

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Ekstraksi Tomat

Bahan tomat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tomat dari varietas tomat apel (*Lycopersicum esculentum var. pyriforme*) yang diperoleh dari sebuah pasar swalayan di Bogor. Yang mendasari metode ekstraksi ini adalah bahwa senyawa fenol dapat diisolasi dengan mudah dari jaringan tumbuhan dengan ekstraksi dengan methanol atau methanol yang diasamkan dengan 0.1% (v/v) HCl. Karena mayoritas fenol berada dalam bentuk glikosida, perlu diperhatikan isolasinya untuk mencegah hidrolisis.¹⁷

Tomat segar dicelupkan ke dalam alcohol mendidih 1-3 menit, lalu dipotong-potong dan dilumatkan dengan blender. Kemudian, dilakukan ekstraksi dengan metanol 2,5 ml dengan alat *rotary shaker*. Larutan ekstrak disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm. Setelah itu, lapisan organik dipisahkan dan diuapkan sampai kering dengan bantuan gas nitrogen pada suhu 50⁰C. Didapatkan berat segar 0,9886 g yang merupakan berat segar. Dalam penelitian ini, digunakan berat segar untuk menentukan kandungan fenol total karena tomat dibeli dan dimakan dalam keadaan segar.²¹ Residu tersebut disimpan dalam *freezer* sebelum pengujian berikutnya. Sebelum melakukan pengujian fenol total, residu dilarutkan terlebih dahulu dengan methanol 50% 5 ml.

Dari larutan residu dan metanol tersebut, diambil 500 μ L residu dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 0.5 mL larutan Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan 10 kali. Setelah campuran dibiarkan 2 menit kemudian ditambahkan 2 mL larutan sodium karbonat 7.5%. Segera ditambahkan akuades sampai volume 10 mL. Larutan diinkubasi pada 45 °C selama 15 menit atau 1 jam pada suhu kamar, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 765 nm.

4.2. Penetapan Kandungan Fenol Total

Ada dua cara untuk menentukan kandungan fenol suatu sampel. Pertama, dengan metode Folin Ciocalteu (FC), yang merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan fenol total. Hasil yang didapatkan adalah estimasi kandungan fenol total. Alternatif lainnya adalah dengan teknik identifikasi dan karakterisasi masing-masing senyawa fenol, seperti dengan teknik *Thin layer chromatography*, *Liquid chromatography*, dan *gas chromatography*. Hasil yang didapatkan adalah jenis-jenis fenol yang dikandung, kuantitas masing-masing, dan kadar totalnya.¹⁷

Nilai yang didapat dari metode teknik identifikasi dan karakterisasi dengan kromatografi biasanya lebih rendah daripada yang diestimasi dengan metode FC. Salah satu alasannya adalah beberapa polifenol dapat lolos dalam determinasi oleh kromatografi. Hal ini dapat berupa senyawa yang tidak diketahui, senyawa yang muncul sebagai sisa-sisa yang tidak dipertimbangkan dalam kromatografi, atau senyawa yang tidak dapat dipisahkan oleh kromatografi, seperti polimer proantosianidin dan polifenol teroksidasi.¹⁶

Alasan lainnya dari perbedaan hasil kedua teknik ini adalah bahwa agen pereduksi lain dapat muncul pada makanan. Asam askorbat juga dapat mereduksi reagen Folin. Sebagai contoh, kandungan asam askorbat kentang, tomat, bawang, apel, dan jeruk (masing-masing 17, 24, 8, 12 dan 54 mg/100 g berat segar) dapat berkontribusi terhadap 40 dan 46% dari fenol pada kentang dan tomat tapi hanya 6 dan 4% pada bawang dan apel.¹⁶

Dalam penelitian ini dipilih metode Folin-Ciocalteu dengan pertimbangan bahwa teknik ini lebih murah dan sederhana cara pengerjaannya.¹⁷

Prinsip reaksi ini adalah berdasarkan reduksi reagen campuran fosfotungstic (WO₄²⁻)-fosfomolibdat (MoO₄²⁻) dengan gugus hidroksil fenolik yang menghasilkan produk berwarna biru. Intensitas warna kemudian dikuantifikasi berdasarkan absorbansi dengan spektrofotometer.¹⁷

4.2.1. Pengukuran Absorbansi Standar Asam Galat

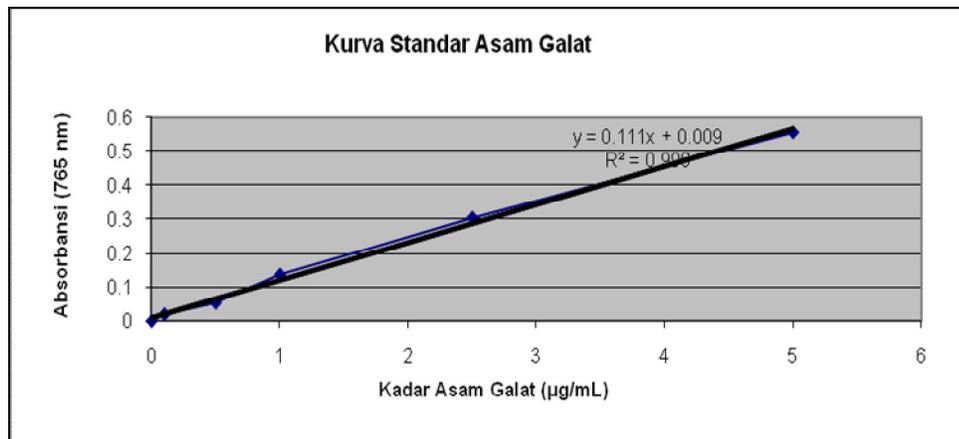
Untuk pembandingan kandungan fenol tomat, digunakan asam galat, yang merupakan golongan dari asam fenolat sederhana. Asam galat merupakan senyawa yang umum digunakan sebagai standar selain asam klorogenat.¹⁷ Asam galat dipilih karena merupakan substansi yang stabil dan murni. Selain itu, asam galat juga lebih murah disbanding pilihan lainnya.²³

Pertama kali, disiapkan larutan stok asam galat 1000 µg/mL dalam metanol. Kemudian larutan stok diencerkan untuk mendapatkan larutan kerja dengan kadar 10 µg/mL. Kemudian dibuat serangkaian larutan standar dengan kadar 0; 0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0. µg/mL. Pengukuran dilakukan secara *duplo*. Hasil pengukurannya adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1. Hasil Pengukuran Absorbansi Asam Galat

Asam galat (µg/mL)	Absorbansi I (765 nm)	Absorbansi II (765 nm)	Absorbansi rata-rata (765 nm)
0	0	0	0
0.1	0.021	0.018	0.0195
0.5	0.05	0.056	0.053
1	0.098	0.176	0.137
2.5	0.282	0.326	0.304
5	0.52	0.589	0.5545

Dari daftar tersebut, dibuat kurva kalibrasi asam galat yang menghasilkan persamaan $y=0,111x + 0,009$, dengan y merupakan nilai absorbansi dan x merupakan kadar asam galat.



Gambar 4.1. Kurva Kalibrasi Asam Galat

4.2.2. Hasil Penetapan Kandungan fenol total

Setelah mengetahui kurva kalibrasi asam galat, dilakukan pengukuran absorbansi sampel tomat. Hasilnya adalah sebagai berikut:

Tabel 4.2. Hasil Pengukuran Absorbansi Sampel Tomat

Tomat	Absorbansi (756 nm)
Tabung 1	0.114
Tabung 2	0.11
Rata- Rata	0.112

Berdasarkan persamaan yang telah didapatkan, dapat diketahui nilai x atau kandungan fenol total larutan residu tomat ekivalen asam galat dengan memasukkan nilai absorbansi sampel tomat rata-rata ke y. Berikut penghitungannya:

$$y = 0,111x + 0,009$$

$$0,112 = 0,111x + 0,009$$

$$0,111x = 0,112 - 0,009$$

$$x = 0,927 \mu\text{g GAE/ mL larutan residu}$$

Kemudian, dapat ditentukan kandungan fenol per berat sampel tomat dengan mengalikan nilai kandungan fenol total larutan residu tomat tersebut dengan volume larutan per berat sampel segar dan selanjutnya dikalikan dengan faktor pengenceran sampel. Maka didapatkan:

Faktor Pengenceran= 10

$$0,927 \mu\text{g GAE/ mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,9866 \text{ g}} \times 10 = 94,053 \mu\text{g GAE/ g}$$

$$= 94,053 \mu\text{g GAE/ g berat segar}$$

$$= 9,405 \text{ mg GAE/ 100 g berat}$$

segar

Tabel 4.3. Kandungan Fenol Tomat

Berat bahan (g)	Absorbansi I	Absorbansi II	Absorbansi rata-rata	Standar Deviasi	Kadar ekuivalen asam galat ($\mu\text{gGAE/mL}$)	Kandungan fenol total (mgGAE/100g sampel)
0,9886	0.114	0,11	0.112	0.00	0.927	9,405

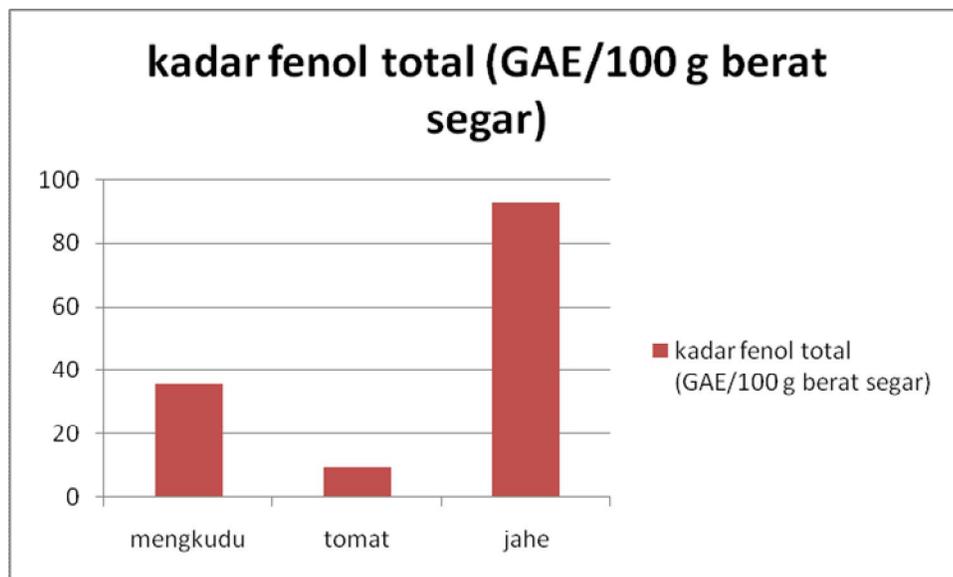
Dari hasil perhitungan, didapatkan kandungan fenol total tomat apel sebesar 9,405 mg GAE/100 g berat segar tomat. Hasil kandungan fenol total ini bisa didapatkan karena tomat mengandung senyawa polifenol, yaitu flavonoid dan asam sinamat.^{4,6}

Hasil ini memiliki perbedaan dengan penelitian-penelitian tentang fenol total lainnya, seperti dengan hasil penelitian Slimstad dan Vehull di Norwegia yang mendapatkan *range* hasil kandungan fenol total tomat 14,6-32,6mg GAE/100g berat segar. Namun, varian tomat yang digunakan dalam penelitian tersebut adalah varian yang berbeda, yaitu tomat cherry (*Lycopersicon esculentum Mill. cv. Jennita*).²⁴ Sementara, hasil penelitian oleh Deniati yang menggunakan sampel dengan lokasi budidaya, teknik pertanian, dan varietas sama, yaitu tomat apel (*Lycopersicon*

esculentum var. *pyriforme*) dan juga dibeli di pasar swalayan di Kota Bogor menunjukkan bahwa kandungan fenol total tomat adalah 24,86 +/- 2,41mg GAE/100g berat segar.²⁵ Perbedaan hasil lebih signifikan terlihat bila dibandingkan dengan hasil penelitian Marinova, Ribarova dan Atanassova di Bulgaria yang menunjukkan hasil 76,9 mg GAE/100g berat segar.²⁶ Dari pembahasan di atas, dapat disimpulkan bahwa kandungan fenol total pada penelitian ini lebih rendah daripada ketiga penelitian lainnya.

Sebagai bahan pertimbangan tentang alasan perbedaan dari setiap hasil penelitian di atas, ada beberapa hal yang dapat mempengaruhi perbedaan nilai fenol total pada buah dan sayuran, di antaranya praktek budaya dalam pertanian, lokasi tanaman dibudidayakan, dan teknik pertanian spesifik yang dipilih. Selain itu, ada pula faktor lainnya, seperti pemrosesan komersial dan penyimpanan buah dan sayuran. Dalam penelitian Tarozzi dkk, fenol total dan aktivitas antioksidan total menurun pada apel dengan kulit utuh hanya dalam tiga bulan pertama penyimpanan. Diduga, penyimpanan dalam ruang dingin dapat menurunkan agen antioksidan dengan cepat pada kulit apel tapi tidak pada daging buahnya.⁹ Faktor lain yang dapat mempengaruhi perbedaan hasil adalah perbedaan varietas tomat yang dipilih dalam penelitian.⁵ Berdasarkan bahan pertimbangan tersebut, diduga perbedaan hasil penelitian ini dengan hasil-hasil penelitian lainnya tidak lepas dari faktor-faktor yang dijabarkan di atas. Mengenai perbedaan hasil penulis dengan Deniati, yang memiliki lokasi budidaya, teknik pertanian, dan varietas bahan alam sama, alasan perbedaan yang mungkin terjadi adalah pada proses penyimpanan.

Dalam waktu yang sama dengan penelitian ini, dilakukan pula penelitian terhadap total fenol bahan-bahan alam lainnya, yaitu mengkudu dan jahe, dengan alat dan bahan uji yang sama. Penelitian total fenol pada mengkudu, yang dilakukan oleh Rahmawati, menghasilkan angka 35,60 GAE/100 g berat segar.²⁷ Sedangkan penelitian total fenol jahe, yang dilakukan oleh Widiyanti, menghasilkan angka 92,79 GAE/100 g berat segar.²⁸ Berdasarkan data tersebut, diketahui bahwa Jahe memiliki kandungan fenol total paling banyak, yang diikuti oleh mengkudu dan tomat. Perbandingan dapat dilihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.2. Perbandingan kandungan fenol total mengkudu, tomat, dan jahe

Sementara itu, penelitian ini juga dibandingkan dengan hasil penelitian Deniati yang meneliti total fenol dan aktivitas antioksidan bahan-bahan alam, yaitu mengkudu, tomat, jahe, pisang, buah merah dan bawang putih. Sama dengan penelitian ini, bahan mengkudu dan jahe yang diteliti oleh Rahmawati dan Widiyanti juga memiliki varietas yang sama dengan yang diteliti oleh Deniati. Hasil penelitian tersebut dapat dilihat pada tabel 6.^{25, 27, 28}

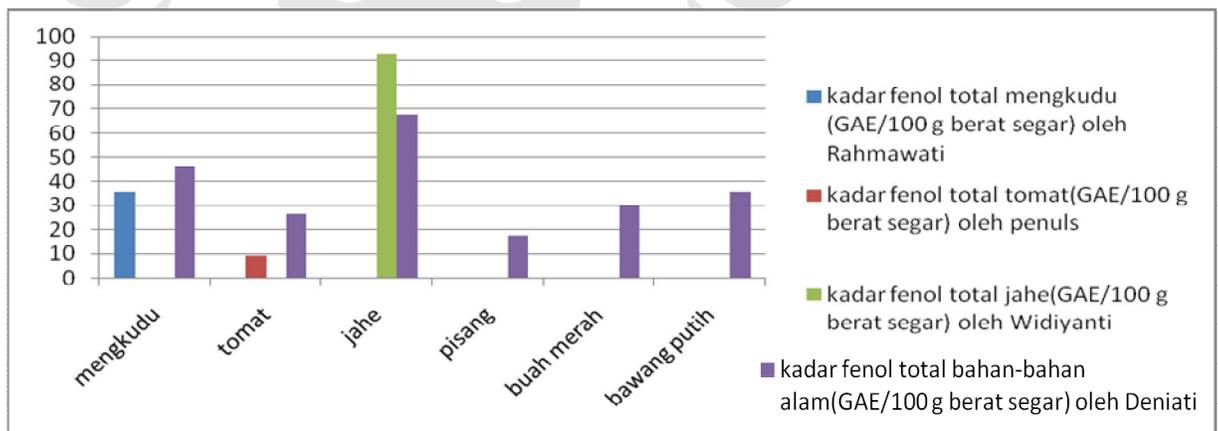
Tabel 4.4. Kandungan fenol total bahan-bahan alam

Sampel	Berat bahan (g)	A (765 nm)	Kadar (ug/mL)	(mgGA/100g)	Rata2	SD
M1	1.0281	0.539	5.02	48.81		
M2	1.1505	0.521	4.85	42.14		
M3	1.0172	0.508	4.73	46.46		
M4	1.2062	0.614	5.84	48.43	46.46	3.06
T1	1.3415	0.541	5.04	37.55		
T2	1.7975	0.545	5.07	28.23		
T3	1.9574	0.506	4.71	24.05		
T4	1.4926	0.244	2.23	14.93	26.19	9.39
J1	0.696	0.46	4.34	62.33		
J2	0.9792	0.623	5.93	60.56		

J3	0.7934	0.603	5.73	72.28		
J4	0.7306	0.575	5.46	74.75	67.48	7.08
P1	1.1189	0.219	2.00	17.89		
P2	1.6215	0.265	2.44	15.02	17.70	2.08
P3	1.0523	0.205	1.87	17.77		
P4	0.9579	0.211	1.93	20.11		
Bw mrh 1	1.0652	0.352	3.26	30.56		
Bw mrh 4	1.1123	0.331	3.08	27.67		
Bw mrh 2	1.0065	0.361	3.34	33.19		
Bw mrh 3	0.9685	0.305	2.82	29.16	30.15	2.35
Bw pth 1	1.0546	0.415	3.85	36.50		
Bw pth 2	1.0054	0.358	3.31	32.94		
Bw pth 3	0.9862	0.352	3.28	33.29		
Bw pth 4	0.8527	0.358	3.34	39.19	35.48	2.95

Deniati SH. Aktivitas antioksidan dan kandungan fenol total beberapa ekstrak bahan alam. Departemen Biokimia dan biologi molekuler. Jakarta: FKUI; 2006.

Dari hasil tersebut, didapatkan bahwa jahe tetap merupakan bahan alam dengan kandungan fenol total paling tinggi dibanding yang lainnya. Urutan berikutnya diikuti oleh mengkudu, bawang putih, bawang merah, tomat, dan pisang.



Gambar 4.3. Perbandingan Kandungan Fenol Total Bahan-Bahan Alam

Dari tabel di atas, didapatkan bahwa kandungan fenol total jahe yang didapatkan oleh Widiyanti merupakan yang tertinggi di antara hasil kandungan fenol total bahan-bahan alam yang didapatkan dari penelitian-penelitian yang lainnya.

Sedangkan, kandungan fenol total tomat yang didapatkan oleh Widiyanti merupakan yang terendah di antara hasil kandungan fenol total bahan-bahan alam yang didapatkan dari penelitian-penelitian yang lainnya. Kadar total fenol mengkudu dan tomat yang diteliti oleh Deniati lebih tinggi dibanding hasil penelitian oleh Rahmawati dan penulis. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Widyanti yang memiliki hasil yang lebih tinggi daripada hasil penelitian Deniati. Perbedaan hasil penelitian antara Deniati dengan peneliti lainnya dapat disebabkan oleh perbedaan proses penyimpanan bahan.

