

## **BAB 3**

### **METODOLOGI**

Pada penelitian ini diuji kandungan fenol total tomat. Kandungan fenol total diuji dengan larutan Folin-Ciocalteu (FC) dan sebagai pembanding adalah asam galat.

#### **3.1. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif, yakni penjelasan data yang didapatkan sebagai hasil penelitian dengan melalui gambaran sesuai dengan kenyataan. Penelitian ini dibagi dalam beberapa tahap, yaitu:

- a. ekstraksi bahan,
- b. pengujian fenol total, dan
- c. analisis data serta membandingkan dengan hasil penelitian lain.

#### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penelitian berlangsung selama 6 bulan.

#### **3.3. Sampel**

Sampel yang dipakai pada penelitian ini ialah varietas tomat apel (*Lycopersicon esculentum var. pyriforme*) yang didapat dari pasar organik Bogor. Sampel tomat dipilih yang matang dan segar.

#### **3.4. Parameter yang Diuji**

Parameter yang diuji pada penelitian ini ialah kandungan fenol total.

#### **3.5. Bahan dan Alat**

Bahan:

1. Sampel tomat

2. Standar antioksidan pembanding: Asam Galat (Sigma)
3. Reagen Folin-Ciocalteu (FC *reagent*)- Sigma
4. Metanol - Merck
5. Akuades
6. Sodium karbonat- Merck

Alat:

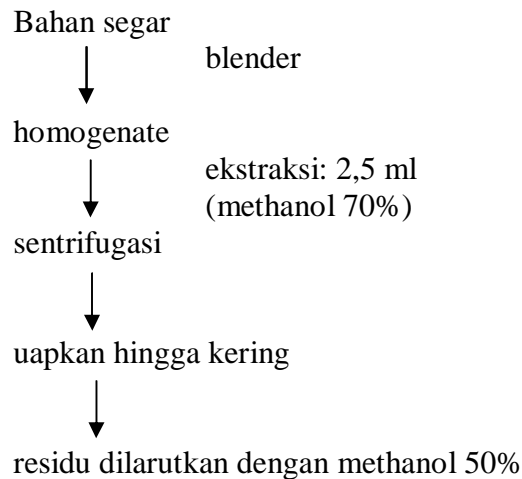
1. Neraca analitik
2. Blender
3. *Ratay Shaker*, alat untuk ekstraksi bahan
4. TurboVap (Zymark), alat untuk menguapkan pelarut
5. Alat sentrifugasi
6. *Freezer*
7. Spektrofotometer (Shimadzu)
8. Alat-alat gelas

### 3.6. Prosedur Kerja

#### 3.6.1. Ekstraksi Tomat

Tomat dipilih yang matang/ siap dikonsumsi dan segar. Sekitar 500 gram tomat tanpa dikupas, dicelupkan ke dalam alkohol mendidih 1-3 menit, kemudian dipotong-potong dan dilumatkan dengan blender.

Homogenat segera ditimbang ( $\pm 1$  g) dalam tabung reaksi bertutup ulir. Selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan metanol 70% sebagai pengeksrak. Ekstraksi dilakukan dengan mencampur 2,5 mL pelarut menggunakan alat *rotary shaker*. Larutan ekstrak disentrifugasi dengan kecepatan 5000rpm. Lapisan organik dipisahkan dan diuapkan sampai kering dengan bantuan gas nitrogen pada suhu 50°C. Setelah ditimbang, didapatkan berat residu 0,9886 g. Residu kering disimpan dalam freezer sebelum pengujian lebih lanjut. Pengujian kandungan fenol total dilakukan terlebih dahulu melarutkan residu dalam metanol 50 % 5 ml.



Gambar 3.1. Bagan alur ekstraksi

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

### 3.6.2. Penetapan Kandungan Fenol Total (Metode Folin-Ciocalteu)

Penetapan kandungan fenol total ini dilakukan berdasarkan metode Folin-Ciocalteu.

#### 3.6.2.1. Prinsip kerja

Senyawa fenol bereaksi dengan peraksi fosfomolibdat-fosfotungstat (larutan FC) akan memberi warna kuning dan dengan penambahan alkali akan menghasilkan warna biru. Intensitas warna biru diukur serapannya pada panjang 765 nm. Intensitas absorpsi cahaya pada panjang gelombang tersebut sebanding dengan konsentrasi fenol. Kandungan fenol total dalam bahan dibandingkan terhadap standar asam galat (AG).<sup>17, 22</sup>

#### 3.6.2.2. Cara kerja

500 $\mu$ L residu yang telah dilarutkan dalam 5 mL metanol 50%, 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 natrium 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.

### **3.6.2.3. Pembuatan standar asam galat**

Larutan stok asam galat mengandung 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; 0.25; 0.5; 1.0; 2.5; 5.0; 7.5 µg/mL

