
 - b. Bahan-bahan dan pereaksi:
 - Larutan amilum 1%
 - Larutan HCl 2 N
 - Larutan Iodium 0,01 M
 - Larutan Na₂CO₃ 2 %
4. Langkah Kerja:
 - a. Ke dalam tabung reaksi pipet 5 ml larutan amilum 1%.
 - b. Tambahkan 4,5 ml HCl 2 N
 - c. Kocok, masukan kedalam waterbath tiap 3 menit teteskan 3 tetes larutan tersebut di atas ke dalam lubang plate tetes dan 1 tetes larutan iodium, amati perubahan yang terjadi.
 - d. Percobaan diulangi tiap 3 menit sampai tidak memberi warna lagi
 - e. Hidrolisis dilanjutkan sampai 5 menit.

- f. Hasil hidrolisis diambil 5 ml kemudian dinetralkan dengan Na_2CO_3 2%. (periksa dengan kertas pH universal)
- g. Kemudian lakukan tes Fehling dan amati perubahan yang terjadi
5. Interpretasi:
Proses hidrolisa amilum berhasil ditandai dengan hasil uji Fehling positif: terbentuk endapan kuning sampai merah bata
6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 1. 7 Hasil Unjuk Kerja Uji Hidrolisis Amilum

No	Nama Uji	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		Sebelum hidrolisis	Sesudah hidrolisis	
1	Fehling			

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

J. Rangkuman

Pada umumnya karbohidrat merupakan zat padat warna putih, sukar larut dalam pelarut organik, tetapi larut dalam air (kecuali beberapa polisakarida). Jika gugus karbonil itu terdapat pada ujung bangun molekul linier sebagai gugus aldehid, maka satuan itu dinamakan aldosa. Jika gugus itu terdapat pada urutan kedua rantai atom C sebagai gugus keton, maka dinamakan ketosa.

Identifikasi karbohidrat dalam larutan dapat dideteksi dengan melakukan tes berikut di laboratorium:

1. Uji Molisch, positif untuk semua karbohidrat
2. Uji Seliwanof, positif untuk monosakarida dengan gugus keton
3. Uji Fehling, positif mengandung gula pereduksi
4. Uji Benedict, positif mengandung gula pereduksi
5. Uji Barfoed, itu membedakan antara monosakarida dan disakarida
6. Uji osazon, ini adalah tes konfirmasi dimana bentuk kristal memberi tahu jenis gula yang ada dalam larutan
7. Uji yodium, khusus untuk pati dan glikogen
8. Uji hidrolisis amilum menghasilkan gula pereduksi dengan hasil tes reduksi positif

K. Latihan/Tugas/Eksperimen

Jelaskan mengapa sukrosa tidak memiliki sifat mereduksi?

BAB II IDENTIFIKASI LIPID

A. Pendahuluan

Capaian pembelajaran yang akan dicapai Mahasiswa pada materi identifikasi lipid ini adalah mampu melakukan identifikasi lipid dengan menggunakan instrumen sederhana dan otomatis secara terampil dengan menerapkan kesehatan dan keselamatan kerja, bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri, mampu bekerja sama, berkomunikasi dan berinovatif dalam pekerjaannya dan mampu menyusun laporan hasil dan proses kerja secara akurat dan sah serta mengkomunikasikannya secara efektif kepada pihak lain yang membutuhkan.

Percobaan identifikasi lipid meliputi sifat umum lipid (daya larut lipid, keasaman dan emulsi), berhubungan dengan gliserol (pembentukan acrolein, benedict kualitatif dan dunstan), berhubungan dengan kolesterol (percobaan Salkowsky dan Liebermen-Burchad).

B. Penyajian Materi

Lipid adalah kelompok senyawa yang heterogen, termasuk lemak, minyak, steroid, lilin, dan senyawa terkait, yang lebih terkait secara fisik daripada sifat kimianya. Pada umumnya bahan-bahan yang termasuk lipid sukar larut dalam air, tetapi dapat larut dalam pelarut organik (non polar) seperti ethyl ether, kloroform, benzena dan lain-lain. Penyusun utama lipida adalah trigliserida yaitu ester gliserol dengan 3 asam lemak yang bisa beragam jenisnya. Penyusun lipida lainnya berupa gliserida, monogliserida, asam lemak bebas, lilin dan juga kelompok lipida sederhana (yang tidak mengandung komponen asam lemak) seperti derivat senyawa terpenoid / isoprenoid serta derivat steroida. Lipida sering berupa senyawa kompleks dengan protein (lipoprotein) atau karbohidrat (glikolipida). Asam lemak penyusun lipida ada 2 macam yaitu asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh. Asam lemak tidak jenuh molekulnya mempunyai ikatan rangkap pada rantai carbonnya. Halogen dapat bereaksi cepat dengan atom C pada rantai yang ikatannya tidak jenuh (peristiwa addisi).

Dalam alam terdapat asam lemak yang tidak jenuh, mengandung satu atau lebih ikatan ganda. Sifat inilah yang menyebabkan suatu asam lemak tidak jenuh dapat direduksi, dihidrogenasi, dioksidasi, dan mengadisi. Dibanding dengan asam lemak yang jenuh, maka jenis lemak ini lebih reaktif.

Selama penyimpanan lemak atau minyak menjadi tengik disebabkan pembentukan peroksida pada ikatan rangkap karena bereaksi dengan oksigen dari udara atau oleh aktivitas enzim ataupun jasad renik, dan selanjutnya terjadi degradasi molekul menjadi beragam

senyawa aldehid, keton, asam, alkohol dengan BM relatif rendah dan sebagian bersifat volatil dengan aroma yang tidak enak (tengik).

C. Pelaksanaan Praktikum Uji Daya Larut Lipid

1. Tujuan : mengetahui kelarutan minyak pada pelarut tertentu
2. Prinsip reaksi
Minyak dalam air akan membentuk emulsi yang tak mantap karena butir-butir kecil berkumpul menjadi besar. Penambahan zat-zat emulsier seperti protein, sabun, gom akan membentuk emulsi yang stabil/mantap. Minyak dengan Na_2CO_3 menyebabkan proses penyabunan, sedangkan lemak akan melarut baik dengan pelarut organik (non polar).
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, rak tabung, pipet tetes, pipet ukur 2 mL
 - b. Bahan dan pereaksi: Air, HCl 2 N, Na_2CO_3 1%, alkohol, benzena, kloroform, ether, minyak
4. Langkah Kerja
 - a. Pipet 2 ml air, HCl 2 N, Na_2CO_3 1%, alkohol dingin, alkohol panas, benzena, kloroform, dan ether kedalam tabung reaksi.
 - b. Tambahkan 2 tetes minyak kedalam tiap tabung, kemudian kocok.
 - c. Amati perubahan yang terjadi.
5. Interpretasi: minyak tidak larut dalam pelarut polar dan larut dalam pelarut non polar (organik)
6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 2. 1 Hasil Unjuk Kerja Uji Daya Larut Lipid

No	Minyak Dalam	Pengamatan
		Larut / tidak larut /terbentuk emulsi
1	Air	
2	HCl 2 N	
3	Na_2CO_3 1%	
4	Alkohol dingin	
5	Alkohol panas	
6	Benzena	
7	Kloroform	
8	Ether	

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

- a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

D. Pelaksanaan Praktikum Uji Keasaman Lipid

1. Tujuan: mengetahui sifat asam basa minyak kelapa dan minyak tengik
2. Prinsip Reaksi:

Minyak biasa bersifat netral sedangkan minyak tengik bersifat asam karena hidrolisa dan oksidasi trigliserida menghasilkan asam-asam lemak, aldehid, dan keton.
3. Alat dan Bahan:
 - a. Alat: tabung reaksi, pipet tetes, kertas pH universal
 - b. Bahan: Minyak kelapa dan minyak tengik
4. Langkah Kerja
 - a. Celupkan kertas pH universal masing-masing ke dalam minyak kelapa dan minyak tengik.

- b. Amati pH pada kertas pH universal kemudian bandingkan pH yang terjadi dengan indikator pH.
5. Interpretasi:
Minyak biasa bersifat netral (pH 7); Minyak tengik bersifat asam (pH<7)

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 2. 2 Hasil Unjuk Kerja Uji Keasaman Lipid

Jenis percobaan	Sampel	pH (angka)	Asam/netral/basa
Uji Keasaman dari minyak	Minyak kelapa		
	Minyak tengik		

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

E. Pelaksanaan Praktikum Uji Pembentukan Emulsi

1. Tujuan: mengetahui terjadinya pembentukan emulsi dari minyak
2. Prinsip reaksi
Minyak kelapa dan minyak tengik dengan penambahan Na_2CO_3 akan terjadi proses penyabunan. Pada minyak tengik terdapat asam-asam lemak bebas sehingga akan membentuk emulsi yang lebih stabil.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, pipet ukur 5 mL, pipet tetes.
 - b. Bahan: minyak kelapa, minyak tengik, dan Na_2CO_3 0,5%
4. Langkah Kerja:
 - a. Pipet masing-masing 5 ml air dan masukkan kedalam 3 tabung reaksi :
 - 1) Tabung 1 masukkan 2 tetes minyak kelapa dan kocoklah
 - 2) Tabung 2 masukkan 2 tetes minyak kelapa dan 2 tetes Na_2CO_3 0,5 % dan kocok
 - 3) Tabung 3 masukkan 2 tetes minyak tengik dan 2 tetes Na_2CO_3 0,5 %, dan kocok
 - b. Amati perubahan yang terjadi.
5. Interpretasi:
Minyak tengik akan membentuk emulsi yang lebih stabil
6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 2. 3 Hasil Unjuk Kerja Uji Pembentukan Emulsi

Jenis percobaan	Sampel	Pengamatan	< stabil / stabil / > stabil
Uji Pembentukan Emulsi	Minyak kelapa		
	Minyak kelapa + Na_2CO_3		
	Minyak tengik + Na_2CO_3		

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

- a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

F. Pelaksanaan Praktikum Uji Benedict Kuantitatif

1. Tujuan: mengetahui sifat mereduksi dari gliserol
2. Prinsip reaksi
 Reaksi gliserol dengan O_2 dari udara akan membentuk gliseraldehid dan dihidroksi aseton. Kedua zat ini yang dapat mereduksi ion Cu^{2+} sehingga menjadi Cu^+ dan dalam suasana basa mengendap sebagai Cu_2O (endapan merah bata).
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, rak tabung, pipet ukur 5 mL, pipet tetes, waterbath
 - b. Bahan dan pereaksi: Larutan Benedict (17 gr $CuSO_4$, 10 gr Na_2CO_3 dan 170 gr Na-sitrat dilarutkan dalam 1 liter aquades), Gliserol
4. Langkah Kerja
 - a. Kedalam tabung reaksi pipet 3 ml larutan benedict
 - b. Tambahkan 5 tetes gliserol, kemudian panaskan dan amati perubahan yang terjadi (reaksi positif bila terjadi warna endapan kuning-merah bata).
 - c. Tambahkan 15 tetes gliserol, kemudian panaskan dan amati perubahan yang terjadi
 - d. Bila reaksi negatif tambahkan gliserol sampai reaksi positif.
5. Interpretasi
 Hasil (+) positif ditandai dengan terbentuknya endapan warna kuning-merah bata
 Hasil (-) negatif ditandai dengan tidak terbentuknya endapan warna kuning-merah bata

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 2. 4 Hasil Unjuk Kerja Uji Benedict Kuantitatif

Jenis percobaan	Nama Sampel	Pengamatan	Hasil (+) / (-)
Benedict Kuantitatif	5 tetes gliserol		
	20 tetes gliserol		
	60 tetes gliserol		

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

G. Pelaksanaan Praktikum Uji Dunstan

1. Tujuan: mengetahui sifat asam dari gliserol

2. Prinsip reaksi

Larutan borax dalam air akan terurai menjadi asam borat dan NaOH. Gliserol (polihidroksi alkohol) akan bereaksi dengan asam borat membentuk senyawa yang bersifat lebih asam dan bila dipanaskan reaksi bergeser kekiri sehingga larutan bersifat basa.

3. Alat dan Bahan

- Alat: tabung reaksi, pipet ukur 5 mL, pipet tetes, penjepit tabung, lampu spiritus
- Bahan dan pereaksi: larutan borax 0,5%, larutan fenolftalein 1%, dan gliserol

4. Langkah Kerja

- Kedalam tabung reaksi pipet 5 ml larutan borax 0,5%
- Tambahkan 2 tetes fenolftalein
- Amati perubahan yang terjadi
- Teteskan gliserol tetes demi demi sampai warna hilang.
- Panaskan, amati perubahan yang terjadi.

5. Interpretasi

Adanya sifat asam gliserol ditandai dengan hilangnya warna merah pada saat gliserol ditambahkan ke dalam campuran larutan borax dan fenolftalein

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 2. 5 Hasil Unjuk Kerja Uji Dunstan

Jenis percobaan	Reaksi	Pengamatan	Hasil (+) / (-)
Uji Dunstan	Borax+fenolftalein		
	+ gliserol		
	dipanaskan		

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

H. Pelaksanaan Praktikum Uji Salkowsky

1. Tujuan: mengidentifikasi adanya kolesterol dan sterol lain
2. Prinsip reaksi:

Dengan adanya asam sulfat terjadi oksidasi dan dehidrasi dari kolesterol membentuk zat yang memberi warna merah coklat sampai ungu pada lapisan atas dan pada lapisan bawah terjadi warna merah yang cepat berubah menjadi biru (fluoresensi hijau / reaksi ini dilakukan dalam keadaan kering).
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, pipet ukur 1 mL, spatula
 - b. Bahan dan pereaksi: kolesterol padat, kloroform, H_2SO_4 pekat
4. Langkah Kerja:
 - a. Kedalam tabung reaksi masukkan sedikit kolesterol padat
 - b. Tambahkan 1 ml kloroform campur dan 2 ml H_2SO_4 pekat lewat dinding tabung
 - c. Amati perubahan yang terjadi.
5. Interpretasi

Reaksi positif bila terbentuk dua lapisan:

 - Lapisan atas: kloroform, berwarna merah coklat/ungu
 - Lapisan bawah: asam sulfat, berfluoresensi hijau

Reaksi negatif bila tidak terjadi perubahan

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 2. 6 Hasil Unjuk Kerja Uji Salkowski

Nama Uji	Nama sampel	Pengamatan	Hasil (+) / (-)
Salkowski	Minyak		
	Lemak		

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

I. Pelaksanaan Praktikum Uji Lieberman Burchard

1. Tujuan: mengidentifikasi adanya kolesterol dan sterol lain
2. Prinsip reaksi:
Kolesterol dengan asetat anhidrat dan asam sulfat pekat pada temperatur kamar membentuk senyawa yang berwarna biru hijau. Kecepatan terbentuknya warna berlainan untuk macam-macam sterol.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, pipet ukur 1 mL, pipet tetes, spatula
 - b. Bahan dan pereaksi: kolesterol padat, kloroform, H₂SO₄ pekat, asam asetat anhidrat
4. Langkah Kerja:
 - a. Kedalam tabung reaksi masukkan sedikit kolesterol
 - b. Tambahkan 1 ml kloroform
 - c. Tambahkan 5 tetes asam cuka anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat
 - d. Amati perubahan yang terjadi.
5. Interpretasi:
Reaksi positif bila terbentuk warna merah yang berubah menjadi biru lalu biru hijau
Reaksi negatif bila tidak terjadi perubahan
6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 2. 7 Hasil Unjuk Kerja Uji Lieberman Burchard

Nama Uji	Nama sampel	Pengamatan	Hasil (+) / (-)
Lieberman Burchard	Minyak		
	Lemak		

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

- a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

J. Rangkuman

Lipid adalah kelompok senyawa yang heterogen, termasuk lemak, minyak, steroid, lilin, dan senyawa terkait, yang lebih terkait secara fisik daripada sifat kimianya. Pada umumnya bahan-bahan yang termasuk lipid sukar larut dalam air, tetapi dapat larut dalam pelarut organik (non polar) seperti ethyl ether, kloroform, benzena dan lain-lain. Selama penyimpanan lemak atau minyak menjadi tengik disebabkan pembentukan peroksida pada ikatan rangkap karena bereaksi dengan oksigen dari udara atau oleh aktivitas enzim ataupun jasad renik, dan selanjutnya terjadi degradasi molekul menjadi beragam senyawa aldehid, keton, asam, alkohol dengan BM relatif rendah dan sebagian bersifat volatil dengan aroma yang tidak enak (tengik)

K. Latihan/Tugas/Eksperimen

Lakukan uji identifikasi lipid pada Sampel A untuk membuktikan bahwa Sampel A mengandung kolesterol! (Nama Uji, Cara kerja, Hasil pengamatan).

BAB III IDENTIFIKASI PROTEIN DAN ASAM AMINO

A. Pendahuluan

Capaian pembelajaran yang akan dicapai Mahasiswa pada materi identifikasi protein dan asam amino ini adalah mampu melakukan identifikasi protein dan asam amino dengan menggunakan instrumen sederhana dan otomatis secara terampil dengan menerapkan kesehatan dan keselamatan kerja, bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri, mampu bekerja sama, berkomunikasi dan berinovatif dalam pekerjaannya dan mampu menyusun laporan hasil dan proses kerja secara akurat dan sah serta mengkomunikasikannya secara efektif kepada pihak lain yang membutuhkan.

Percobaan identifikasi protein dan asam amino meliputi uji Biuret, uji Millon, uji Xantoprotein, uji Ninhydrin, uji Neumann, uji Cincin Heller, uji Sulfur, uji pengendapan protein dengan logam berat dan uji pengendapan protein dengan garam.

B. Penyajian Materi

Protein adalah senyawa yang terdiri atas satu atau beberapa rantai polipeptida yang tersusun oleh L-alfa-asam amino. Masing-masing peptida mempunyai jumlah asam amino lebih dari 100. Asam amino yang membentuk protein ada 20 macam. Berat molekul protein adalah antara 5.000 - 25.000.000, biasanya antara 5.000 - 1.000.000. Karakteristik masing-masing protein ditentukan oleh struktur primernya. Pada organisme, protein ikut menyusun dinding sel, plasma sel (protoplasma dan benda-benda yang terdapat dalam sitoplasma seperti mitokondria, inti, kromosom, dll).

Protein merupakan komponen penting dalam tubuh kita, senyawa organik ini berfungsi antara lain sebagai katalis reaksi biokimia (enzim), pengangkut oksigen (hemoglobin), antibodi, struktural sel dan jaringan dan sebagainya. Penyusun protein adalah asam amino yang berikatan satu dengan lainnya melalui ikatan peptida.

Adanya gugus terminal NH_2 dan COOH serta gugus cabang R yang dapat bermuatan positif ataupun negatif, maka protein tadi menunjukkan sifat asam dan basa (amfolit). Protein dapat mengalami denaturasi oleh panas, pH, logam berat dan sebagainya. Peristiwa denaturasi adalah terbukanya lipatan alamiah struktur protein. Jika denaturasi ini belum berlanjut maka polimer ini bisa melipat lagi dan kembali pada struktur alamiah. Namun bila denaturasi ini berlanjut, gugus-gugus yang semula membentuk lipatan pada struktur protein alamiah akan membentuk ikatan antar molekul, dan berakibat proteinnya akan mengumpal.

Ikatan peptida yang ada pada protein dapat dihidrolisis dengan bantuan asam dalam keadaan panas, basa atau enzim. Yang sering dipergunakan adalah asam. Sebelum protein tadi dihidrolisis sempurna, maka sekurang-kurangnya terdapat tiga tahap pemecahan. Hasil masing-masing tahap ialah metaprotein, proteose dan pepton, peptida sederhana.

Dengan penambahan pereaksi tertentu gugus amino dari protein akan bereaksi menghasilkan senyawa berwarna, misalnya : bila tirosin ditambah reagen Millon akan menghasilkan warna merah.

C. Pelaksanaan Praktikum Uji Biuret

1. Tujuan: mengetahui adanya molekul peptida atau protein

2. Prinsip reaksi

Suatu peptida yang terdiri dari dua atau lebih ikatan peptida bereaksi dengan Cu^{2+} dalam larutan basa akan membentuk kompleks yang berwarna biru-ungu.

3. Alat dan Bahan

a. Alat: tabung reaksi, pipet ukur 5 mL, pipet tetes

b. Bahan dan pereaksi: Sampel protein, NaOH 2 N, dan CuSO_4 1%

4. Langkah Kerja

a. Masukkan 2 ml NaOH 2 N kedalam tabung reaksi,

b. Tambahkan 2 tetes CuSO_4 1%, dan kocok.

c. Tambahkan 1 ml sampel protein, kocok

d. Perhatikan warna yang terjadi

5. Interpretasi

Hasil (+) positif bila terbentuk kompleks yang berwarna biru-ungu.

Hasil (-) negatif bila tidak terjadi perubahan warna

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 3. 1 Hasil Unjuk Kerja Uji Biuret

No	Nama sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		sebelum	sesudah	
1				
2				
3				

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

D. Pelaksanaan Praktikum Uji Millon

1. Tujuan : mengetahui adanya gugus fenol penyusun asam amino
2. Prinsip reaksi:
Protein dipanaskan dengan larutan HgSO_4 dalam suasana asam H_2SO_4 terjadi warna merah, yang disebabkan oleh adanya gugus fenol.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, lampu spiritus/waterbath, pipet ukur 2 mL, pipet tetes.
 - b. Bahan dan pereaksi: sampel protein, pereaksi Millon (1 % HgSO_4 dalam 10% H_2SO_4) dan NaNO_2 1%
4. Langkah Kerja
 - a. Masukkan 2 ml sampel protein kedalam tabung reaksi.
 - b. Tambahkan 1 ml pereaksi millon dan panaskan 3 menit di waterbath
 - c. Dinginkan, kemudian ditambah 1 tetes NaNO_2 1 % dan panaskan kembali
 - d. Panaskan dengan hati-hati akan timbul warna merah.

5. Interpretasi

Hasil (+) positif bila terbentuk warna merah

Hasil (-) negatif bila tidak terbentuk warna merah

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 3. 2 Hasil Unjuk Kerja Uji Millon

No	Nama sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		sebelum	sesudah	
1				
2				
3				

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

E. Pelaksanaan Praktikum Uji Xantoprotein

1. Tujuan: mengetahui adanya gugus aromatik pada asam amino
2. Prinsip reaksi
Asam nitrat bila ditambahkan kedalam larutan protein menyebabkan warna kuning yang kemudian berubah menjadi jingga.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, penjepit tabung, pipet ukur 2 mL, pipet tetes, lampu spiritus/waterbath
 - b. Bahan dan pereaksi: sampel protein, HNO_3 p dan NaOH 40%
4. Langkah Kerja
 - a. Masukkan 2 ml sampel protein kedalam tabung reaksi
 - b. Tambahkan 1 ml HNO_3 p, perhatikan terbentuknya endapan putih.
 - c. Panaskan mendidih selama 1 menit
 - d. Dinginkan dengan air mengalir dan masukkan dengan hati-hati melalui dinding tabung tetes demi tetes larutan NaOH 40% sehingga terbentuk dua lapisan.
5. Interpretasi
Hasil (+) positif bila terbentuk warna kuning yang kemudian berubah menjadi jingga.
Hasil (-) negatif bila tidak terbentuk warna kuning yang kemudian berubah menjadi jingga.
6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 3. 3 Hasil Unjuk Kerja Uji Xantoprotein

No	Nama sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		sebelum	sesudah	
1				
2				
3				

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

F. Pelaksanaan Praktikum Uji Ninhydrin

1. Tujuan: mengetahui adanya asam amino bebas pada protein
2. Prinsip reaksi:

Gugus amino dapat bereaksi dengan pereaksi ninhydrin membentuk aldehid yang lebih rendah dengan melepaskan NH_3 dan CO_2 , dan terbentuk kompleks berwarna biru.

3. Alat dan Bahan

- a. Alat: tabung reaksi, penjepit tabung, pipet ukur 2 mL, pipet tetes, lampu spiritus/waterbath

4. Langkah Kerja

- a. Masukkan 2 ml larutan protein ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 7 tetes larutan ninhydrin.
- b. Letakkan pada penangas air mendidih selama 10 menit
- c. Amati perubahan warna yang terjadi.

5. Interpretasi:

Hasil (+) positif bila terbentuk kompleks berwarna biru

Hasil (-) negatif bila tidak terbentuk kompleks berwarna biru

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 3. 4 Hasil Unjuk Kerja Uji Ninhydrin

No	Nama sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		sebelum	sesudah	
1				
2				
3				

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

- a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

G. Pelaksanaan Praktikum Uji Neumann

1. Tujuan: mengetahui adanya kasein pada protein
2. Prinsip Reaksi:
 Dengan adanya oksidator kuat (HNO_3 dan H_2SO_4) maka akan terjadi destruksi dari kasein dan akan dibebaskan zat organik. Fosfor organik dalam kasein akan diubah menjadi fosfor anorganik yang memberikan endapan kuning kenari amonium fosfomolibdat.
https://www.answers.com/Q/What_is_the_principle_of_neumann_test_for_casein
3. Alat dan Bahan:
 - a. Alat: tabung reaksi, penjepit tabung, pipet ukur 2 mL, pipet tetes, lampu spiritus/waterbath
 - b. Bahan dan pereaksi: kasein/sampel protein, HNO_3 pekat, H_2SO_4 pekat, Larutan Amonium Molibdat 20%.
4. Langkah Kerja:
 - a. Kedalam tabung reaksi masukkan sedikit sampel protein (kasein), tambahkan 2 tetes HNO_3 pekat dan 10 tetes H_2SO_4 pekat.
 - b. Panaskan di atas lampu spiritus sambil digoyang-goyang sampai tidak berwarna.
 - c. Biarkan dingin kemudian tambahkan 2 ml larutan amonium molibdat
 - d. Kemudian panaskan kembali
 - e. Amati warna endapan yang terjadi.
5. Interpretasi
 Hasil (+) positif bila terbentuk endapan kuning kenari
 Hasil (-) negatif bila tidak terbentuk endapan kuning

6. Hasil Unjuk Kerja:

Tabel 3. 5 Hasil Unjuk Kerja Uji Neumann

No	Nama sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		sebelum	sesudah	
1				
2				
3				

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

H. Pelaksanaan Praktikum Uji Cincin Heller

1. Tujuan: mengetahui adanya protein (albumin dan globulin)
2. Prinsip reaksi:
Protein dengan HNO_3 pekat akan membentuk dua lapisan, pada bidang batas terlihat warna putih yang lama kelamaan menjadi kuning.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, pipet ukur 2 mL
 - b. Bahan dan pereaksi: sampel protein, HNO_3 pekat
4. Langkah Kerja
 - a. Masukkan 2 ml sampel protein kedalam tabung reaksi,
 - b. Tambahkan 2 ml HNO_3 pekat dengan hati-hati lewat dinding tabung.
 - c. Amati antara dua lapisan perbatasan terlihat warna putih, lama kelamaan menjadi kuning, kemudian menjadi coklat.
5. Interpretasi
Hasil (+) positif bila terbentuk warna endapan putih di antara dua lapisan
Hasil (-) negatif bila tidak terbentuk endapan putih
6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 3. 6 Hasil Unjuk Kerja Uji Cincin Heller

No	Nama sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		sebelum	sesudah	
1				
2				
3				

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

- a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

I. Pelaksanaan Praktikum Uji Sulfur

1. Tujuan: mengetahui adanya sulfur dalam protein
2. Prinsip reaksi:

Protein bila dipanaskan akan mengendap atau menggumpal dalam suasana basa. Bila ditambahkan Pb asetat endapan akan berwarna coklat kehitaman. Pb akan berikatan dengan sulfur menjadi PbS yang mengendap.
3. Alat dan Bahan
 - a. Alat: tabung reaksi, penjepit tabung, pipet ukur 2 mL, pipet tetes, lampu spiritus
 - b. Bahan dan pereaksi: sampel protein, NaOH 40%, Pb asetat.
4. Langkah Kerja
 - a. 1 ml sampel protein dimasukkan ke dalam tabung reaksi
 - b. Panaskan kurang lebih 2 menit diatas lampu spiritus
 - c. Tambahkan 2 ml NaOH 40% dan 2 tetes Pb asetat, kemudian kocok
 - d. Amati reaksi yang terjadi
5. Interpretasi

Hasil (+) positif bila terbentuk endapan coklat kehitaman
Hasil (-)negatif bila tidak terbentuk endapan coklat kehitaman

6. Hasil Unjuk Kerja

Tabel 3. 7 Hasil Unjuk Kerja Uji Sulfur

No	Nama sampel	Pengamatan		Hasil (+) / (-)
		sebelum	sesudah	
1				
2				

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

J. Pelaksanaan Praktikum Uji Pengendapan dengan Logam Berat

1. Tujuan: mengetahui pengaruh logam berat terhadap sifat kelarutan protein
2. Prinsip reaksi:
 Dalam suasana yang lebih basa dari titik iso elektriknya, maka gugus amino dari protein disosiasinya terdesak yang menyebabkan protein bersifat asam sehingga dapat mengikat logam berat membentuk garam proteinat yang tidak larut.
3. Alat dan Bahan:
 - a. Alat: tabung reaksi, pipet ukur 5 mL, pipet tetes
 - b. Bahan dan pereaksi: sampel protein, Na_2CO_3 5%, FeCl_3 2%, CuSO_4 5%, HgCl_2 jenuh, Pb asetat 5%.
4. Langkah Kerja:
 - a. Siapkan 4 tabung reaksi masing-masing berisi 5 ml larutan protein (albumin 2%)
 - b. Tambahkan masing-masing tabung (tetes demi tetes) larutan di bawah ini :
 - 1) 1 tetes Na_2CO_3 5% + 10 tetes FeCl_3 2%
 - 2) 1 tetes Na_2CO_3 5% + 10 tetes CuSO_4 5%
 - 3) 1 tetes Na_2CO_3 5% + 10 tetes HgCl_2 jenuh
 - 4) 1 tetes Na_2CO_3 5% + 10 tetes Pb asetat 5%
 - c. Perhatikan perubahan yang terjadi pada masing-masing tabung.
5. Interpretasi:
 Hasil (+) positif bila terbentuk endapan
 Hasil (-) negatif bila tidak terbentuk endapan
6. Hasil Unjuk Kerja:

Tabel 3. 8 Hasil Unjuk Kerja Uji Pengendapan dengan Logam Berat

No	Nama Sampel	Pengamatan				Hasil (+)/(-)
		+ FeCl_3	+ CuSO_4	+ HgCl_2	+ Pb asetat	
1						
2						

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

K. Pelaksanaan Praktikum Uji Pengendapan dengan Garam Netral

1. Tujuan: mengetahui pengaruh garam terhadap sifat kelarutan protein
2. Prinsip reaksi:

Garam-garam netral mempunyai kemampuan untuk menarik air sehingga dengan demikian molekul-molekul protein kehilangan molekul airnya, yang mengakibatkan molekul-molekul protein mengadakan agregasi dan akhirnya mengendap.

3. Alat dan Bahan:

- a. Alat: tabung reaksi, pipet ukur 5 mL, corong, kertas saring.
- b. Bahan dan pereaksi:
 - Sampel protein (1 bagian putih telur + 4 bagian NaCl 1%)
 - Larutan Amonium sulfat jenuh, Amonium sulfat kristal

4. Langkah Kerja:

- a. Masukkan 5 ml larutan protein ke dalam tabung reaksi

- b. Tambahkan 5 ml $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ jenuh, kocok dan perhatikan adakah protein yang dapat diendapkan.
 - c. Encerkan sebagian campuran tadi dengan sedikit air. Apakah presipitat ini reversibel.
 - d. Pada sisanya tambahkan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ kristal sehingga jenuh. Perhatikan apa yang terjadi, apakah presipitat ini reversibel
 - e. Saringlah sisanya dan lakukan tes biuret pada filtrat.
5. Interpretasi:
- Hasil (+) positif bila terbentuk endapan
- Hasil (-) negatif bila tidak terbentuk endapan

6. Hasil Unjuk Kerja:

Tabel 3. 9 Hasil Unjuk Kerja Uji Pengendapan dengan Garam Netral

No	Nama Sampel	Pengamatan			Hasil sempurna/belum
		+ NH_4 sulfat jenuh	+ air	Tes biuret (+) / (-)	
1					
2					

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

L. Rangkuman

Protein merupakan komponen penting dalam tubuh kita, senyawa organik ini berfungsi antara lain sebagai katalis reaksi biokimia (enzim), pengangkut oksigen (hemoglobin), antibodi, struktural sel dan jaringan dan sebagainya. Penyusun protein adalah **asam amino** yang berikatan satu dengan lainnya melalui **ikatan peptida**. Adanya gugus terminal NH_2 dan COOH serta gugus cabang R yang dapat bermuatan positif ataupun negatif, maka protein tadi menunjukkan sifat asam dan basa (amfolit). Protein dapat mengalami denaturasi oleh panas, pH, logam berat dan sebagainya. Identifikasi protein dilakukan untuk menentukan keberadaan asam amino atau peptidanya

M. Latihan/Tugas/Eksperimen

Jika dilakukan uji adanya sulfur pada sampel berikut: tirosin, triptofan, dan sistein, manakah yang akan memberikan hasil uji sulfur positif? Jelaskan!

BAB IV PENGUJIAN FAKTOR-FAKTOR YANG MEMENGARUHI AKTIVITAS ENZIM

A. Pendahuluan

Capaian pembelajaran yang akan dicapai Mahasiswa pada materi ini adalah Mahasiswa mampu menguasai teori yang berkaitan dengan faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim; Mampu melakukan pengujian faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim dengan benar dan lancar; Bertanggungjawab atas pekerjaan di bidang keahliannya secara mandiri; Mampu bekerja sama, berkomunikasi dan berinovatif dalam pekerjaannya dan mampu menyusun laporan hasil dan proses kerja secara akurat dan sah serta mengkomunikasikannya secara efektif kepada pihak lain yang membutuhkan. Pengujian meliputi pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim.

B. Penyajian Materi

Enzim adalah golongan protein yang paling banyak terdapat dalam sel hidup. Masing-masing enzim berfungsi sebagai katalisator reaksi kimia dalam sistem hidup. Sintesis enzim terjadi di dalam sel dan sebagian besar enzim dapat diperoleh dengan ekstraksi dari jaringan tanpa merusak fungsinya.

Sebagai katalisator, enzim berbeda dengan katalisator anorganik dan organik sederhana yang umumnya dapat mengatalisis berbagai reaksi kimia. Enzim mempunyai spesifitas yang sangat tinggi, baik terhadap reaktan (substrat) maupun jenis reaksi yang dikatalisisnya.

Kebanyakan enzim baru berfungsi sebagai katalis apabila disertai zat lain yang bukan protein, yang disebut kofaktor. Suatu kofaktor dapat berupa ion logam sederhana seperti Fe^{2+} atau Cu^{2+} , tetapi dapat pula berupa molekul organik kompleks yang disebut koenzim. Bagian protein dari enzim disebut apoenzim. Gabungan apoenzim dengan kofaktornya sehingga menjadi enzim aktif disebut holoenzim.

Enzim dibagi menjadi enam kelas, yaitu oksidoreduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase dan ligase. Kerja dari enzim-enzim tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu suhu, pH, konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat.

C. Praktikum Pengujian Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim

1. Tujuan: membuktikan pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim
2. Prinsip reaksi:

Pada suhu sangat rendah, aktivitas enzim dapat terhenti. Kenaikan suhu lingkungan akan meningkatkan energi kinetik enzim dan frekuensi tumbukan antara molekul enzim dan

substrat, sehingga enzim menjadi aktif. Bila suhu ditingkatkan terus, maka enzim akan mengalami denaturasi.

3. Alat dan Bahan:

- a. Alat: tabung reaksi, pipet ukur 2 mL, penangas air, pipet tetes, gelas kimia.
- b. Bahan dan pereaksi: Larutan amilum 1%, enzim amilase (saliva), larutan iodium, pereaksi benedict

4. Langkah Kerja:

- a. Siapkan 5 tabung reaksi dan masing-masing di isi 2 ml amilum.
- b. Tambahkan 1 ml enzim amilase pada setiap tabung.
- c. Tabung 1, masukkan ke gelas kimia yang berisi es
- d. Tabung 2, simpan pada suhu kamar
- e. Tabung 3, masukkan ke dalam penangas air dengan suhu 37 – 40°C
- f. Tabung 4, masukkan ke dalam penangas air dengan suhu 75 – 80°C
- g. Tabung 5, masukkan ke dalam penangas air mendidih
- h. Biarkan masing-masing tabung pada tempatnya selama 15 menit
- i. Selanjutnya uji dengan tes iodium dan tes benedict
- j. Catat dan amati perubahan warna yang terjadi

5. Interpretasi:

Tabung 1: Hasil tes Iodium (+), hasil tes Benedict (-)

Tabung 2: Hasil tes Iodium (-), hasil tes Benedict (+)

Tabung 3: Hasil tes Iodium (+), hasil tes Benedict (-)

Tabung 4: Hasil tes Iodium (+), hasil tes Benedict (-)

Tabung 5: Hasil tes Iodium (+), hasil tes Benedict (-)

6. Hasil Unjuk Kerja:

Tabel 4. 1 Hasil Unjuk Kerja Pengujian Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim

No	Suhu (°C)	Pengamatan	
		Tes Iodium	Tes Benedict
1	0		
2	25 – 30		
3	37 – 40		
4	75 – 80		
5	100		

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

- a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

D. Praktikum Pengujian Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim

1. Tujuan: membuktikan pengaruh pH terhadap aktivitas enzim
2. Prinsip reaksi:

Enzim bekerja pada kisaran pH tertentu, aktivitas maksimum terjadi pada pH optimum, umumnya antara pH 6 – 8. Jika pH rendah atau tinggi, maka dapat menyebabkan enzim mengalami denaturasi, sehingga menurunkan aktivitasnya

3. Alat dan Bahan:

- Alat: tabung reaksi, pipet ukur 2 mL, pipet tetes.
- Bahan dan pereaksi: Larutan amilum 1%, enzim amilase (saliva), larutan HCl 0,4 % (pH = 1), aquades (pH = 7), larutan Na₂CO₃ 1% (pH = 9), larutan iodium, pereaksi Benedict

4. Langkah Kerja:

- Siapkan 3 tabung reaksi, kemudian isi tabung 1 dengan 2 ml HCl 0,4%, tabung 2 dengan 2 ml aquades, dan tabung 3 dengan 2 ml Na₂CO₃ 1%.
- Ke dalam tiap tabung, tambahkan 2 ml amilum dan 1 ml enzim amilase
- Campurkan sampai homogen, kemudian biarkan selama 15 menit
- Selanjutnya uji dengan tes iodium dan tes benedict
- Catat dan amati perubahan warna yang terjadi

5. Interpretasi:

Tabung 1: Hasil tes Iodium (+), hasil tes Benedict (-)

Tabung 2: Hasil tes Iodium (-), hasil tes Benedict (+)

Tabung 3: Hasil tes Iodium (+), hasil tes Benedict (-)

6. Hasil Unjuk Kerja:

Tabel 4. 2 Hasil Unjuk Kerja Pengujian Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim

No	pH	Pengamatan	
		Tes Iodium	Tes Benedict
1	1		
2	7		
3	9		

7. Pembahasan dan Simpulan Kegiatan Praktikum

a. Pembahasan

b. Simpulan Kegiatan Praktikum

E. Rangkuman

Pada suhu sangat rendah, aktivitas enzim dapat terhenti. Kenaikan suhu lingkungan akan meningkatkan energi kinetik enzim dan frekuensi tumbukan antara molekul enzim dan substrat, sehingga enzim menjadi aktif. Bila suhu ditingkatkan terus, maka enzim akan mengalami denaturasi. Enzim bekerja pada kisaran pH tertentu, aktivitas maksimum terjadi pada pH optimum, umumnya antara pH 6 – 8. Jika pH rendah atau tinggi, maka dapat menyebabkan enzim mengalami denaturasi, sehingga menurunkan aktivitasnya.

F. Latihan/Tugas/Eksperimen

Jelaskan mengapa pengujian pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim dibuktikan dengan menggunakan uji Benedict dan uji iodium?

DAFTAR RUJUKAN

- Koolman, J., Rohm, K.H. 2001. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia*. Edisi 1 alih bahasa Septelia Inawati Wanandi. Hipokrates: Jakarta.
- Mohamed I. Elzagheid. 2018. Laboratory Activities to Introduce Carbohydrates Qualitative Analysis to College Students. *World Journal of Chemical Education*. Vol. 6 (2).82-86
- Murray, R.K., Granner, D.K., Rodwell, V.W. 2018. *Biokimia Harper*. Edisi 31. EGC: Jakarta.
- Nelson, D., Cox, M.M.. 2004. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Fourth edition. Wisconsin.
- Sagar Aryal. 2022. *Biochemistry Notes - Microbe Notes*. Nepal
- Yazid, E., Nursanti L. 2006. *Penuntun Praktikum Biokimia untuk Mahasiswa Analis*. Andi Publisher: Jakarta.