

**ARTI PENTING KALIBRASI PADA PROSES PENGUKURAN ANALITIK:
APLIKASI PADA PENGGUNAAN pHMETER
DAN SPEKTROFOTOMETER UV-Vis**

Iqmal Tahir

*Laboratorium Kimia Dasar, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Gadjah Mada
Sekip utara, Yogyakarta 55281
Telp/fax : 0274-545188, email : iqmal@ugm.ac.id*

ABSTRAK

Dalam bidang kimia, pengukuran analitik memiliki peranan yang sangat penting. Tujuan dari pengukuran analitik ini adalah untuk menentukan nilai sebenarnya dari suatu parameter kuantitas kimia, contohnya seperti: konsentrasi, pH, dan lain-lain. Pengukuran analitik ini dapat menggunakan metode konvensional maupun modern, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Dalam setiap pengukuran analitik akan sangat dipengaruhi oleh faktor presisi dan bias, yang dapat memberikan kontribusi terhadap kesalahan pengukuran. Pada makalah ini akan diuraikan arti penting proses kalibrasi pada penggunaan pHmeter dan spektrofotometer UV-Vis.

1. PENDAHULUAN

Salah satu proses yang dilakukan terkait dengan pekerjaan dan riset dalam bidang kimia adalah pengukuran analitik. Tujuan pengukuran kimia pada prinsipnya adalah untuk mencari “nilai sebenarnya” dari suatu parameter kuantitas kimiawi. Nilai sebenarnya adalah nilai yang mengkarakterisasi suatu kuantitas secara benar dan didefinisikan pada kondisi tertentu yang eksis pada saat kuantitas tersebut diukur, beberapa contoh parameter yang dapat ditentukan secara analitik adalah konsentrasi, pH, temperatur, titik didih, kecepatan reaksi, dan lain lain. Pengukuran parameter-parameter ini sangat penting, karena data yang diperoleh nantinya tidak hanya sebagai ukuran angka-angka biasa namun juga baik kualitatif maupun kuantitatif dengan dapat menunjukkan nilai besaran yang sebenarnya.

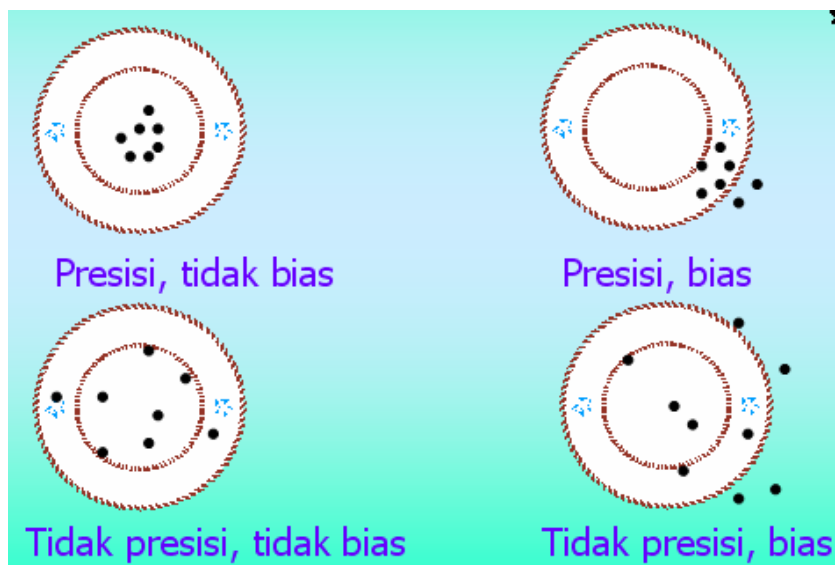
Sebagaimana biasa dalam pengamatan eksperimen secara umum, hasil yang diperoleh pasti tidak dapat terlepas dari faktor kesalahan. Nilai parameter sebenarnya yang akan ditentukan dari suatu perhitungan analitik tersebut adalah ukuran ideal. Nilai tersebut ini hanya bisa diperoleh jika semua penyebab kesalahan pengukuran dihilangkan dan jumlah populasi tidak terbatas. Faktor penyebab kesalahan ini dapat disebabkan oleh berbagai hal antara lain adalah faktor bahan kimia, peralatan, pemakai, dan kondisi pengukuran dan lain-lain. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengurangi kesalahan dalam pengukuran analitik ini adalah dengan proses kalibrasi.

Pada makalah ini diuraikan tentang permasalahan kesalahan pengukuran akibat faktor alat dan penanganannya. Terkait dengan pelaksanaan aktivitas laboratorium kimia, adalah sering dijumpai penggunaan pHmeter dan spektrofotometer UV-Vis, maka diuraikan juga peranan kalibrasi pada kedua alat tersebut. Dari makalah ini diharapkan pengguna peralatan tersebut dapat memahami permasalahan tersebut dan dapat mengimplementasikannya untuk penggunaan di laboratorium.

2. PRESISI, AKURASI DAN BIAS

Hasil pengukuran yang baik dari suatu parameter kuantitas kimia, dapat dilihat berdasarkan tingkat presisi dan akurasi yang dihasilkan. **Akurasi** menunjukkan kedekatan nilai hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya. Untuk menentukan tingkat akurasi perlu diketahui nilai sebenarnya dari parameter yang diukur dan kemudian dapat diketahui seberapa besar tingkat akurasinya. **Presisi** menunjukkan tingkat *reliabilitas* dari data yang diperoleh. Hal ini dapat dilihat dari standar deviasi yang diperoleh dari pengukuran, presisi yang baik akan memberikan standar deviasi yang kecil dan bias yang rendah.

Jika diinginkan hasil pengukuran yang valid, maka perlu dilakukan pengulangan, misalnya dalam penentuan nilai konsentrasi suatu zat dalam larutan dilakukan pengulangan sebanyak n kali. Dari data tersebut dapat diperoleh ukuran harga nilai terukur adalah rata-rata dari hasil yang diperoleh dan standar deviasi. Perbandingan dari tingkat presisi, akurasi dan bias dari suatu hasil pengukuran dapat diilustrasikan pada gambar 1.



Gambar 1. Pola hasil pengukuran analitik

Gambar 1 menyajikan pola target hasil dari olah raga menembak atau memanah yang analog dengan pola hasil pengukuran analitik yang ideal. Pada gambar 1 (a) sebaran data cukup baik dan mendekati data aslinya. Hasil data dikatakan presisi dan tidak bias atau tidak menyimpang. Gambar 1 (b) menunjukkan sebaran data yang presisi, tetapi menyimpang dari target yang sebenarnya berarti data dikatakan bias. Gambar 1 (c) menunjukkan sebaran data yang meluas berarti data yang diperoleh tidak presisi. Data 1 (c) tersebut tidak bias relatif jika dibandingkan dengan data 1 (d) yang sama-sama tidak presisi. Faktor-faktor presisi dan bias ini sangat ditentukan oleh terjadinya faktor-faktor kesalahan yang terjadi selama pengukuran.

3. SUMBER KESALAHAN DALAM PENGUKURAN ANALITIK

Faktor yang memengaruhi presisi dan bias di atas dapat diakibatkan oleh kesalahan yang terjadi karena berbagai penyebab. Menurut Miller & Miller (2001) tipe kesalahan dalam pengukuran analitik dapat dibagi menjadi tiga, yaitu:

1. Kesalahan serius (*Gross error*)

Tipe kesalahan ini sangat fatal, sehingga konsekuensinya pengukuran harus diulangi. Contoh dari kesalahan ini adalah kontaminasi reagent yang digunakan, peralatan yang memang rusak total, sampel yang terbuang, dan lain lain. Indikasi dari kesalahan ini cukup jelas dari gambaran data yang sangat menyimpang, data tidak dapat memberikan pola hasil yang jelas, tingkat reproduibilitas yang sangat rendah dan lain lain.

2. Kesalahan acak (*Random error*)

Golongan kesalahan ini merupakan bentuk kesalahan yang menyebabkan hasil dari suatu perulangan menjadi relatif berbeda satu sama lain, dimana hasil secara individual berada di sekitar harga rata-rata. Kesalahan ini memberi efek pada tingkat akurasi dan kemampuan dapat terulang (reproduibilitas). Kesalahan ini bersifat wajar dan tidak dapat dihindari, hanya bisa direduksi dengan kehati-hatian dan konsentrasi dalam bekerja.

3. Kesalahan sistematis (*Systematic error*)

Kesalahan sistematis merupakan jenis kesalahan yang menyebabkan semua hasil data salah dengan suatu kemiripan. Hal ini dapat diatasi dengan:

- a. Standarisasi prosedur
- b. Standarisasi bahan
- c. Kalibrasi instrumen

Secara umum, faktor yang menjadi sumber kesalahan dalam pengukuran sehingga menimbulkan variasi hasil, antara lain adalah:

1. Perbedaan yang terdapat pada obyek yang diukur.

Hal ini dapat diatasi dengan:

- a. Obyek yang akan dianalisis diperlakukan sedemikian rupa sehingga diperoleh ukuran kualitas yang homogen
 - b. Menggunakan teknik sampling dengan baik dan benar
2. Perbedaan situasi pada saat pengukuran
Perbedaan ini dapat diatasi dengan cara mengenali persamaan dan perbedaan suatu obyek yang terdapat pada situasi yang sama. Dengan demikian sifat-sifat dari obyek dapat diprediksikan.
 3. Perbedaan alat dan instrumentasi yang digunakan
Cara yang digunakan untuk mengatasinya adalah dengan menggunakan alat pengatur yang terkontrol dan telah terkalibrasi.
 4. Perbedaan penyelenggaraan/administrasi
Kendala ini diatasi dengan menyelesaikan permasalahan non-teknis dengan baik sehingga keadaan peneliti selalu siap untuk sehingga melakukan kerja.
 5. Perbedaan pembacaan hasil pengukuran
Kesalahan ini dapat diatasi dengan selalu berupaya untuk mengenali alat atau instrumentasi yang akan digunakan terlebih dahulu.

Dari lima faktor penyebab kesalahan dalam bidang analitik maka peralatan dan instrumentasi sangat berpengaruh. Peralatan pada dasarnya harus dikendalikan oleh pemakainya. Untuk peralatan mekanis yang baru relatif semua sistem sudah berjalan dengan optimal, sebaliknya untuk alat yang sudah berumur akan banyak menimbulkan ketidakoptimuman karena komponen aus, korosi dan sebagainya. Demikian juga peralatan elektrik, pencatatan harus selalu dikalibrasi dan dicek ulang akurasi. Untuk peralatan yang menggunakan sensor atau detektor maka perawatan dan kalibrasi akan berperan penting. Berikut disajikan contoh peranan kalibrasi pada pHmeter dan spektrofotometer UV-Vis

4. ARTI PENTING KALIBRASI DALAM pHMETER

Instrumen pHmeter adalah peralatan laboratorium yang digunakan untuk menentukan pH atau tingkat keasaman dari suatu sistem larutan. (Beran, 1996). Tingkat keasaman dari

suatu zat, ditentukan berdasarkan keberadaan jumlah ion hidrogen dalam larutan. Yang dapat dinyatakan dengan persamaan:

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

Pengukuran sifat keasaman dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:

- a. Kertas lakmus, terdapat dua jenis kertas lakmus, yaitu kertas lakmus merah dan kertas lakmus biru. Penggunaan kertas lakmus hanya sekali pakai. Nilai pH yang terukur hanya bersifat pendekatan, jika suatu senyawa merubah warna kertas lakmus merah menjadi biru, maka dia bersifat basa, sedangkan jika suatu senyawa merubah warna kertas lakmus biru menjadi merah, maka ia bersifat asam. Pengukuran hanya bersifat kualitatif, hasil yang diperoleh relatif tidak begitu akurat. Kertas lakmus dengan kombinasi beberapa indikator ada yang dapat digunakan yakni dengan pencocokan skala, kertas lakmus jenis ini mengkombinasikan 4 indikator yang berbeda warna. Kombinasi warna yang berbeda diberi skala 1-14 sesuai dengan pH sistem yang diukur.
- b. pHmeter, keuntungan dari penggunaan pHmeter dalam menentukan tingkat keasaman suatu senyawa adalah:
 - Pemakaiannya bisa berulang-ulang
 - Nilai pH terukur relatif cukup akurat

Instrumen yang digunakan dalam pHmeter dapat bersifat analog maupun digital. Sebagaimana alat yang lain, untuk mendapatkan hasil pengukuran yang baik, maka diperlukan perawatan dan kalibrasi pHmeter.

Pada penggunaan pHmeter, kalibrasi alat harus diperhatikan sebelum dilakukan pengukuran. Seperti diketahui prinsip utama pHmeter adalah pengukuran arus listrik yang tercatat pada sensor pH akibat suasana ionik di larutan. Stabilitas sensor harus selalu dijaga dan caranya adalah dengan kalibrasi alat. Kalibrasi terhadap pHmeter dilakukan dengan:

Larutan buffer standar : pH = 4,01 ; 7,00 ; 10,01

Penentuan kalibrasinya dapat dilakukan dengan cara:

- a. Teknik satu titik, yaitu pada sekitar pH yang akan diukur, yakni kalibrasi dengan buffer standar pH 4,01 untuk sistem asam, buffer standar pH 7,00 untuk sistem netral, dan buffer standar pH 10,01 untuk sistem basa.
- b. Teknik dua titik (diutamakan)
Apabila sistem bersifat asam, maka digunakan 2 buffer standar berupa pH 4,01 dan 7,00

Apabila sistem bersifat basa, digunakan 2 buffer standar berupa pH 7,00 dan 10,01

c. Teknik multi titik

Kalibrasi dilakukan dengan menggunakan 3 buffer standar.

Untuk sistem dengan pH < 2,00 atau > 12,00, sering terjadi ketidaknormalan elektroda, kelemahan ini dipengaruhi oleh jenis alat yang digunakan. Untuk pengukuran yang dilakukan dalam waktu yang lama, maka diperlukan proses kalibrasi secara periodik selang 1,5 – 2 jam. Hal ini untuk menjaga kestabilan dari alat pHmeter yang digunakan, sehingga tetap dapat diperoleh hasil pengukuran yang bagus.

Untuk keperluan kalibrasi ini dapat menggunakan buffer pH yang ada di pasaran, skala yang biasa digunakan adalah:

pH = 4,01 merah; pH = 7,00 hijau; pH = 10,00 biru

Yang biasa dijual di pasaran dapat berupa: *larutan pH buffer*, *ampul pH buffer*, *pH buffer pack* yang penggunaannya bisa berulang, *pH buffer pouches* hanya sekali pakai, *tablet pH buffer* dapat digunakan untuk 20 ml larutan, dan *kapsul pH buffer* dapat digunakan untuk 100 ml larutan. Contoh dari masing-masing produk pH buffer ini disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Produk pH buffer yang tersedia di pasaran.

Akurasi dari nilai pH untuk setiap buffer ditentukan sebagai fungsi temperatur. Kenaikan satu derajat temperatur menyebabkan perubahan nilai pH berkisar antara 0,01 sampai 0,02. Koreksi nilai pH dari buffer standar pada kondisi temperatur ruang pengukuran dapat dilihat pada tabel yang tertera di label botol.

Pemilihan jenis pH buffer mana yang harus dipilih dalam suatu pengukuran, tergantung kebutuhan dan tujuan yang ingin dicapai. Prinsip yang harus diperhatikan dalam penggunaan pH buffer standar ini adalah sebisa mungkin dalam keadaan segar. Sensor pHmeter selalu dicuci untuk menjaga akurasi alat serta mencegah kontaminasi pada pH buffer.

Selain itu, untuk lebih menjaga keawetan sensor, maka perlakuan sensor apabila tidak dipakai harus direndam/tercelup dalam aquades.

Proses kalibrasi dan perlakuan pHmeter seperti yang diterangkan di atas akan dapat memberikan hasil pengukuran pH yang akurat dan presisi.

5. ARTI PENTING KALIBRASI DALAM SPEKTROFOTOMETER UV-Vis

Salah satu contoh instrumentasi analisis yang lebih kompleks adalah spektrofotometer UV-Vis. Alat ini banyak bermanfaat untuk penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (200 – 400 nm) atau daerah sinar tampak (400 – 800 nm) (Sastrohamidjojo, 1991). Analisis ini dapat digunakan yakni dengan penentuan absorbansi dari larutan sampel yang diukur.

Prinsip penentuan spektrofotometer UV-Vis adalah aplikasi dari Hukum Lambert-Beer, yaitu:

$$A = -\log T = -\log I_t / I_0 = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Dimana : A = Absorbansi dari sampel yang akan diukur

T = Transmittansi

I_0 = Intensitas sinar masuk

I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

ϵ = Koefisien ekstingsi

b = Tebal kuvet yang digunakan

C = Konsentrasi dari sampel

Penyebab kesalahan sistematis yang sering terjadi dalam analisis menggunakan spektrofotometer adalah:

- a) Serapan oleh pelarut

Hal ini dapat diatasi dengan penggunaan blangko, yaitu larutan yang berisi matrik selain komponen yang akan dianalisis.

- b) Serapan oleh kuvet

Kuvet yang biasa digunakan adalah dari bahan *gelas* atau *kuarsa*. Dibandingkan dengan kuvet dari bahan gelas, kuvet kuarsa memberikan kualitas yang lebih baik, namun tentu saja harganya jauh lebih mahal. Serapan oleh kuvet ini diatasi dengan penggunaan jenis, ukuran, dan bahan kuvet yang sama untuk tempat blangko dan sampel.

- c) Kesalahan fotometrik normal pada pengukuran dengan absorbansi sangat rendah atau sangat tinggi, hal ini dapat diatur dengan pengaturan konsentrasi, sesuai dengan kisaran sensitivitas dari alat yang digunakan. (melalui pengenceran atau pemekatan)

Sama seperti pHmeter, untuk mengatasi kesalahan pada pemakaian spektrofotometer UV-Vis maka perlu dilakukan kalibrasi. Kalibrasi dalam spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan menggunakan blangko:

Setting nilai absorbansi = 0

Setting nilai transmitansi = 100 %

Penentuan kalibrasi dilakukan denganikuti prosedur sebagai berikut:

- a. Dilakukan dengan larutan blangko (berisi pelarut murni yang digunakan dalam sampel) dengan kuvet yang sama.
- b. Setiap perubahan panjang gelombang diusahakan dilakukan proses kalibrasi.
- c. Proses kalibrasi pada pengukuran dalam waktu yang lama untuk satu macam panjang gelombang, dilakukan secara periodik selang waktu per 30 menit.

Dengan adanya proses kalibrasi pada spektrofotometer UV-Vis ini maka akan membantu pemakai untuk memperoleh hasil yang akurat dan presisi.

6. PENUTUP

Proses kalibrasi secara rutin dan benar memiliki peranan penting dalam memberikan hasil analisis dengan presisi dan akurasi yang terjaga termasuk dalam hal ini proses kalibrasi untuk alat pHmeter dan spektrofotometer UV-Vis. Peran teknisi laboratorium sangat diperlukan untuk menyediakan fasilitas kalibrasi meliputi bahan dan peralatan pendukung, serta menyiapkan prosedur kalibrasi dan standarisasi bagi para pemakai alat.

7. DAFTAR PUSTAKA

Miller, J.N and Miller, J.C., 2000, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4th ed, Prentice Hall, Harlow.

Sastrohamidjojo, H, 1991, *Spektroskopi*, Liberty, Yogyakarta.

Beran, J.A, 1996, *Chemistry in The Laboratory*, John Willey & Sons.