

PRAKTIKUM 2
PH METER, PERSIAPAN LARUTAN PENYANGGA,
PENGECERAN STOK GLUKOSA

Oleh:
Melviana
Aditya Candra

I. Tujuan Praktikum

1. Memahami prinsip-prinsip dasar larutan buffer
Larutan penyangga atau buffer merupakan larutan yang dapat mempertahankan pH tertentu walau telah ditambahkan sejumlah kecil asam atau basa. Buffer Larutan buffer terbagi dua yakni, buffer asam dan buffer basa/alkali.
Larutan buffer asam biasanya dibuat dari asam lemah dan salah satu bentuk garamnya, pada umumnya dipakai garam Natrium. Larutan ini memiliki pH lebih kecil dari 7. Perubahan pH dapat dicapai dengan mengubah rasio asam terhadap garam, atau dengan memilih asam atau garam yang berbeda dari semula.
Larutan buffer basa biasanya dibuat dari basa lemah dan salah satu bentuk garamnya, pada umumnya dipakai campuran larutan amonia dan amonium klorida.
2. Latihan penggunaan pH meter
Pada praktikum ini digunakan pH meter digital.



3. Latihan pembuatan buffer fosfat dengan teknik titrasi larutan asam dan basa sampai mencapai pH yang diinginkan
Larutan yang digunakan adalah larutan asam monohidrogen fosfat (NaH_2PO_4) dan larutan basa konjugatnya dihidrogen fosfat (NaHPO_4) yang telah disiapkan pada praktikum sebelumnya. Larutan buffer yang akan dibuat adalah larutan buffer fosfat 0,125 M dengan melakukan titrasi dari kedua larutan tersebut di atas hingga mencapai pH buffer fosfat yang diinginkan.
4. Latihan penggunaan stok glukosa serta persiapan pengenceran
Dari stok glukosa 5% yang dibuat minggu lalu, dibuat pengenceran dengan ketentuan yang telah ditetapkan, dengan terlebih dahulu membuat perhitungannya. Kemudian buatlah pengenceran berdasarkan hasil perhitungan tersebut dan gunakan ukuran yang efisien dalam membuat pengenceran.
5. Latihan pembuatan dan interpretasi grafik

II. Hasil dan Pembahasan

II.I Persiapan Buffer dan Titrasi

Ukuran pH 0,25M larutan monohidrogen fosfat (Na_2HPO_4) yang dibuat minggu lalu:

pH = 8,8

Ukuran pH 0,25M larutan dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) yang dibuat minggu lalu

pH= 4,04

Siapkan 75 ml 0,125M buffer dihidrogen fosfat dari larutan stok (0,25M) Na_2HPO_4 dan larutan stok (0,25M) NaH_2PO_4 pada pH 6,8 dan temperatur ruangan.

Volume Na_2HPO_4 yang dipakai = 80 ml

Vvolume NaH_2PO_4 yang dipakai= 8 ml

Caranya supaya dapat konsentrasi buffer fosfat pH 6,8?

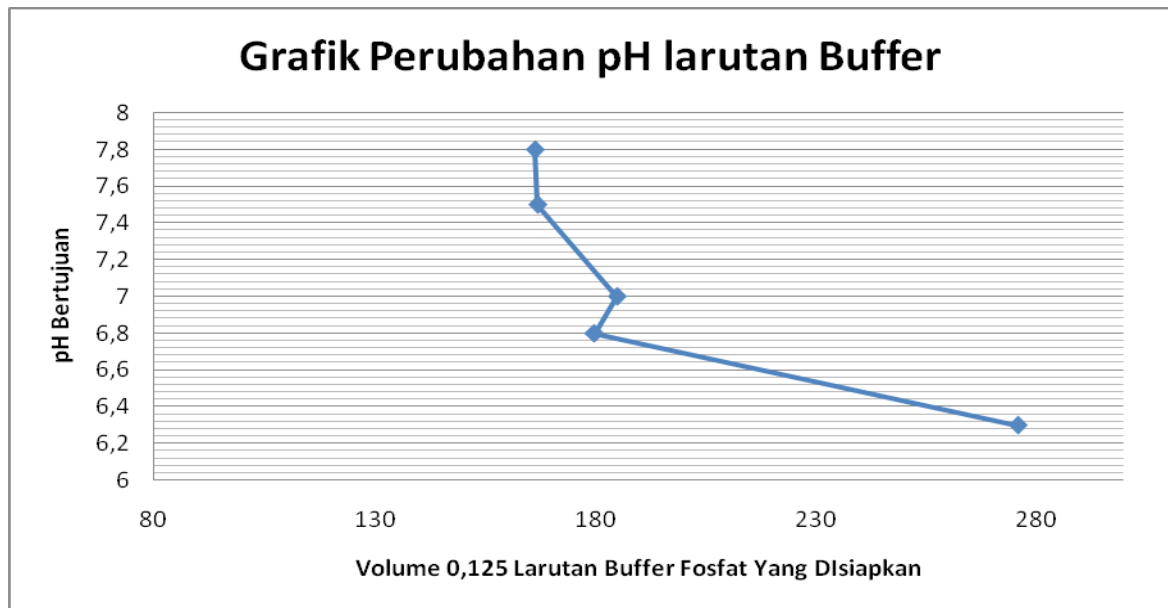
Dengan memulai dari larutan Na_2HPO_4 (basa lemah) yang dianggap paling mendekati pH buffer yang diinginkan. Dimulai dari 40 ml, lalu ditambahkan secara bertahap 0,5 ml larutan NaH_2PO_4 (asam lemah) sampai 8 ml, sehingga buffer fosfat mencapai pH 6,8

Cara menggunakan pH meter

- Sediakan 1 beaker 100 ml dan isi dengan larutan natrium monohidrogen fosfat (Na_2HPO_4) yang secukupnya. Pada lokasi pH meter, masukkan probe temperatur ke dalam beaker dan posisikan beaker di alas otomatis stirrer. Pakai magnetik stir bar dan hidupkan stirrer pada kecepatan pelan tapi cukup. Pakai statif dan klem supaya elektroda pH meter dipegang dari bagian plastik yang di atas dan tipnya dimasukkan ke dalam larutan dengan baik. Jangan sampai tip elektroda pH kena dinding beaker maupun magnetik stir bar yang sedang berputar.
- Ukur pH dengan pH meter. Tambahkan 500uL larutan natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) dengan pipet Mohr, tunggu sampai kira-kira 5 detik dan ukur pH kembali. Titrasi diteruskan dengan natrium fosfat dihidrogen (NaH_2PO_4) sampai pH yang bertujuan tercapai.

Tabel 1: Ringkasan hasil pembuatan buffer fosfat

pH tujuan	Volume 0,25 M Na_2HPO_4 (ml)	Volume 0,25 M NaH_2PO_4 (ml)	Volume 0,125 M buffer fosfat yang disiapkan (ml)
6,3	80 ml	58	276
6,8	80 ml	10	180
7,0	80 ml	12,5	185
7,5	80 ml	3,5	167
7,8	80 ml	3,2	166,4



Kesimpulan:

1. Larutan penyangga adalah suatu zat yang menahan perubahan pH ketika sejumlah asam atau basa ditambahkan ke dalamnya
2. Sesuai dengan persamaan Henderson-Hasselbalch yaitu :

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

Maka untuk membuat larutan buffer fosfat dengan pH tertentu kita harus menggunakan konsentrasi asam fosfat dan basa konjugasinya dengan konsentrasi yang sama (dalam praktikum menggunakan konsentrasi 0,25M asam dihidrogen fosfat dan konsentrasi 0,25M basa konjugasinya monohidrogen fosfat yang sama).

3. Dalam pembuatan larutan buffer yang bersifat asam yaitu dengan menambahkan basa konjugasinya (monohidrogen fosfat) ke dalam asam lemahnya (dihidrogen fosfat).

Pada tabel 1, terlihat bahwa ketika volume monohidrogen fosfat 80 mL ditambahkan terus dengan dihidrogen fosfat sampai mencapai 3,2 mL, maka nilai pH pun akan bergeser dari 8,8 menjadi 7,8. Namun ketika pH tujuan berubah, misalnya dari pH 7,5 menjadi 7,0 diperlukan 12,5 ml. Dan ketika pH berubah dari 6,8 menjadi 6,3 dibutuhkan 58 ml. Dengan kata lain perubahan pH tidak mengikuti pola linear dengan penambahan larutan asam/basanya. Buffer fosfat memiliki $\text{pK}_a = 6,86$. Oleh karena itu, buffer fosfat paling efektif menyangga larutan pada kisaran pH 6,4 sampai 7,4. Hal ini sesuai dengan hasil percobaan.

Dari data-data di atas menunjukkan fungsi dari larutan buffer, yaitu menyangga pH, sehingga dengan penambahan asam/basa, pH campuran tidak serta merta berubah secara signifikan.

4. Dalam pembuatan larutan buffer yang bersifat basa (pH 7,5 dan 7,8) yaitu dengan menambahkan asam konjugasinya (dihidrogen fosfat) ke dalam basa lemahnya (monohidrogen fosfat).

II. 2 Pengenceran Stok Glukosa

Cara melakukan pengenceran:

Siapkan 12 tabung reaksi dalam rak tabung. Tandai dengan spidol. Encerkan ke dalam tabung reaksi supaya volume yang disiapkan ± 2 mL.

1. 1:10 5% glukosa : $1/11 \times 2 \text{ mL} = 0,18 \text{ mL}$ 5% glukosa + 1,82 mL aquabidest $\rightarrow 0,45\%$ glukosa

2. 2:3 5% glukosa : $2/5 \times 2 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$ 5% glukosa + 1,2 mL aquabidest $\rightarrow 2\%$ glukosa

3. Pengenceran serial: 0,1x;0,01x;0,001x 5% glukosa:

- $0,1 \times 2 \text{ mL} = 0,2 \text{ mL}$ 5% glukosa + 1,8 mL aquabidest $\rightarrow 0,5\%$ glukosa

- $0,01 \times 5\% \text{ glukosa} = 0,1 \times 0,5\% \text{ glukosa} \times 2 \text{ mL} = 0,2 \text{ mL}$ 0,5%glukosa + 1,8 mL aquabidest $\rightarrow 0,05\%$ glukosa

- $0,001 \times 5\% \text{ glukosa} = 0,1 \times 0,05\% \text{ glukosa} \times 2 \text{ mL} = 0,2 \text{ mL}$ 0,05%glukosa + 1,8 mL aquabidest $\rightarrow 0,005\%$ glukosa

4. Pengenceran serial: 0,3x;0,03x;0,003x 5% glukosa

- $0,3 \times 2 \text{ mL} = 0,6 \text{ mL}$ 5% glukosa + 1,4 mL aquabidest $\rightarrow 1,5\%$ glukosa

- $0,03 \times 5\% \text{ glukosa} = 0,3 \times 1,5\% \text{ glukosa} \times 2 \text{ mL} = 0,6 \text{ mL}$ 1,5%glukosa + 1,4 mL aquabidest $\rightarrow 0,15\%$ glukosa

- $0,003 \times 5\% \text{ glukosa} = 0,3 \times 0,15\% \text{ glukosa} \times 2 \text{ mL} = 0,6 \text{ mL}$ 0,15%glukosa + 1,4 mL aquabidest $\rightarrow 0,015\%$ glukosa

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

- $\frac{1}{2} \times 2 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$ 5% glukosa + 1 mL aquabidest $\rightarrow 2,5\%$ glukosa

- $\frac{1}{4} \times 2 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL}$ 5% glukosa + 1,5 mL aquabidest $\rightarrow 1,25\%$ glukosa

- $\frac{1}{8} \times 2 \text{ mL} = 0,25 \text{ mL}$ 5% glukosa + 1,75 mL aquabidest $\rightarrow 0,625\%$ glukosa

- $\frac{1}{16} \times 2 \text{ mL} = 0,125 \text{ mL}$ 5% glukosa + 1,875 mL aquabidest $\rightarrow 0,313\%$ glukosa

II. 3 Pemeriksaan pengenceran dengan reaksi Benedict:

Reaksi Benedict dipakai untuk mendeteksi keadaan glukosa atau sakarida lain yang memiliki sifat pereduksi karena memiliki gugus aldehida atau keton yang bebas. Semua monosakarida yang bersifat reduksi memiliki gugus carboksil rekatif yang bebas. Adanya CuSO_4 pada larutan Benedict bereaksi dengan elektron pada aldehyd atau keton. Pada kasus glukosa bereaksi dengan aldehyd, dan menghasilkan Cuprioksida (Cu_2O), yang menghasilkan endapan berwarna.

Tabel 2 : Hasil Pengenceran Stok Glukosa

Tabung	Pengenceran 5% glukosa	Konsentrasi yg diprediksikan	Hasil pemeriksaan Benedict (warna)	Interpretasi hasil sesuai atau tidak dengan konsentrasi yang diprediksikan
1	1 : 10	0,45 %	Hijau	Sesuai
2	2 : 3	2 %	Merah	Sesuai
3	0,1x	0,5 %	Hijau	Sesuai
4	0,01x	0,05%	Biru Jernih	Tidak Sesuai
5	0,001x	0,005%	Biru Jernih	Tidak Sesuai
6	0,3x	1,5%	Merah	Tidak sesuai
7	0,03x	0,15%	Biru Jernih	Tidak Sesuai
8	0,003x	0,015%	Biru Jernih	Tidak Sesuai
9	Pada faktor 2	2,5%	Merah	Sesuai
10	Pada faktor 4	1,25%	Jingga	Sesuai
11	Pada faktor 8	0,625%	Biru Jernih	Tidak sesuai
12	Pada faktor 16	0,313%	Biru Jernih	Tidak sesuai

Kesimpulan :

1. Pada hasil percobaan pengenceran glukosa 5% pada tabel 2 di atas menunjukkan bahwa ketidaksesuaian hasil. Kebanyakan hasil yang tidak sesuai adalah berupa hasil negatif palsu. Hal ini dapat disebabkan ketidakakuratan proses pengenceran glukosa atau karena proses pembacaan yang bersifat subjektif.
Proses pengenceran glukosa dengan menggunakan pipet Mohr. Sebagaimana praktikum yang lalu, kita sudah memahami bahwa akurasi pipet pengukur yang paling tinggi adalah dengan pipet otomatis.
Proses pembacaan yang subjektif karena, dibaca oleh praktikan, tanpa ada standar warna pembanding. Untuk pembacaan yang lebih akurat dapat digunakan alat seperti spektrofotometri. Penyebab lain ketidaksesuaian hasil ini adalah lamanya pemanasan, temperatur pemanasan, karena hal ini sangat mempengaruhi reaksi yang terjadi pada uji Benedict.
2. Penilaian kadar glukosa pada suatu larutan dengan menggunakan uji Benedict ini tidak menunjukkan hasil yang bersifat kuantitatif, seperti pada saat kadar glukosa 0,05% dan 0,005%, warna yang dihasilkan sama, sehingga kita tidak dapat membedakan kadar konsentrasi yang sebenarnya.

Saran :

Dalam percobaan pengenceran glukosa, mungkin bisa ditambahkan uji glukosa lainnya yang dapat memberikan gambaran hasil yang lebih akurat.