

PRAKTIKUM 3 :
PH METER, PERSIAPAN LARUTAN PENYANGGA,
PENGECERAN STOK GLUKOSA

Oleh :

Henny Erina Saurmauli Ompusunggu

Jekson Martiar Siahaan

I. Tujuan Praktikum

1. Memahami prinsip-prinsip dasar larutan buffer
Larutan penyangga atau larutan buffer merupakan suatu larutan yang dapat mempertahankan nilai pH tertentu. Adapun sifat yang paling menonjol dari buffer ini adalah pH buffer hanya berubah sedikit pada penambahan asam atau basa.
2. Latihan penggunaan pH meter
pH meter yang digunakan adalah pH meter digital yang akan digunakan mengukur pH larutan yang dititiasi sampai tercapai larutan buffer.
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 (Na_2HPO_4) dan larutan basa konjugatnya dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) yang telah disiapkan pada praktikum sebelumnya. Larutan buffer yang akan dibuat adalah larutan buffer fosfat 0,125M dengan melakukan titrasi dari kedua larutan tersebut di atas hingga mencapai pH buffer fosfat yang diinginkan.
4. Latihan penggunaan stok glukosa serta persiapan pengenceran
Buatlah pengenceran stok glukosa 5% sesuai 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. Persiapan Buffer dan Titrasi

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

$$\text{pH} = 8,42$$

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

$$\text{pH} = 4,27$$

Siapkan 75mL 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 = 40 mL

- Volume NaH_2PO_4 yang dipakai = 8 mL

Caranya supaya dapat konsentrasi buffer fosfat (pH=6,8)?

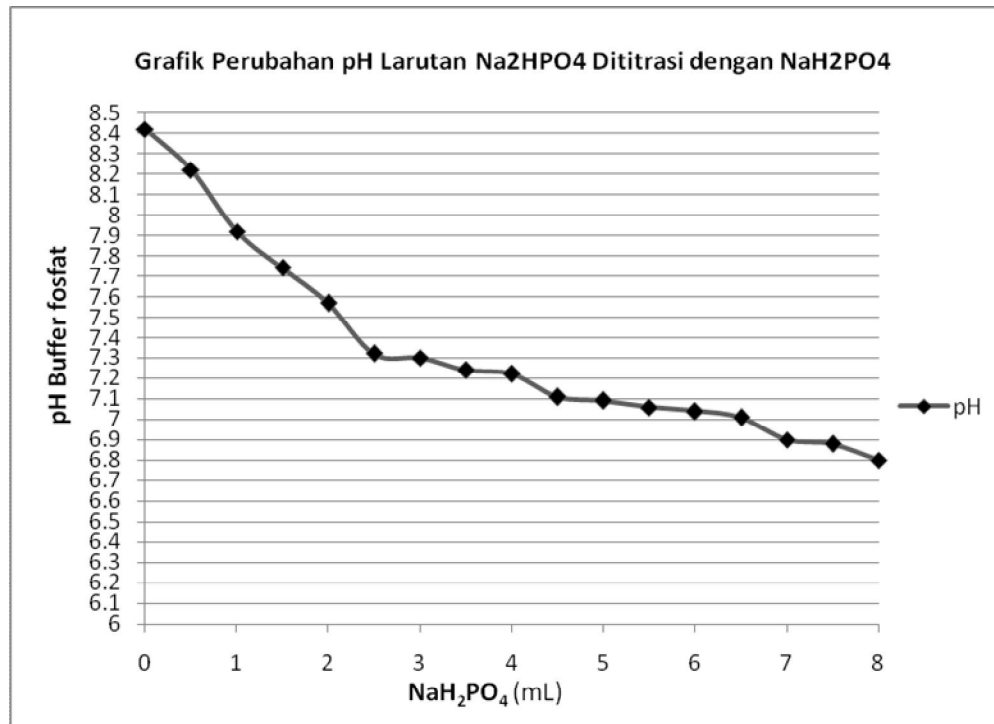
Dengan memulai dari larutan Na_2HPO_4 (basa lemah) yang kami anggap paling mendekati pH buffer yang diinginkan, dimulai dari 40 mL, kemudian ditambahkan secara bertahap 0,5 mL larutan NaH_2PO_4 (asam lemah) sampai 8 mL sehingga buffer fosfat mencapai pH 6,8.

Cara menggunakan pH meter :

- Sediakan 1 beaker 100mL 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 **500 μL** larutan natrium dihidrogen fosfat (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.

Tabel 1 : Ringkasan hasil pembuatan buffer fosfat (hasil dari seluruh grup praktikum siang)

pH tujuan	Volume 0,25M Na_2HPO_4	Volume 0,25M NaH_2PO_4	Volume 0,125M buffer fosfat yg disiapkan
6,3	40 mL	31 mL	142 mL
6,8	40 mL	8 mL	96 mL
7,0	35 mL	11 mL	92 mL
7,5	40 mL	2,5 mL	85 mL
7,8	40 mL	1 mL	82 mL



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 :

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[A^-]}{[HA]} \right)$$
 Maka untuk membuat larutan buffer fosfat dengan pH tertentu kita harus menggunakan konsentrasi asam fosfat dan basa konjugasinya dengan konsentrasi yang sama (dalam praktikum kali ini kita menggunakan konsentrasi 0,25M asam dihidrogen fosfat dan konsentrasi 0,25M basa konjugasinya monohidrogen fosfat).
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 40 mL ditambahkan terus dengan dihidrogen fosfat sampai mencapai 48 mL, maka nilai pH pun akan bergeser dari 8,42 menjadi 6,8. Pada proses titrasi dengan dihidrogen fosfat ini, sejak penambahan volume 0,5 mL sudah terjadi perubahan nilai pH, tetapi perubahan pHnya selama proses titrasi tidak signifikan, hal ini dapat kita lihat dari grafik di atas. Hal inilah yang 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). Pada tabel 1 terlihat bahwa ketika penambahan volume dihidrogen fosfat sebanyak 1 mL dibandingkan dengan penambahan 2,5 mL, pH yang dihasilkan tidak berubah secara signifikan, tetap di posisi pH basa. Hal ini juga menunjukkan fungsi dari larutan buffer, yaitu menyangga pH, sehingga dengan penambahan asam/basa, pH campuran tidak serta merta berubah secara signifikan.

III. 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
→ 0,45% glukosa
2. 2:3 5% glukosa : $2/5 \times 2 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$ 5% glukosa + 1,2 mL aquabidest
→ 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 → 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 → 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 → 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 → 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 → 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 → 0,015% glukosa

5. Pengenceran serial: pada faktor 2, 4, 8 dan 16 5% glukosa
 - $\frac{1}{2} \times 2 \text{ mL} = 1 \text{ mL } 5\% \text{ glukosa} + 1 \text{ mL aquabidest} \rightarrow 2,5\% \text{ glukosa}$
 - $\frac{1}{4} \times 2 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL } 5\% \text{ glukosa} + 1,5 \text{ mL aquabidest} \rightarrow 1,25\% \text{ glukosa}$
 - $\frac{1}{8} \times 2 \text{ mL} = 0,25 \text{ mL } 5\% \text{ glukosa} + 1,75 \text{ mL aquabidest} \rightarrow 0,625\% \text{ glukosa}$
 - $\frac{1}{16} \times 2 \text{ mL} = 0,125 \text{ mL } 5\% \text{ glukosa} + 1,875 \text{ mL aquabidest} \rightarrow 0,313\% \text{ glukosa}$

Pemeriksaan pengenceran dengan reaksi Benedict:

Reaksi Benedict dipakai untuk menunjukkan keadaan glukosa atau sakarida lain yang bersifat “*reduction sugar*”. Kita akan menggunakan reaksi tersebut untuk memeriksa pengenceran yang dibuat di atas.

1. Sediakan 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. Tambahkan 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.

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%	Biru kehijauan (+)	Sesuai
2	2 : 3	2%	Kuning kehijauan (++)	Tidak sesuai
3	0,1x	0,5%	Biru kehijauan (+)	Tidak sesuai
4	0,01x	0,05%	Biru jernih	Sesuai
5	0,001x	0,005%	Biru jernih	Sesuai
6	0,3x	1,5%	Biru kehijauan (+)	Tidak sesuai
7	0,03x	0,15%	Biru kehijauan (+)	Sesuai
8	0,003x	0,015%	Biru jernih	Sesuai
9	Pada faktor 2	2,5%	Jingga (+++)	Tidak sesuai
10	Pada faktor 4	1,25%	Kuning kehijauan (++)	Tidak sesuai
11	Pada faktor 8	0,625%	Biru Kehijauan (+)	Tidak sesuai
12	Pada faktor 16	0,313%	Biru jernih (sedikit kehijauan)	Sesuai

Kesimpulan :

1. Pada hasil percobaan pengenceran glukosa 5% pada tabel 2 di atas menunjukkan bahwa ketidaksesuaian hasil terjadi kemungkinan disebabkan pada uji benedict seluruh zat pereduksi selain glukosa yang terdapat di dalam larutan juga bereaksi dengan larutan benedict sehingga dapat terjadi false positif. 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.