

LAPORAN PRAKTIKUM 2

NAMA PRAKTIKAN : Nini Chairani (147008021)
Zakirullah Syafei (147008022)

PRODI : Magister Ilmu Biolmedik

JUDUL : pH meter, persiapan larutan penyangga

Tanggal pelaksanaan : 10 Maret 2015

TUJUAN :

1. Dapat mengerti prinsip-prinsip dasar mengenai larutan buffer
2. Latihan penggunaan pH meter
3. Latihan persiapan larutan buffer fosfat dengan teknik titrasi
4. Latihan penggunaan larutan stok serta persiapan pengenceran
5. Latihan pembuatan grafik dan interpretasi grafik

TINJAUAN TEORITIS

Teori dasar pH dan Larutan Buffer

Teori dasar: pH merupakan skala yang menunjukkan kadar hidrogen yang melarut dalam suatu larutan di mana:

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$$

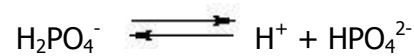
Nilai pH yang paling rendah adalah $\text{pH} = 0$ ($[\text{H}^+]$ sangat tinggi atau dalam kata yang lain larutan sangat asam) dan nilai pH yang paling tinggi adalah $\text{pH} = 14$ ($[\text{H}^+]$ sangat sedikit atau dalam kata yang lain larutan sangat alkali). Nilai pH H_2O yang murni sama dengan "7" dan larutan lain yang bernilai $\text{pH} = \pm 7$ disebut larutan netral.

Pada darah dan cairan ekstraselular sistem buffer bikarbonat ($\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$) merupakan sistem buffer terpenting. Pada urin, ion amonia (NH_3) dan amonium (NH_4^+) berfungsi sebagai sistem buffer, dan pH intraselular diatur terutama oleh anion fosfat (H_2PO_4^-) dan protein.

Semua reaksi biokimiawi terjadi di dalam larutan, dan umumnya reaksi biokimiawi sangat dipengaruhi oleh keasaman lingkungan/larutan tersebut. Yang demikian oleh karena bentuk (yaitu konfigurasi 3-dimensi) molekul protein tergantung pada interaksi asam amino pada strukturnya tertier. Semua asam amino bermuatan positif/negative atau netral pada pH tertentu. Kalau pH diubahkan sifat muatan asam amino berubah pula serta konfigurasi protein. Ketika bentuk protein berubah pasti aktivitas protein tersebut (yang berfungsi sebagai enzim, reseptor, protein pembawa atau fungsi yang lain) akan dipengaruhi. Jadi ketika kita melakukan penelitian yang termasuk reaksi biokimiawi, caranya untuk mempertahankan pH pada tingkat yang tepat perlu dipikirkan.

Sebagai contoh adalah sistem buffer fosfat. Sistem buffer fosfat terdiri dari ion dihidrogen

fosfat (H_2PO_4^-) yang merupakan pemberi hidrogen (asam) dan ion hidrogen fosfat (HPO_4^{2-}) yang merupakan penerima hidrogen (basa). Kedua-duanya ion tersebut berada dalam keseimbangan dan hubungannya bisa ditulis sebagai rumus berikut:



Ketika ion-ion hidrogen ditambah dalam larutan yang ditahankan oleh buffer fosfat, keseimbangan yang di atas akan ke arah kiri (yaitu, ion H^+ yang kelebihan akan bereaksi dengan ion hidrogen fosfat dan menghasilkan ion dihidrogen fosfat). Ketika larutan semakin alkali (basa) keseimbangan yang di atas akan ke arah kanan (yaitu, ion OH^- yang kelebihan akan bereaksi dengan ion hidrogen dan menghasilkan air). Konstanta keseimbangan (K_a) untuk buffer fosfat adalah:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} \quad \text{karena disusun kembali....} \quad [\text{H}^+] = K_a \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{HPO}_4^{2-}]}$$

bila diuraikan didapat rumus

$$-\log[\text{H}^+] = -\log K_a - \log \left(\frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{HPO}_4^{2-}]}\right)$$

atau

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log ([\text{HPO}_4^{2-}]/[\text{H}_2\text{PO}_4^-])$$

Bagi kondisi umum menjadi

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log ([\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

dan disebutkan rumus *Henderson-Hasselbalch*.

Ada tiga macam ion fosfat dan nilai pKa adalah seperti berikut ini:

Ion fosfat	H_3PO_4	H_2PO_4^-	HPO_4^{2-}
Nilai pKa	~2	~7	~12

ALAT DAN BAHAN

A. Alat

1. Stem dan jkem
2. Kertas timbangan
3. pH meter
4. Pipet Mohr
5. Pipet otomatis
6. Otomatik stirrer
7. Pipet tetes
8. Tabung reaksi
9. Rak tabung
10. Spidol
11. Water bath

B. Bahan

1. Reagensia Benedict
2. Aquades
3. 0,25M NaH_2PO_4
4. 0,25M Na_2HPO_4
5. Larutan 5% glukosa

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Penggunaan pH Meter, Persiapan buffer dan Titrasi

1. Penggunan pH Meter

Catatan- catatan dari demonstrasi penggunaan pH meter

1. Elektroda pH meter yang akan digunakan harus dibilas akuades saat:
 - Sebelum dimasukkan ke dalam larutan uji (larutan yang akan diukur pH-nya).
Tujuannya agar larutan KCl pekat, larutan tempat penyimpanan elektroda pH, tidak bercampur dengan larutan uji, sehingga tidak mempengaruhi pH larutan uji.
 - Sebelum dikembalikan ke tempat penyimpanan.
Tujuannya agar larutan uji tidak mengkontaminasi larutan KCl pekat, sehingga elektroda pH tetap berada pada kondisi stabil.
2. Larutan uji (larutan yang akan diukur pH-nya), Na_2HPO_4 , ditempatkan di dalam beaker glass dalam jumlah yang cukup (sebanyak 40mL), agar magnetic stir bar yang akan digunakan tidak bersentuhan dengan ujung pH meter.
3. Magnetic stirrer dimasukkan ke dalam beaker glass yang telah berisi larutan uji.
4. Pada lokasi pH meter, probe meter dimasukkan ke dalam beker glass yang berisi larutan uji, kemudian beaker glass diposisikan ke alas otomatis stirrer.
5. Otomatik stirrer dihidupkan dengan kecepatan pelan tetapi cukup agar larutan yang diukur pH-nya tersebut tetap tercampur merata.
6. Statif dan klem digunakan agar elektroda pH meter dipegang dari bagian plastik yang di atas dan tipnya dimasukkan ke dalam larutan dengan baik. Posisi tip elektroda harus dijaga agar tidak menyentuh dinding beaker maupun magnetic stirrer bar yang sedang berputar.
7. Pada saat pengukuran pH, elektroda pH meter harus tercelup seluruhnya ke dalam larutan yang akan diukur pHnya, hal ini dimaksudkan agar elektroda mengukur pH larutan secara benar, apabila tidak tercelup seluruhnya kemungkinan sensor

elektroda tidak akan mengukur pH larutan seluruhnya. Pengukuran pH dilakukan dengan waktu yaitu pada $t = 15$ detik. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui konstan tidaknya pH meter untuk mengukur pH pada suatu larutan.

8. Tekan tombol ON, lalu me lihat hasil pengukuran di layar, tunggu sampai angka terakhir yang ditunjukkan di layar pH meter.
9. Lakukan titrasi dengan larutan asam/basa
10. Setiap titrasi yang dilakukan diukur pH nya.

2. Persiapan Buffer dan Titrasi

- ❖ Ukuran pH 0.25M larutan natrium monohidrogen fosfat (Na_2HPO_4) yang dibuat minggu yang lalu = 8,16 (bersifat basa)
- ❖ Ukurkan pH 0.25M larutan natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) yang dibuat minggu yang lalu = 3,85 (bersifat asam)

Tabel 1: Ringkasan hasil pembuatan buffer dihidrogen fosfat

pH tujuan	Volume 0,25M Na_2HPO_4 (ml)	Volume 0,25M NaH_2PO_4 (ml)	Volume 0,125M buffer fosfat yang disiapkan (ml)
6,3	40 ml	26,5 ml	132,3 ml
6,8	40 ml	8,5 ml	82,6 ml
7,0	40 ml	5,5 ml	83,6 ml
7,5	40 ml	2,5 ml	81,6 ml
7,8	40 ml	1,2 ml	80,7 ml

Untuk mengetahui volume 0,125 M buffer fosfat yang disiapkan dilakukan perhitungan sebagai berikut:

Rumus yang digunakan :

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

Dimana :

- V1 = volume awal, yaitu volume 0,25M Na_2HPO_4 + volume NaH_2PO_4
- M1 = Molaritas awal, yaitu molaritas 0,25M Na_2HPO_4 dan molaritas NaH_2PO_4
- V2 = Volume akhir, yaitu volume 0,125 M buffer fosfat yang disiapkan
- M2 = Molaritas akhir, yaitu molaritas buffer fosfat yang disiapkan yaitu 0,125M

a. pH 6,3

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ (40 + 26,15) 0,25 &= V_2 (0,125) \\ V_2 &= \frac{(40 + 26,15) 0,25}{0,125} \\ V_2 &= 132,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

d. pH 7,5

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ (40 + 0,8) 0,25 &= V_2 (0,125) \\ V_2 &= \frac{(40 + 0,8) 0,25}{0,125} \\ V_2 &= 81,6 \text{ ml} \end{aligned}$$

b. pH 6,8

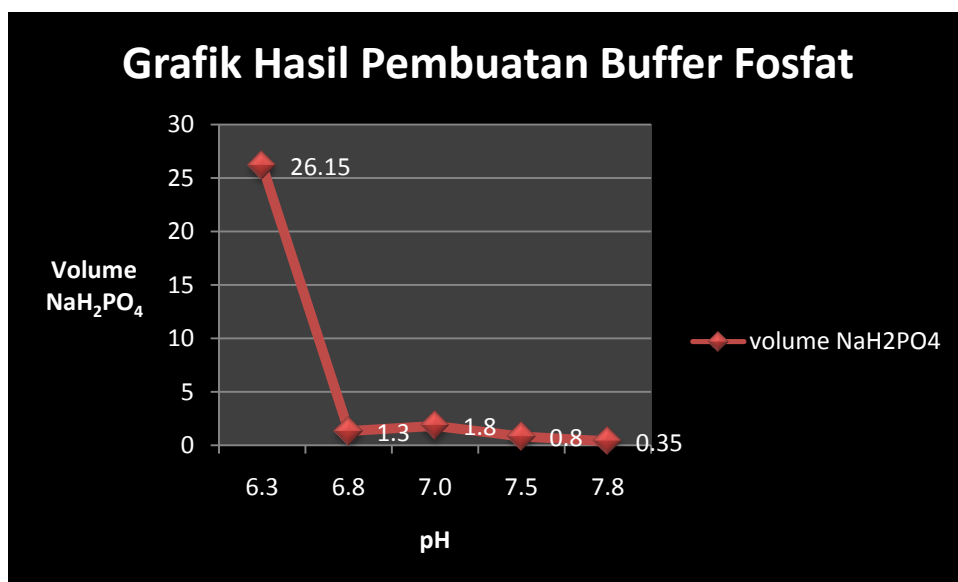
$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ (40 + 1,3) 0,25 &= V_2 (0,125) \\ V_2 &= \frac{(40 + 1,3) 0,25}{0,125} \\ V_2 &= 82,6 \text{ ml} \end{aligned}$$

e. pH 7,8

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ (40 + 0,35) 0,25 &= V_2 (0,125) \\ V_2 &= \frac{(40 + 0,35) 0,25}{0,125} \\ V_2 &= 80,7 \text{ ml} \end{aligned}$$

c. pH 7,0

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ (40 + 1,8) 0,25 &= V_2 (0,125) \\ V_2 &= \frac{(40 + 1,8) 0,25}{0,125} \\ V_2 &= 83,6 \text{ ml} \end{aligned}$$



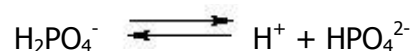
Gambar 1. Grafik Hasil Pembuatan Buffer Fosfat

Berdasarkan data yang diperoleh pada table 1 di atas terlihat bahwa semakin asam pH suatu larutan yang dibutuhkan maka akan semakin banyak larutan 0,25M natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) yang harus dititrasi ke dalam larutan 0,25M natrium monohidrogen fosfat (Na_2HPO_4) yang bersifat asam agar dapat terbentuk larutan 0,125M buffer fosfat.

Garafik 1 menunjukkan bahwa penambahan larutan 0,25 M NaH_2PO_4 ke dalam larutan 0,25M NaHPO_4 menyebabkan penurunan pH larutan buffer fosfat secara berurut. Semakin banyak volume NaH_2PO_4 yang ditambahkan maka pH larutan akan semakin asam.

Larutan buffer juga disebut dengan larutan pengangga atau dapar. System penyangga adalah campuran larutan dua senyawa kimia yang meminimalkan perubahan pH ketika asam atau basa ditambahkan atau dikeluarkan dari larutan tersebut. System penyangga ini terdiri dari sepasang bahan yang terlibat dalam suatu reaksi reversible – satu bahan yang dapat menghasilkan H^+ sewaktu $[\text{H}^+]$ mulai turun dari bahan lain yang dapat mengikat H^+ bebas (karenanya mengeluarkannya dari larutan) ketika $[\text{H}^+]$ mulai meningkat.

Sistem buffer fosfat terdiri dari ion dihidrogen fosfat (H_2PO_4^-) yang merupakan pemberi hidrogen (asam) dan ion hidrogen fosfat (HPO_4^{2-}) yang merupakan penerima hidrogen (basa). Kedua-duanya ion tersebut berada dalam keseimbangan dan hubungannya bisa ditulis sebagai rumus berikut:



Ketika ion-ion hidrogen ditambah dalam larutan yang ditahankan oleh buffer fosfat, keseimbangan yang di atas akan ke arah kiri (yaitu, ion H^+ yang kelebihan akan bereaksi dengan ion hidrogen fosfat dan menghasilkan ion dihidrogen fosfat). Ketika larutan semakin alkali (basa) keseimbangan yang di atas akan ke arah kanan (yaitu, ion OH^- yang kelebihan akan bereaksi dengan ion hidrogen dan menghasilkan air).

B. Pengenceran

1. Pengenceran larutan glukosa

Larutan glukosa yang harus disiapkan adalah 2 ml

a. 1 : 10 glukosa 5%

Tabung 1 : 0,18 ml larutan glukosa 5% + 1,82 ml aquades

b. 2 : 3 glukosa 5 %

Tabung 2 : 0,8 ml larutan glukosa 5% + 1.2 ml aquades

c. Pengenceran serial: 0,1X, 0,01X, 0,001X glukosa 5%

Tabung 3 (0,1X) : 0,2 ml larutan glukosa 5% + 1,8 ml aquades

Tabung 4 (0,01X) : 0,2 ml larutan tabung 3 + 1,8 ml aquades

Tabung 5 (0,001X) : 0,2 ml larutan tabung 4 + 1,8 aquades

d. Pengenceran serial: 0,3X, 0,03X, 0,003X glukosa 5%

Tabung 6 (0,3X) : 0,6 ml larutan glukosa 5% + 1,4 ml aquades

Tabung 7 (0,03X) : 0,2 ml larutan tabung 6 + 1,8 ml aquades

Tabung 8 (0,003X) : 0,2 ml larutan tabung 7 + 1,8 ml aquades

e. Pengenceran serial: pada faktor 2, 4, 8, dan 16 glukosa 5%

Tabung 9 (faktor 2) : 1 ml larutan glukosa 5% + 1 ml aquadest

Tabung 10 (faktor 4) : 1 ml larutan tabung 9 + 1 ml aquadest

Tabung 11 (faktor 8) : 1 ml larutan tabung 10 + 1 ml aquadest

Tabung 12 (faktor 16): 1 ml larutan tabung 11 + 1 ml aquadest

Konsentrasi masing-masing tabung adalah;

a. Konsentrasi tabung 1

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,18 \times 5 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{0,18 \times 5}{2}$$

$$C2 = 0,45 \%$$

e. Konsentrasi tabung 5

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,2 \times 0,05 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{0,2 \times 0,05}{2}$$

$$C2 = 0,005 \%$$

b. Konsentrasi tabung 2

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,8 \times 5 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{0,8 \times 5}{2}$$

$$C2 = 2 \%$$

f. Konsentrasi tabung 6

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,6 \times 5 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{0,6 \times 5}{2}$$

$$C2 = 1,5 \%$$

c. Konsentrasi tabung 3

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,2 \times 5 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{0,2 \times 5}{2}$$

$$C2 = 0,5 \%$$

g. Konsentrasi tabung 7

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,2 \times 1,5 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{0,2 \times 1,5}{2}$$

$$C2 = 0,15 \%$$

d. Konsentrasi tabung 4

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,2 \times 0,5 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{0,2 \times 0,5}{2}$$

$$C2 = 0,05 \%$$

h. Konsentrasi tabung 8

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,2 \times 0,15 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{0,2 \times 0,15}{2}$$

$$C2 = 0,015 \%$$

i. Konsentrasi tabung 9

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$1 \times 5 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{1 \times 5}{2}$$

$$C2 = 2,5 \%$$

k. Konsentrasi tabung 11

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$1 \times 1,25 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{1 \times 1,25}{2}$$

$$C2 = 0,625 \%$$

j. Konsentrasi tabung 10

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$1 \times 2,5 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{0,18 \times 5}{2}$$

$$C2 = 1,25 \%$$

l. Konsentrasi tabung 12

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$1 \times 0,625 = 2 \times C2$$

$$C2 = \frac{1 \times 0,625}{2}$$

$$C2 = 0,3125 \%$$

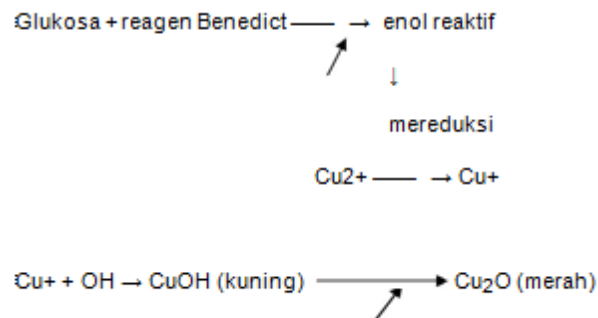
2. Pemeriksaan pengenceran dengan reaksi Bennedict

Table 2 : Hasil Pengenceran stok glukosa

Tabung	Pengenceran 5% glukosa	Konsentrasi yang diprediksikan (%)	Hasil pemeriksaan Bennedict (warna)	Interpretasi hasil sesuai atau tidak dengan konsentrasi yang diharapkan
1	1 : 10	0,45 %	++++	Tidak sesuai
2	2 : 3	2 %	++++	Tidak sesuai
3	0,1x	0,5 %	-	Tidak sesuai
4	0,01x	0,05 %	-	Tidak sesuai
5	0,001x	0,005 %	-	Tidak sesuai
6	0,3x	1,5 %	-	Tidak sesuai
7	0,03x	0,15 %	-	Tidak sesuai
8	0,003x	0,015 %	-	Tidak sesuai
9	Pada faktor 2	2,5 %	++++	Sesuai
10	Pada faktor 4	1,25 %	+++	Sesuai
11	Pada faktor 8	0,625 %	+++	Tidak sesuai
12	Pada faktor 16	0,3125 %	-	Tidak sesuai

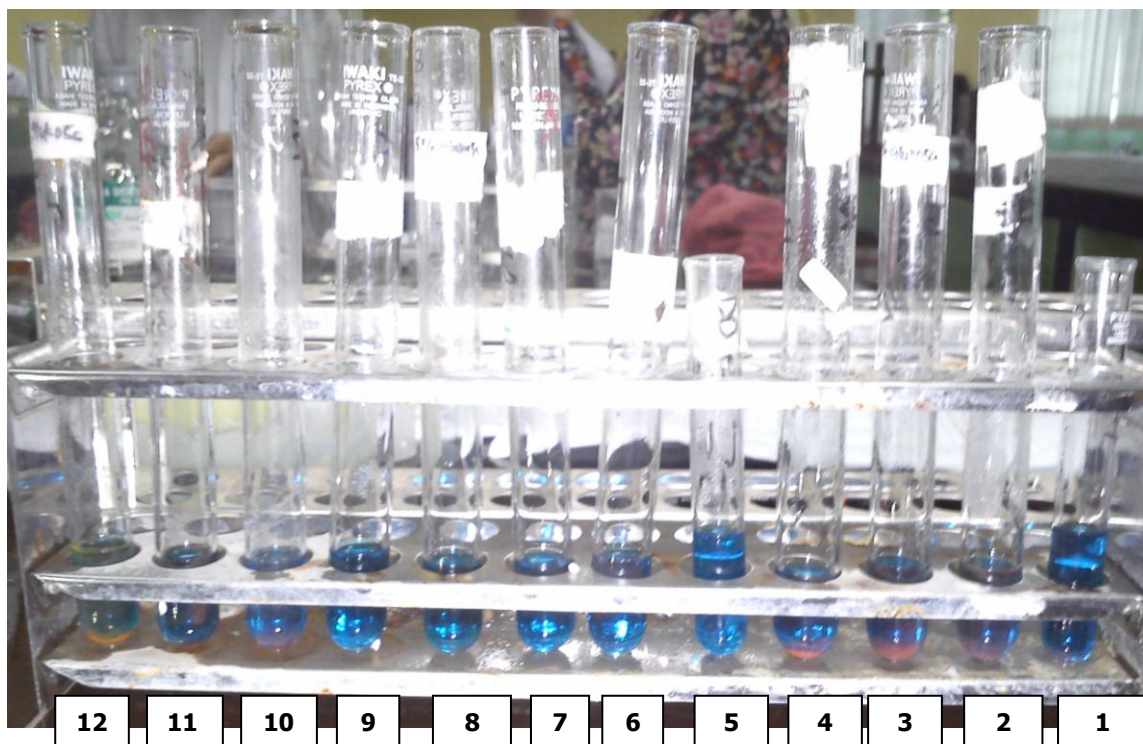
Warna	Penilaian	Kadar kh (khusus reaksi Bennedict)
Biru jernih	negatif	0
Hijau/kuning hijau	+	<0,5%
Kuning/kuning kehijauan	++	0,5 – 1,0%
Jingga	+++	1,0 – 2,0%
Merah (ada endapan)	++++	>2,0%

Reaksi Bannedit dipakai untuk mendeteksi glukosa atau sakarida lain yang memiliki sifat pereduksi karena memiliki gugus aldehida atau keton bebas. Semua monosakarida yang bersifat reduksi memiliki gugus karboksil reaktif yang bebas. Adanya CuSO_4 pada larutan Bannedit bereaksi dengan elektron pada aldehyd atau keton. Pada praktikum ini glukosa bereaksi dengan aldehyd dan menghasilkan Cuprioksida (Cu_2O), yang menghasilkan endapan berwarna. Reaksi perubahan warna dan terbentuknya endapan dapat dilihat pada skema berikut:



Gambar 2. Skema perubahan warna dan terbentuknya endapan pada reaksi Bannedit dengan larutan glukosa

Pada hasil percobaan pengenceran glukosa 5% di atas menunjukkan banyak hasil yang tidak sesuai dengan hasil yang diharapkan. Untuk tabung 1 dan 2 yang seharusnya memberikan hasil positif tiga (larutan akan berwarna jingga) di dapatkan adanya endapan pada kedua tabung ini. Untuk tabung 3 sampai tabung 8 didapatkan hasil negative yang mengindikasikan tidak adanya glukosa di dalam campuran larutan tersebut dengan hasil yang menunjukkan terbentuknya warna biru jernih (tidak ada perubahan apapun, baik warna ataupun endapan pada hasil), padahal praktikan menambahkan 4 tetes larutan glukosa uji ke dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan larutan bannedit.



Gambar 3. Hasil reaksi larutan glukosa dengan larutan Bannedit

Beberapa kemungkinan hal yang dapat menyebabkan ketidaksesuaian dengan hasil yang diharapkan adalah :

1. Kurang akuratnya proses pengenceran glukosa yang dilakukan
Akibatnya konsentrasi glukosa yang diinginkan tidak terbentuk, sehingga akan mempengaruhi hasil uji Benedict. Ketidakakuratan proses pengenceran glukosa dapat disebabkan oleh:
 - kurang akuratnya alat-alat yang digunakan
 - bahan ataupun alat yang digunakan sudah terkontaminasi dengan zat lain
 - proses pemanasan larutan yang di uji terlalu lama
 - temperature pemanasan yang kurang sesuai
 - kurang mahirnya praktikan ketika menggunakan alat
2. Proses pembacaan hasil yang subjektif
 - Praktikan membaca hasil tanpa warna pembanding, sehingga mengurangi keakuratan pembacaan hasil uji. Untuk pembacaan yang lebih akurat dapat digunakan alat seperti spektrofotometri.
3. Kurang akuratnya proses pembuatan larutan stok dan larutan Benedict yang digunakan.

Larutan stok glukosa 5% adalah larutan yang dibuat praktikan pada praktikum sebelumnya. Kemungkinan pada proses pembuatan larutan stok terjadi kesalahan, sehingga konsentrasi larutan stok tidak seperti yang diharapkan. Kesalahan pembuatan larutan stok dapat terjadi karena; kesalahan sewaktu menimbang, kurang akuranya timbangan digital yang digunakan, kurang akurat penambahan aquades untuk melarutkan glukosa, dan beberapa hal lainnya.

KESIMPULAN

1. Penggunaan pH meter dalam menentukan ukuran pH suatu larutan harus dilakukan secara cermat dan hati-hati agar tidak terjadi kesalahan dalam pengukuran pH.
2. Elektroda pada pH meter harus dibilas dengan aquades sebelum dan sesudah pengukuran pH
3. Untuk membuat larutan buffer fosfat dengan pH tertentu harus menggunakan konsentrasi asam fosfat dan basa konjugasinya dengan konsentrasi yang sama. Seperti dalam praktikum digunakan konsentrasi 0,25M natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) dan 0,25M natrium monohidrogen fosfat (Na_2HPO_4)
4. Penambahan ion H^+ yang berasal dari NaH_2PO_4 menyebabkan penurunan pH, dikarenakan banyaknya ion H^+ yang terbebas.
5. Semakin banyak NaH_2PO_4 yang ditambahkan semakin asam larutan tersebut
6. Semakin tinggi konsentrasi glukosa dalam larutan benedict maka akan semakin pekat warna yang terbentuk (semakin mengarah ke warna merah bata dan terbentuk endapan)
7. Keakuratan hasil yang diperoleh dipengaruhi oleh banyak hal, seperti ketelitian praktikan dalam penggunaan alat, keakuratan alat, dan kesalahan prosedur kerja yang dilakukan praktikan

SARAN

1. Alat-alat yang digunakan hendaknya dalam kondisi yang laik pakai, untuk menghindari kesalahan hasil dalam setiap percobaan.
2. Alat-alat yang digunakan hendaknya dalam jumlah yang memadai, agar setiap kelompok dapat melaksanakan praktikum dengan baik.
3. Prosedur kerja yang akan dilakukan hendaknya dalam urutan yang sistematis.