

BUKU PENUNTUN

**PRAKTIKUM BIOKIMIA
(BLOK BS 1)**



**BAGIAN BIOKIMIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2016**

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Illahi Robi, atas segala rahmat dan karunia-Nya Buku Penuntun Praktikum Biokimia ini dapat tersusun dengan baik. Penyusunan buku Penuntun Praktikum ini dimaksudkan untuk membantu mahasiswa dalam menjalankan kegiatan praktikum, sehingga dapat memperoleh pemahaman yang lebih baik dari teori yang telah dipelajari dalam kuliah.

Buku Penuntun Praktikum ini di susun sejalan dengan pengembangan inovasi pembelajaran Praktikum Biokimia yang bertujuan meningkatkan pemahaman Ilmu Biokimia Kedokteran melalui pembelajaran praktikum berbasis permasalahan klinis.

Dalam kegiatan praktikum ini mahasiswa akan juga dilatih untuk mengidentifikasi permasalahan-mengumpulkan informasi melalui studi kepustakaan data-mengevaluasi data yang diperoleh-menarik kesimpulan – melaporkan hasil dan kesimpulan yang merupakan tambahan informasi untuk lebih memahami teori yang mendasari atau berkaitan dengan permasalahan klinis yang dibahas.

Berkaitan dengan tujuan pembelajaran praktikum ini, maka disamping berisi teknik atau metoda pemeriksaan Biokimiawi, buku praktikum ini juga memuat permasalahan klinis yang berkaitan dengan pokok bahasan praktikum, teori yang mendasari pokok bahasan, serta petunjuk mengenai issue-issue yang harus dibahas pada tiap pokok bahasan. Dengan susunan seperti ini diharapkan kegiatan praktikum akan berjalan lebih efektif dan efisien, mahasiswa akan lebih mampu belajar mandiri dan terarah, relevan dengan tuntutan tugas profesi lulusan kelak serta merupakan pengalaman belajar yang menarik serta menyenangkan bagi mahasiswa.

Kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan Buku Penuntun Praktikum Biokimia ini kami ucapkan terima kasih dan penghargaan.

Kami menyadari bahwa buku Penuntun Praktikum Biokimia ini masih perlu memperoleh perbaikan, untuk itu saran dan kritik dari para pembaca sangat kami harapkan.

Semoga Buku Penuntun Praktikum Biokimia ini dapat bermanfaat.

Bandar Lampung 2016

Penyusun

PERATURAN TATA TERTIB LABORATORIUM BIOKIMIA

PERATURAN UMUM

1. Praktikan tidak boleh masuk ruangan laboratorium sebelum jam praktikum
2. Praktikan harus mengisi absensi sebelum melakukan praktikum
3. Sebelum praktikum dimulai sewaktu-waktu akan diadakan response / test mengenai percobaan-percobaan yang sudah / akan dilakukan, baik lisan atau tertulis.
4. Ketidakhadiran mahasiswa pada kegiatan praktikum harus disertai alasan yang sah. Selanjutnya mahasiswa tersebut diserahkan kepada Dosen Pembimbingnya sesegera mungkin. Ketidakhadiran tanpa alasan yang sah atau Ketidakhadiran lebih dari dua kali menyebabkan mahasiswa tidak diperkenankan mengikuti ujian praktikum Biokimia.
5. Hasil-hasil pekerjaan praktikum, keaktifan berdiskusi, response-respons, test-test, akan diperhitungkan dalam menentukan nilai akhir pelajaran Biokimia.
6. Setelah selesai melakukan percobaan praktikum, mahasiswa mendiskusikan topic bahasan dalam kelompok masing-masing.
Mahasiswa harus meminta paraf Dosen Pembimbing pada kartu praktikumnya setiap selesai melakukan kegiatan praktikum atau setelah menyerahkan makalah.
7. Mahasiswa diharuskan membuat laporan mengenai apa yang telah didiskusikan. Laporan diserahkan minggu berikutnya.

PERATURAN KHUSUS

1. Jangan membuang kotoran/sampah ke dalam bak pencuci, buanglah ke tempat yang telah disediakan.
2. Jangan memindahkan/membawa botol-botol reagen dari tempatnya.
3. Penggunaan zat-zat seefisien mungkin sesuai dengan buku petunjuk praktikum dan jagalah supaya reagen tidak tercampur satu sama lain :
 - Bila pada tiap botol reagen disediakan pipet, ambillah reagen dengan pipet tersebut, dan untuk mengukurnya gunakanlah gelas ukur yang tersedia. Janganlah sekali-kali menuangkan reagen dari botolnya, atau mempertukarkan pipet bersama tutupnya.
 - Bila pada botol reagen tidak disediakan pipet khusus dapat digunakan pipet yang mempunyai kalibrasi yang tersedia, tetapi tiap pengambilan zat haruslah pipet tersebut dibilas dengan air terlebih dahulu.
4. Mikropipet yang Saudara pinjam, jika telah selesai dipergunakan agar dikembalikan ke tempat semula yang telah disediakan

- Tips/ujung pipet bekas pakai agar disimpan pada tempat yang telah disediakan.
5. Hati-hatilah dengan zat-zat yang mudah terbakar, seperti : ether, benzen, alkohol. Jauhkan dari api.
 6. Pemakaian bahan-bahan kimia yang uapnya beracun/berbau tidak enak, seperti : HCl pekat, asam sulfat pekat, kloroform dan sebagainya, dikerjakan di lemari asam.
 7. Membuang asam dan basa kuat harus dengan mengalirkan air yang banyak.
 8. Semua alat harus bersih, jika perlu cucilah dengan campuran K-bichromat dan asam sulfat pekat (terutama untuk biuret dan pipet)
 9. Sekali-kali janganlah mempergunakan alat pusingan (sentrifugasi). Kalau belum mengetahui caranya :
 - Tabung sentrifugasi harus selalu setimbang dan dipasang berhadapan
 - Janganlah mencoba memanaskan tabung sentrifugasi
 - Bersihkan tabung setiap kali sesudah memakai
 10. Setiap kali sebelum dan sesudah praktikum, alat-alat harus diperiksa dahulu. Kalau ada yang rusak/hilang segera laporkan.
 11. Alat-alat yang rusak/hilang diganti oleh praktikan yang bersangkutan dalam waktu 1 minggu
 12. Peminjaman alat-alat di luar inventaris sendiri, selalu memakai bon peminjaman. Kalau alat dikembalikan, bon peminjaman alat harus diminta kembali.
 13. Spesimen praktikum (darah, urin, air liur dan sebagainya) disiapkan oleh mahasiswa.

SANKSI-SANKSI

Praktikan-praktikan yang dianggap melanggar peraturan-peraturan di atas akan dikenakan sanksi sesuai dengan berat ringannya pelanggaran, dan tidak diperkenankan mengikuti praktikum sampai tak diperkenan mengikuti ujian.

Bandar Lampung, November 2016

Bagian Biokimia

FK Unila

ENZIM

Enzim adalah suatu biokatalisator. Ia mampu meningkatkan kecepatan suatu reaksi kimia yang terjadi dalam sel hidup. Tanpa enzim maka reaksi selular berlangsung sangat lambat, bahkan mungkin tidak terjadi.

Pada suatu reaksi enzimatik, secara spesifik enzim akan berikatan dengan suatu substrat (salah satu reaktan pada reaksi tersebut) membentuk suatu ikatan enzim-substrat, yang pada akhirnya akan menghasilkan suatu produk yang spesifik pula. Sifat reaksi enzimatik yang sangat spesifik ini menyebabkan tidak terjadinya kekacauan proses metabolisme walaupun ada ribuan macam enzim dan substrat di dalam sel.

Pada umumnya enzim adalah protein (kecuali enzim-enzim ribozim yang merupakan molekul asam nukleat). Untuk dapat aktif bekerja, seringkali enzim membutuhkan suatu komponen lain yang bukan protein. Zat non-protein ini lazimnya disebut kofaktor, yang dapat merupakan suatu molekul organik atau suatu ion.

Selain memerlukan keberadaan molekul substrat dan kofaktor, untuk memperoleh kerja yang optimal diperlukan pula faktor-faktor lain, seperti suhu dan pH lingkungan yang optimal.

Pada praktikum yang pertama mengenai enzim, akan ditunjukkan bahwa faktor-faktor tersebut di atas sangat diperlukan keberadaannya agar enzim dapat aktif bekerja secara optimal.

Dalam tubuh manusia terdapat enzim-enzim yang hanya diproduksi oleh sel-sel jaringan tertentu saja. Kerusakan pada sel-sel jaringan tersebut akan menyebabkan enzim akan keluar dari sel dan masuk ke dalam plasma darah. Fenomena ini dijadikan dasar untuk menggunakan enzim sebagai petanda ('marker') adanya suatu kerusakan jaringan, atau dengan perkataan lain : peningkatan kadar suatu enzim dalam darah dapat dipakai sebagai alat bantu penegakkan diagnosis suatu penyakit. Contohnya : Aspartat Amino Transferase (AST, nama dahulu GOT) dan Alanin Amino Transferase (ALT, nama dahulu GPT) sering digunakan untuk menegakkan diagnosis penyakit hepar dan jantung. Kreatin kinase (CK) digunakan untuk menegakkan diagnosis penyakit otot skelet. Fosfatase asam digunakan untuk menegakkan diagnosis karsinoma prostate.

Pada percobaan yang kedua mengenai enzim, akan ditunjukkan bahwa peningkatan aktivitas suatu enzim dalam plasma darah seorang yang dicurigai menderita suatu penyakit tertentu merupakan suatu alat uji yang berharga untuk penegakkan diagnosis penyakit tersebut.

PERMASALAHAN KLINIS :

Tn. Ardani, 59 th, seorang manager di sebuah perusahaan dirawat di Bagian Penyakit Dalam RS. Abdul Moeloek dengan keluhan utama : Muntah-muntah, nyeri perut bagian atas dan merasa bahwa sklera matanya menguning.

Riwayat penyakit sekarang :

Pagi ini tn. Ardani merasa bahwa urinenya lebih gelap dari biasanya, dan setelah cukup lama bercermin ia merasa bahwa warna sklera matanya menjadi sedikit kuning. Karena khawatir mendapat penyakit hepatitis, ia segera pergi ke rumah sakit dan minta dirawat inap. Saat ini ia mengeluh juga adanya sedikit sesak napas dan batuk-batuk dengan sejumlah kecil dahak. Nyeri daerah dada dan pembengkakan tungkai/kaki disangkal.

Riwayat penyakit sebelumnya :

Selama beberapa tahun terakhir ini seringkali tn. Ardani merasa “tidak enak” pada daerah ulu hatinya yang timbul sekitar 2 jam setelah makan dan biasanya dapat disembuhkan dengan menelan 1-2 tablet obat maag. Pemeriksaan radiologis telah tiga kali dilakukan, pada dua pemeriksaan pertama hanya ditemukan adanya banyak gas dalam duodenumnya, tetapi pada pemeriksaan ketiga, yang dilakukan setelah ia mengeluh perubahan warna fesesnya menjadi hitam sekitar 2 tahun yang lalu, ditemukan adanya gambaran ulkus pada duodenumnya. Setelah diobati warna fesesnya tidak pernah menghitam lagi sampai sekarang. Ia menyangkal penggunaan obat yang mengandung asam salisilat.

Tn. Ardani tidak dapat menyatakan factor-faktor yang mempengaruhi timbulnya gejala di atas, hanya ia mengakui adanya stress yang berkesinambungan karena beban kerja yang cukup berat di perusahaannya. Ia juga tidak mengindahkan nasihat dokternya untuk mengurangi konsumsi rokok dan minuman kerasnya (ia menghisap sekitar 40 batang rokok dan minum 2 kaleng bir sehari).

Sejak 2 bulan terakhir ini ia merasa bahwa penelanan obat maag tidak mengurangi gejala penyakitnya, dan ia mulai sering terbangun di tengah malam karena serangan nyeri ulu hati yang kadang-kadang disertai muntah-muntah.

Riwayat keluarga :

Ayah tn. Ardani meninggal karena kanker kolon. Seorang saudara dan pamannya juga menderita penyakit ulkus peptikum.

Pemeriksaan fisik saat ini :

Tekanan darah 180/110 mm Hg; nadi 96x/menit, teratur, tidak berubah pada pergantian posisi tubuh; napas 18x/menit; suhu 37,5 °C.

Sklera : Tidak ikterik

Paru-paru : Sedikit ronkhi pada ke-2 paru-paru, dengan perpanjangan waktu napas saat ekspirasi.

Jantung : Tidak ada kelainan

Abdomen : Buncit pada bagian ulu hati. Nyeri tekan (+) pada bagian epigastrium.

Hepar : Tidak teraba

Pemeriksaan lain : Tidak ada kelainan

Pemeriksaan laboratorium :

Darah :

Lekosit : Dalam batas normal

Catatan : N = Nilai Normal

Hemoglobin : 10 g/dL (N: 12 – 16 g/dL)

LDH = Laktat Dehidrogenase

Hematokrit : 36 % (N: 36 – 48 %)

Eritrosit : $5 \times 10^6/\text{mm}^3$ (N: $4,7 - 6,1 \times 10^6/\text{mm}^3$)

Albumin : 4,5 g/dL (N: 3,5 – 5,5 g/dL)

Bilirubin total : 1,0 mg/dL (N: 0,2 – 1.1 mg/dL)

AST : 28 IU/L (N: 22 – 37 IU/L)

ALT : 20 IU/L (N: 3 – 36 IU/L)

LDH : 138 IU/L (N: 100 – 190 IU/L)

Amilase serum : 30 IU/L (N: 23 – 85 IU/L)

Urine :

Dalam batas normal

Feses :

Darah : (+) (N: tidak ada)

Penatalaksanaan :

Terapi awal atas tn. Ardani adalah puasa, pengosongan lambung secara kontinu dengan cara memasang alat nasogastric suction, pemberian cairan infuse intravena dan pemberian obat suntik untuk mengatasi ulkusnya.

Setelah beberapa hari ia mulai diberi makanan cair dan ternyata keluhan gangguan pada ulu hatinya tidak timbul lagi. Dilakukan pemeriksaan gastroskopi yang memastikan diagnosis ulkus duodenum. Pada biopsi mukosa gaster ditemukan *Helicobacter pylori*.

Setelah 1 minggu, dilakukan analisis getah lambung dengan hasil produk asam saat puasa adalah 5,3 mEq/jam (N: 2,57 mEq/jam) dan produk asam setelah tes histamine adalah 35 mEq/jam (N: 22,6 mEq/jam).

A. FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI AKTIVITAS ENZIM AMILASE

Ada banyak faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas kerja enzim. Pada percobaan ini digunakan sebuah enzim hidrolisis yang banyak dijumpai dalam air liur, yaitu enzim amylase (“salivary amylase”, nama lain : ptialin).

Ptialin adalah suatu enzim kelas hidrolase yang menghidrolisis karbohidrat (amilum) menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana, yaitu amilodekstrin, eritrodekstrin, akrodekstrin dan selanjutnya terbentuk maltosa. Enzim ini berfungsi menghidrolisis amilum sewaktu berada dalam rongga mulut dan hanya aktif bekerja pada pH 7,0 sehingga dalam lambung enzim ini menjadi tidak aktif.

Selain oleh kelenjar ludah, amylase juga diproduksi oleh sel-sel pancreas (“pancreatic amylase”). Amylase ini berfungsi melanjutkan hidrolisis amilum yang belum sempat dilakukan oleh salivary amylase. Activator enzim amilase antara lain adalah Ca^{++} , Cl^- , Br^- dan HPO_4^- .

Amylase mempunyai berat molekul yang rendah (antara 40.000 – 50.000 Dalton), sehingga dapat melewati glomeruli ginjal. Enzim ini merupakan satu-satunya enzim yang dijumpai dalam urin normal.

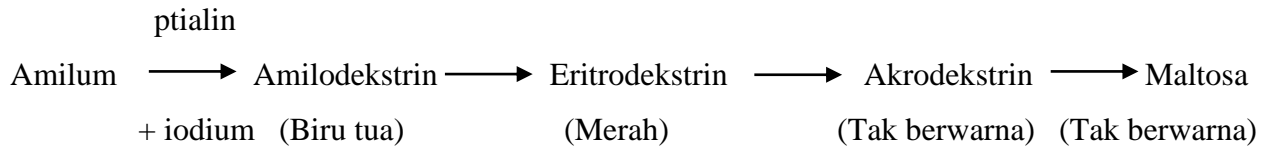
Aktivitas enzim ini meningkat pada pankreatitis akut, penyakit kelenjar saliva, mumps, obstruksi ductus salivarius dan sebagainya. Penurunan aktivitas enzim terjadi antara lain pada pnkreatitis nekrotika, hepatitis, keracunan CCl_4 , keracunan arsen dan sebagainya. Pada percobaan pertama substrat yang digunakan adalah amilum, sedangkan enzimnya adalah ptyalin.

Ptyalin menghidrolisis polimer glukosa yang mengandung ikatan alfa (1→4) glikosidik. Polimer glukosa yang mengandung ikatan ini adalah amylum dan glikogen. Karena ptyalin merupakan enzim yang memerlukan ion Ca^{++} sebagai activator, maka enzim ini menjadi kurang atau tidak aktif bila pada percobaan ditambahkan EDTA, sitrat dan okasalat. Oleh karena itu, bila kita akan mengukur aktivitas amylase darah, maka hendaknya digunakan antikoagulan heparin atau dalam bentuk serum. Selain sebagai activator, kalsium juga berfungsi untuk aktivitas dan untuk menstabilkan struktur peptide (stabilizer) ptyalin, sehingga tidak mudah dirusak oleh proses proteolisis.

Prinsip percobaan :

Amilum dan iodium membentuk kompleks yang berwarna biru tua. Hidrolisis amilum oleh ptialin secara berturut-turut akan membentuk dekstrin dan oligosakarida yang bila mengikat iodium akan membentuk kompleks berwarna yang berbeda-beda warnanya.

Amilodekstrin dengan iodium membentuk warna biru. Eritrodekstrin dengan iodium membentuk warna merah. Akrodekstrin dan maltosa tidak membentuk kompleks berwarna dengan iodium.



Bahan-bahan :

- Larutan amilum 1%
- NaCl 1 %
- HCl 1 N
- Larutan iodium encer
- Air liur
- HgCl₂ 30%

Cara kerja :

- a. 1 ml NaCl 1% + 3 ml larutan amilum 1% + 3 tetes larutan iodium diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 10 menit, kemudian tambahkan 1 ml air liur yang juga sudah dipanaskan sampai 37⁰C. Perhatikan perubahan warna yang terbentuk.
- b. 1 ml NaCl 1% + 3 ml larutan amilum 1% + 3 tetes larutan iodium diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 10 menit, kemudian tambahkan 2 ml air liur yang juga sudah dipanaskan sampai 37⁰C. Perhatikan perubahan warna yang terbentuk.
- c. 1 ml HCl 1% + 3 ml larutan amilum 1% + 3 tetes larutan iodium diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 10 menit, kemudian tambahkan 1 ml air liur yang juga sudah dipanaskan sampai 37⁰C. Perhatikan perubahan warna yang terbentuk.
- d. 1 ml akuades + 3 ml larutan amilum 1% + 3 tetes larutan iodium diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 10 menit, kemudian tambahkan 1 ml air liur yang juga sudah dipanaskan sampai 37⁰C. Perhatikan perubahan warna yang terbentuk.
- e. 1 ml NaCl 1% + 3 ml larutan amilum 1% + 3 tetes larutan iodium diinkubasi pada suhu 75⁰C selama 10 menit, kemudian tambahkan 1 ml air liur yang juga sudah dipanaskan sampai 75⁰C. Perhatikan perubahan warna yang terbentuk.

- f. 1 ml NaCl 1% + 3 ml larutan amilum 1% + 3 tetes larutan iodium direndam dalam es selama 10 menit, kemudian tambahkan 1 ml air liur yang juga sudah didinginkan dalam air es. Perhatikan perubahan warna yang terbentuk.
- g. 1 ml NaCl 1% + 3 ml larutan amilum 1% + 1 ml HgCl₂ 30% + 3 tetes larutan iodium diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 10 menit, kemudian tambahkan 1 ml air liur yang juga sudah dipanaskan sampai 37⁰C. Perhatikan perubahan warna yang terbentuk.

B. PENGUKURAN AKTIVITAS ASPARTAT AMINO TRANSFERASE (AST) DARAH :

Dalam dunia kedokteran, enzim digunakan antara lain sebagai alat bantu diagnosis penyakit. Kerusakan organ-organ tertentu dalam tubuh dapat didiagnosis dengan mengukur peningkatan aktivitas enzim (yang banyak terdapat dalam sel organ tersebut) dalam darah, karena terjadi lisis sel organ-organ tersebut.

AST (Nama dahulu : GOT/Glutamat Oksaloasetat Transminase) banyak didapatkan dalam sel-sel hepar, jantung dan otot rangka. Kerusakan pada organ-organ tersebut akan meningkatkan aktivitas AST dalam darah.

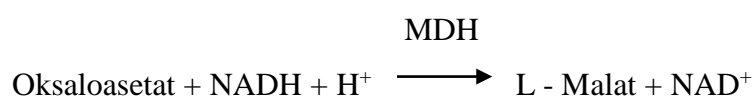
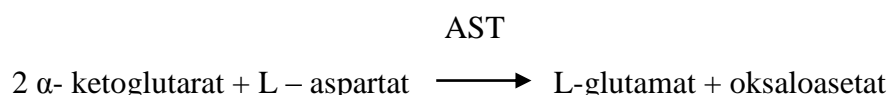
AST termasuk kelas enzim transferase.

Aktivitas normal enzim ini + 2 – 20 IU/l.

Aktivitas AST serum meningkat segera (4 – 6 jam) setelah serangan infark miokard dan mencapai puncaknya setelah 24 – 48 jam. Aktivitas enzim ini kembali menjadi normal setelah 4 – 7 hari. Karena itu, sampel serum penderita sebaiknya diambil dalam kurun waktu 48 jam setelah serangan dimulai.

Kenaikan aktivitas AST tidak hanya terjadi pada kerusakan sel-sel otot jantung dan hepar saja, tetapi dapat juga terjadi pada beberapa jenis penyakit lainnya. Karena itu untuk menegakkan diagnosis suatu penyakit selain pemeriksaan aktivitas enzim pada umumnya diperlukan juga alat uji diagnosis lainnya.

Prinsip percobaan :



Perubahan NADH menjadi NAD dapat diukur secara spektrofotometris pada panjang gelombang 340 nm.

Bahan – bahan :

1. Plasma / serum penderita infark miokard akut.
2. Larutan pereaksi (kit St. Reagensia)

Cara Kerja :

200 µl serum / plasma ditambahkan 1 ml larutan pereaksi pada suhu 25 - 30°C. Campur baik-baik dan setelah 1 menit ukurlah kenaikan absorbansi (pada panjang gelombang 340 nm) setiap menit selama 3 menit.

Hitung nilai rata-rata kenaikan tersebut (\square A/menit)

Perhitungan : Aktivitas AST (IU/l) = (\square A/menit) x 952

Nilai normal : 6 – 25 IU/L (Pria) dan 6-21 IU/L (wanita). Untuk Produk Human

Pokok Bahasan :

1. Jelaskan mengenai kespesifikan enzim ?
2. Dari percobaan yang saudara lakukan, faktor-faktor apa saja yang mempengaruhi aktivitas enzim dan jelaskan mekanismenya !
3. Di samping faktor-faktor dalam pertanyaan 1, hal-hal apalagi yang dapat mempengaruhi kerja enzim ?
4. Apa yang dimaksud dengan apoenzim, koenzim dan isoenzim ?
5. Jelaskan peran vitamin dalam fungsi enzim !
6. Mengapa digunakan istilah “aktivitas” sebagai pengganti istilah “kadar” suatu enzim ?
7. Berapa aktivitas normal AST dalam darah? Apa interpretasi saudara bila keaktifan enzim ini meningkat dalam darah ?
8. Sebutkan beberapa enzim lain yang juga dapat dipakai untuk menegakkan diagnosis suatu penyakit ?
9. Selain sebagai alat Bantu diagnosis, sebutkan fungsi enzim dalam penggunaan klinis!