

PRAKTIKUM pH METER, PERSIAPAN LARUTAN PENYANGGA

- Tujuan:**
- Dapat mengerti prinsip-prinsip dasar mengenai larutan buffer
 - Latihan penggunaan pH meter
 - Latihan persiapan buffer fosfat dengan teknik titrasi
 - Latihan penggunaan larutan stok serta persiapan pengenceran
 - Latihan pembuatan dan interpretasi grafik

Teori dasar pH dan Larutan Buffer

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

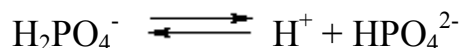
$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$$

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 ($\text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$) 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.

Lihatlah sistem buffer fosfat sebagai contoh. 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 berikutnya:



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). Konstan keseimbangan (K_a) untuk buffer fosfat adalah:

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

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

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

Bagi kondisi umum menjadi

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

dan disebutkan rumus *Henderson-Hasselbalch*.

Ada tiga macam ion fosfat, dan nilai pK_a adalah seperti berikutnya:

ion fosfat	H_3PO_4	$H_2PO_4^-$	HPO_4^{2-}
nilai pK_a	~ 2	~ 7	~ 12

Sebagai contoh, pada $25^\circ C$, nilai K_a untuk buffer dihidrogen fosfat adalah $6,23 \times 10^{-8}$.

Kalau berada dalam keadaan keseimbangan kadar asam $[H_2PO_4^-]$ sama dengan kadar basa $[HPO_4^{2-}]$ dan $pH = pK_a$.

dari atas $pK_a = -\log (6,23 \times 10^{-8}) = 7,21$.

Larutan buffer monofosfat dapat menahankan pHnya dekat dengan nilai 7,2.

Alat dan Bahan:

stel & klem	pipet Mohr	akudes	0,25M NaH_2PO_4
kertas timbangan	pipet otomatis	tabung reaksi	0,25M Na_2HPO_4
pH meter	otomatik stirrer	rak tabung	larutan 3% glukosa
Reagensia Benedict	pipet tetes	spidol	water bath

Setiap grup praktikum akan melakukan titrasi dengan suatu larutan buffer serta akuades dan setiap praktikan wajib mencoba semua kegiatan pengenceran.

PENGUNAAN pH METER

Catatan-catatan dari demonstrasi penggunaan pH meter:

BEBERAPA HAL YANG PENTING PADA PENGUNAAN pH METER

- ✓ Elektrode pH disimpan dalam larutan KCl yang pekat
- ✓ Elektrode dipegang dengan hati-hati
*** JANGANLAH biar electrode kena dinding beaker atau magnetic stir bar... alat dibuat dari kaca dan gampang pecah ***
- ✓ Elektrode dibilas akudes sebelum di masukkan ke dalam larutan, serta sebelum dikembalikan ke tempat penyimpanan

PERSIAPAN BUFFER DAN TITRASI:

Ukurkan pH 0.25M larutan natrium monohidrogen fosfat (Na_2HPO_4) yang dibuat minggu yang lalu.

pH = _____

Ukurkan pH 0.25M larutan natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) yang dibuat minggu yang lalu.

pH = _____

Cara Kerja Umum Persiapan Buffer Dihidrogen Fosfat melalui Titrasi

- 1) Sediakan 1 beaker 100mL dan isi dengan larutan natrium fosfat monohidrogen (Na_2HPO_4) yang secukupnya (ingatlah kalau pH yang mau disiapkan ke arah asam perlu agak banyak Na_2HPO_4 dan kalau ingin pH yang ke arah basa, jumlah Na_2HPO_4 yang dibutuhkan sedikit). 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. Pakailah statif dan klem supaya elektroda pH meter dipegang dari bagian plastic yang di atas dan tipnya dimasukkan ke dalam larutan dengan baik. Janganlah sampai tip elektroda pH kena dinding beaker maupun magnetik stir bar yang sedang berputar.
- 2) Ukur pH dengan pH meter. Tambahkan **500 μ l** larutan natrium fosfat dihidrogen (NaH_2PO_4) dengan pipet Mohr, tunggu ~ 5 detik dan ukur pHnya lagi. Teruskan titrasi dengan natrium fosfat dihidrogen (NaH_2PO_4) sampai pH yang bertujuan tercapai.

Siapkan ~75mL 0.125M buffer dihidrogen fosfat dari larutan stok(0.25M) Na₂HPO₄ dan larutan stok (0.25M)NaH₂PO₄ pada pH tertentu (grup meja harus menyiapkan satu-satunya larutan dengan pH di antara 6,3 dan 7,8) dan temperatur ruangan.

~volume Na₂HPO₄ yang dipakai _____

~volume NaH₂PO₄ yang dipakai _____

Caranya supaya dapat konsentrasi 0,125M buffer fosfat? _____

Tabel 1: Ringkasan hasil pembuatan buffer dihidrogen fosfat

– kumpulkan data dari grup praktikum yang lain

<i>pH bertujuan</i>	<i>Volume 0.25M Na₂HPO₄</i>	<i>Volume 0.25M NaH₂PO₄</i>	<i>Volume 0,125M buffer fosfat yg disiapkan</i>
6,3			
6,8			
7,0			
7,5			
7,8			

PENGECERAN:

Ingatlah bahwa....

gram unsur dalam larutan = C x V

dimana satuan C sama dengan g/liter dan satuan V sama dengan liter

contoh (larutan sukrosa): volume = 0.2 liter; kadar = 50 g/l.

jadi C x V = 50 g/liter x 0.2 liter = 10 g sukrosa yang dibutuhkan.

atau supaya tahu kadarnya:

contoh: 10g sukrosa diencerkan ke dalam volume 2 litre.....

$$C \times V = 10g$$

$$\therefore C = 10g / V = 10g / (2 \text{ liter}) = 5g/liter$$

Soal pengenceran: $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$

Encerkan larutan dengan konsentrasi yang diketahui (C₁) supaya dapat konsentrasi (C₂) dan volume (V₂) tertentu ...jadi volume stok yang dibutuhkan adalah: $V_1 = (C_2 \times V_2) / C_1$

Pengenceran serial: *doubling dilution* dan *decimal dilution*

Caranya untuk *doubling dilution*

nomor tabung	1	2	3	4	5	6	7	8
pengenceran urea/glukosa	stok	1:1	1:3	1:7	1:15	1:31	1:63	1:127

faktor	-	2	4	8	16	32	64	128
--------	---	---	---	---	----	----	----	-----

Caranya untuk *decimal dilution*

nomor tabung	1	2	3	4	5	6	7
pengenceran urea/glukosa	stok	0,3X	0,1X	0,03X	0,01X	0,003X	0,001X
faktor	-	3	10	30	100	300	1000

Bagaimanakah pengertian *nomenclature* bagi pengenceran:

<i>nomenclature</i>	artinya	contoh
1:1	pengenceran seperdua (1/2) 1 bagian stok dalam 1 bagian pelarut	Siapkan 5 ml 1:1 3% glukosa Volume final = 5 ml Jumlah “bagian” = 1+1 = 2 Volume per bagian = 5ml/2 = 2,5ml Jadi 2,5ml stok 3% glukosa dicampur dengan 2,5 ml akudes
0,3X	pengenceran sepertiga (1/3) 1 bagian stok dalam 2 bagian pelarut	Siapkan 1 ml 0,3X 3% glukosa Volume final = 1 ml Jumlah “bagian” = 1+ 2 = 3 Volume per bagian = 1 ml/3 = 0,33 ml Jadi 0,33 ml stok 3% glukosa dicampur dengan 0,67 ml akudes
pada faktor 4	pengenceran seperempat (1/4) 1 bagian stok dalam 3 bagian pelarut	Siapkan 2 ml pengenceran pada faktor 4, 3% glukosa Volume final = 2 ml Jumlah “bagian” = 4 Volume per bagian = 2 ml/4 = 0,5 ml Jadi 0,5 ml stok 3% glukosa dicampur dengan 1,5 ml akudes

Latihan pengenceran: Setiap grup praktikum mengerjakan semuanya.

Siapkan 10-12 tabung reaksi dalam rak tabung. Tandainya dengan spidol. Encerkan ke dalam tabung reaksi supaya volume yang disiapkan **± 2 ml**. Pikirkanlah dulu supaya cara pengenceran yang Anda pakai efisien bagi bahan stok maupun alat/waktu.

- 1:10 3% glukosa
- 2:3 3% glukosa
- Pengenceran serial: 0,1X, 0,01X dan 0,001X 3% glukosa
- Pengenceran serial: 0,3X, 0,03X dan 0,003X 3% glukosa
- Pengenceran serial: pada faktor 2, 4, 8 dan 16 3% glukosa

Pemeriksaan pengenceran dengan Reaksi Benedict:

Reaksi Benedict dipakai untuk menunjukan keadaan glukosa atau sakarida lain yang bersifat “*reducing sugar*”. Kita akan menggunakan reaksi tersebut untuk memeriksa pengenceran yang dibuat diatas.

1. Sediakan 10-12 tabung reaksi lagi dan tandai dengan spidol sesuai dengan pengenceran yang di atas.
2. Masukkan 5 ml reagensia Benedict ke dalam setiap tabung reaksi. Tambah 8 tetes larutan glukosa yang telah diencerkan.
3. Dikocok hingga homogen dan panaskan dalam water bath dengan air yang mendidih selama 5 menit.
4. Biarkan dingin dan perhatikan reaksinya
5. Isi hasil yang Anda peroleh dalam Tabel 2.

Tabel 2: Hasil Pengenceran stok glukosa

tabung	pengenceran 3% glukosa	konsentrasi yg diprediksikan	Hasil pemeriksaan Benedict (warna)	Interpretasi hasil sesuai atau tidak dengan konsentrasi yang diprediksikan?
1	1:10			
2	2:3			
3	0,1X			
4	0,01X			
5	0,001X			
6	0,3X			
7	0,03X			
8	0,003X			
9	pada faktor 2			
10	pada faktor 4			
11	pada faktor 8			
12	pada faktor 16			

Interpretasi:

Warna	Penilaian	Kadar kh (khusus reaksi Benedict)
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%

Laporan Praktikum pH meter, Persiapan Larutan Penyangga

Buat laporan praktikum, satu per kelompok. Jelaskan tujuannya dengan kata-kata Anda sendiri. Kalau ada perubahan dari yang ditulis di bahan penuntun praktikum ini, catatlah dalam laporan.

Bahas secara singkat cara penggunaan pH meter dan kesimpulan yang dapat Anda ambil dari bagian pembuatan buffer fosfat serta poin-poin yang boleh Anda simpulkan dari hasil pengenceran larutan stok glukosa 5%.

Kalau ada hasil yang berbeda dari yang diharapkan, berikan beberapa alasan/penyebab yang memungkinkan untuk menjelaskan perbedaan tersebut. “Kesalahan teknik” kurang cukup sebagai

penjelasan – harus menerangkan kesalahan seperti apa yang mungkin menyebabkan hasil yang dibahas!!

Berikanlah saran atas praktikum ini dan usulan supaya praktikum selanjutnya lebih baik lagi.

Upload laporan kelompok Anda ke situs web kita dalam bentuk file *.pdf. Tolonglah sebutkan nama anggota kelompok dalam judul laporan, misalnya “Laporan Praktikum 3 BM506 Ani & Beni”.