EFISIENSI EKSTRAKSI
SENYAWA ISOFLAVON DARI AKAR KEDELAI
(*Glycine max* (L.) Merr.)

Oleh : Rinawati*), Latifah K. Darusman**), Purwantiningsih**)

ABSTRACT

Soybean roots extract which have been analyzed by thin layer and high performance liquid chromatography (TLC and HPLC) showed the various isoflavonoid compounds. The ethanol extraction combined with heating process give the high percentage of isoflavonoid compounds. Daedzein, genestein and formononetine could be identified from the partial purification of this extract.

PENDAHULUAN

Kedelai selain merupakan bahan makanan yang diakui bernilai gizi tinggi, juga merupakan sumber makanan ternak dan bahan baku industri yang dapat diolah menjadi minyak makan, susu kedelai, dan lain-lain (Lamina, 1989). Selama ini pemanfaatan kedelai belum diimbangi dengan penanganan limbah panennya yang efisien. Hanya sekitar 35 - 40 % dari brangkasan kedelai setelah panen yang telah dapat dimanfaatkan dengan baik. Bagian akar, batang, dan daunnya selama ini belum dimanfaatkan secara optimal. Meskipun proses alamiah telah mampu mengubah sebagian besar limbah organik tersebut, namun hasil yang paling menguntungkan tidak selalu dapat diperoleh (Winarno et al, 1985). Hal ini menyebabkan perlunya alternatif lain yang lebih baik dalam penanganan limbah panen kedelai.

Disisi lain, Harbone (1971) mengatakan bahwa famili leguminosae pada umumnya mengandung senyawa isoflavonoid yang mulai banyak dibicarakan karena khasiatnya bagi kesehatan. Senyawa tersebut dapat tersebar pada semua bagian tumbuhan seperti akar, batang, bunga dan daun. Khusus pada kedelai, Kurdou (1991) melaporkan adanya kandungan lima macam isoflavonoid glikosida yaitu genistin, daidzin, glysitein 0(7-)-B-D-glukosida, 6"-0- asetildaidzin, 6"-0-asetilgenistin dan aglikonnya. Sedangkan Porter (1986) melaporkan bahwa pada ekstrak daun kedelai terdapat senyawa genistein, daedzein, kuersetin dan naringenin. Sedang ekstrak dari akarnya menghasilkan genistein, daedzein dan kumestrol.

* Alumni Jurusan Kimia FMIPA IPB
** Staf Jurusan Kimia FMIPA IPB

Harborne (1974) mengatakan bahwa senyawa-senyawa yang tergolong isoflavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan, antidiare, antihemolisis, antikanker, antiinflamasi, antialergi, pengawet makanan, dan penurun tekanan darah tinggi. Senyawa isoflavon seperti genistein dan daedzein yang juga terdapat pada kedelai telah lama diketahui merupakan senyawa non-steroid yang mempunyai aktivitas estrogen. Selain itu senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai antibakteri (Wyman, 1978).

Mengingat potensi senyawa aktif tersebut, maka dirasakan perlu untuk mengembangkan teknik isolasi senyawa isoflavonoid. Pada penelitian ini akan ditelaah cara dan tahapan ekstrak yang efisien dalam rangka memperoleh senyawa isoflavonoid yang termasuk golongan fitoestrogen dari akar kedelai. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk bidang kesehatan, terutama untuk memperoleh senyawa-senyawa fitoestrogen. Selain itu hasil penelitian ini diharapkan dapat pula dijadikan sebagai salah satu alternatif penanganan limbah panen kedelai.

TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman Kedelai Dan Senyawa Fllavonoid

Akar kedelai merupakan akar tunggang yang dapat mencapai kedalaman 2 meter sesuai dengan kedalaman lapisan oleh tanah, cara pengolahan tanah, tekstur tanah, sifat kimia dan fisik tanah. Sistem perakaran umumnya berbentuk serabut dan berada pada lapisan atas tanah. Pada akar tersebut terdapat bintil akar berupa koloni dari bakteri *Rhizobium japonicum* (Lamina, 1989). akar tersebut telah diketahui mengandung beberapa senyawa isoflavonoid yang bermanfaat bagi kesehatan.

Isoflavonoid termasuk golongan senyawa flavonoid sendiri berasal dari kata flavon yang merupakan nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dan sering ditemukan di alam. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon sebagai inti dasarnya. Kelima belas atom tersebut membentuk dua cincin aromatik (C6) yang terikat pada rantai propana (C3) sehingga membentuk susunan C6-C3-C6. Dari susunan ini dapat dihasilkan tiga jenis struktur yaitu 1,3 diarilpropana atau flavonoid, 1,2-diarilpropana atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropena atau neoflavonoid. Flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida, yaitu suatu kombinasi antara gula dan alkohol. Biasanya residu gula dari glikosida flavonoid alam adalah glukosa, ramnosa, galaktosa, dan gentiobosa (markhame, 1982). Flavonoid biasanay terdapat sebagai flavonoid 0-glikosida, yaitu suatu kombinasi gula dengan satu atau lebih gugus hidroksil flavonoid yang tidak tahan asam. Isoflavonoid di alam sering terdapat dalam bentuk 0-glikosida (Markham, 1982).

Flavonoid merupakan kelompok fenol yang tersebar di alam. Hampir semua bagian tumbuhan yaitu daun, akar, kayu, tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji dapat mengandung flavonoid. Isoflavonoid termasuk golongan flavonoid yang penyebarannya lebih terbatas. Senyawa tersebut hanya ditemukan dalam beberapa jenis tumbuhan, terutama sekali pada famili leguminose (Harborne, 1967). Senyawa-senyawa yang termasuk isoflavonoid diantaranya adalah isoflavon, rotenoid, pterokarpan, dan kumestan. Senyawa isoflavonoid yang sudah diteliti mempunyai aktivitas estrogenik diantaranya daedzein, genistein, biochanin A, formononetin dan kumesterol.

Senyawa fitoestrogen, seperti genistein, daedzein dan kumestrol merupakan isoflavonoid yang ditemukan pada kedelai. Senyawa tersebut mempunyai sejumlah aktivitas estrogen pada spesies mamalia (Harborne, 1971; Wang, 1990; Murphy, 1991). Aktivitas senyawa estrogen yang telah dilaporkan mempunyai bioktivitas sebagai estrogen 10^{-1} sampai 10^{-4} dari aktivitas 17-B-estrodiol (Murphy, 1991).

BAHAN DAN METODA

Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Kimia Analitik dan Laboratorium Kimia Terpadu Jurusan Kimia IPB Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 1994 sampai Juni 1995.

Bahan Dan alat

Bahan yang digunakan adalah akar kedelai yang diperoleh dari Kebun Percobaan Agronomi Darmaga, IPB. Sedang bahan kimia yang digunakan adalah etanol, dietil eter, kloroform, HCI, standar isoflavon (genistein, biochanin A, dan formononetin). Bahan lain yang digunakan adalah silika gel, kertas saring Whatman dan pelat TLC.

Alat-alat yang dipakai adalah rotary evaporator, bejana kromatografi, pompa vaccum, perangkat spektroskopi UV-VIS, lampu UV, kolom kromatografi, perangkat KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) dan alat gelas lainnya.

Penyiapan Bahan

Akar kedelai sebanyak 1.00 kg dicuci dan dikeringudarakan, setelah itu dipotong sampai berukuran 2-3 cm, kemudian dihaluskan.

Ekstraksi Komponen

Ekstraksi 1 (Petterson dan Kiessling, 1984; Porter, 1990).

Akar kedelai sebenyak 1 kg ditamabh 2 1 HCI 1 N dan 16 1 etanol. Direfluks selama 2 jam dan dibiarkan dingin. Kemudian campuran disaring dan filtratnya diuapkan. Ekstrak kasar diekstraksi kembali dengan menggunakan dietil eter.

Ekstraksi 2 (modifikasi dari Petterson dan Kiessling, 1984; Porter, 1990).

Akar kedelai sebanyak 1 kg direndam dalam 16 1 etanol dan 2 1 HCI 1 N selama 48 jam. Kemudian campuran disaring dan filtratnya diuapkan. Ekstrak kasar diekstraksi kembali dengan menggunakan dietil eter.

Ekstraksi 3

Akar kedelai sebanyak 1 kg direfluks dalam 6 l asam asetat 2% selama 1 jam. Campuran disaring dan dihidrolisis dengan HCl 1 N selama 1 jam di atas penangas air. Campuran kemudian diekstraksi dengan menggunakan dietil eter.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kasar akar kedelai dalam dietil eter dipekatkan, dianalisis dengan kromatografi lapis tipis menggunakan silika gel G60 F254 sebagai fasa diamnya. Eluen pengembang yang digunakan adalah metanol dan kloroform dengan berbagai perbandingan. Noda pada kromatografi lapis tipis divisualisasi dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan kristal uap iodium. Pemisahan ekstrak dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel sebagai fasa diam. Sedang fasa geraknya menggunakan heksana, metanol dan kloroform. Pengelompokkan fraksi berdasarkan kesamaan Rf dan hasil analisis KLT fraksi.

Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Bahan hasil pemurnian kromatografi kolom dilarutkan dalam metanol. Masing-masing sampel diinjeksikan ke dalam kolom KCKT (C18) menggunakan pelarut metanol 65%. Kromatografi dilakukan dengan kecepatan eluen 1 ml/m, rekorder 0,5 cm/m, dan pemantauan dilakukan pada panjang gelombang 254 nm.

Identifikasi Dengan Spektroskopi UV-VIS

Fraksi dari hasil pemurnian kolom setelah dipekatkan dilarutkan dengan metanol dan ditentukan panjang gelombang absorbansi maksimumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Komponen

Hasil ekstraksi komponen dari ketiga metode dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa metode 1 dengan rendemen sebesar 0.72% merupakan rendemen yang paling tinggi dibandingkan dengan metode 2 (0.52%) dan 3 (0.21%). Meskipun metode 1 menggunakan pelarut yang sama dengan metode 2, yaitu etanol, tetapi cara ekstraksi yang berbeda menyebabkan hasil ekstraksi yang berbeda pula. Pemanasan pada metode 1 memungkinkan terjadinya hidrolisis yang lebih sempurna sehingga hasil ekstraksi yang diperoleh lebih banyak. Dari penelitian ini diperoleh bahwa etanol merupakan pelarut yang lebih baik dibandingkan dengan asam asetat.

Tabel 2. Rendemen Ekstraksi Akar Kedelai

Metode	Pelarut	Cara Ekstraksi	B. Bhn (g)	B. Eks. (g)	Rendemen (%)
1	Etanol	Pemanasan	1000	7.2213	0.72
2	Etanol	Maserasi	1000	5.2383	0.52
3	Asetat	Pemanasan	1000	2.0573	0.21

Keterangan : B. Bhn. : Bobot Bahan
B. Eks. : Bobot Ekstrak

Tabel 2 menunjukkan bahwa metode 1 dengan rendemen sebesar 0.72% merupakan rendemen yang paling tinggi dibandingkan dengan metode 2 (0.52%) dan 3 (0.21%). Meskipun metode 1 menggunakan pelarut yang sama dengan metode 2, yaitu etanol, tetapi cara ekstraksi yang berbeda menyebabkan hasil ekstraksi yang berbeda pula. Pemanasan pada metode 1 memungkinkan terjadinya hidrolisis yang lebih sempurna sehingga hasil ekstraksi yang diperoleh lebih banyak. Dari penelitian ini diperoleh bahwa etanol merupakan pelarut yang lebih baik dibandingkan dengan asam asetat.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak dari ketiga metode dalam pelarut dietil eter kemudian dipekatkan untuk dianalisis selanjutnya dengan kromatografi lapis tipis. Eluen pengembang yang digunakan adalah metanol dan kloroform dengan berbagai perbandingan.

Dari penelitian ini diperoleh hasil bahwa perbandingan eluen kloroform dan metanol terbaik adalah 9 : 1, yang menghasilkan 5 spot dengan Rf berturut-turut : 0.96, 0.69, 0.46. 0.27, dan 0.21. Noda pada kromatografi lapis tipis ini divisualisasi dengan menggunakan lampu UV 254 nm dan kristal uap iodium.

Hasil analisis metode 1 (ekstrak 1), metode 2 (ekstrak 2) dan metode 3 (ekstrak 3) dapat dilihat pada Tabel 3. Dari uji kualitatif kromatografi lapis tipis ini dapat diduga bahwa komponen yang ada pada ketiga ekstrak akar kedelai adalah senyawa isoflavon. Hal ini ditunjukkan oleh warna ungu pada spot untuk komponen ekstrak akar kedelai. Warna kuning terlihat setelah bereaksi dengan iodium. Jika dibandingkan dengan standar, maka dapat diketahui bahwa ketiga ekstrak akar kedelai tersebut diduga mengandung senyawa genistein dan formononetin, tetapi tidak mengandung biochanin A. Standar isoflavon genistein, formononetin dan biochanin A berwarna ungu dibawah sinar UV (254 nm) dan berwarna kuning jika diuapi kristal iodium.

Tabel 3. Hasil Analisis KLT untuk Ekstrak 1, Ekstrak 2, Ekstrak 3.

Ekstrak	Rf	Warna	
		UV	Iodium
1	0.82	ungu	kuning
	0.62	ungu	kuning
	0.39	coklat	kuning
	0.29	ungu muda	kuning
	0.21	ungu kebiruan	kuning
2	0.81	ungu	kuning
	0.64	ungu	kuning
	0.39	coklat	kuning
	0.27	ungu muda	kuning
	0.19	ungu kebiruan	kuning
3	0.82	ungu	kuning
	0.64	ungu	kuning
	0.39	coklat	kuning
	0.27	ungu muda	kuning
	0.19	ungu kebiruan	kuning
Genistein	0.28	ungu muda	kuning
Biochanin A	0.75	ungu	kuning
Formononetin	0.64	ungu	kuning

Standar isoflavon genistein, formononetin dan biochanin A mempunyai nilai Rf berturut-turut adalah 0.28, 0.64, dan 0.75. Pada Ekstrak 1, 2 dan 3, spot ke empat mempunyai nilai Rf dan warna yang mendekati standar genistein, dengan nilai Rf berturut-turut 0.29, 0.27, dan 0.27. Sedang spot ke dua mempunyai Rf yang mendekati standar formononetin dengan Rf berturut-turut yaitu 0.62, 0.64, dan 0.64. Untuk spot ke lima pada ekstrak 1,2 dan 3 dengan nilai Rf berturut-turut 0.21, 0.19, dan 0.19 diduga adalah senyawa daedzein. Daedzein adalah isoflavon yang tidak mengandung gugus OH terikat pada C5 sehingga spot yang dihasilkan memberikan warna ungu kebiruan. Nilai Rf daedzein labih rendah dibandingkan genistein (Siregar, 1990). Noda-noda lainnya masih belum dapat diduga berdasarkan uji kromatografi lapis tipis ini.

Hasil uji kromatografi lapis tipis ekstrak akar kedelai menunjukkan bahwa komponen yang terekstrak dari ketiga metode ekstraksi adalah sama. Cara ekstraksi dan pelarut yang berbeda ternyata tidak mempengaruhi senyawa yang diperoleh jika berdasarkan uji KLT ini. Masing-masing metode menunjukkan lima spot yang diduga merupakan senyawa isoflavon.

Pemurnian Komponen

Pemurnian komponen dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom. Ekstrak sebanyak ± 2.0 g dimasukkan ke dalam kolom yang berdiameter 1.6 cm dan panjang 85 cm. Fraksi yang mempunyai nilai Rf dan warna yang sama digabung. Hasil fraksinasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Dari Tabel 4 terlihat bahwa ekstrak 1 dan 3 mempunyai 6 fraksi yaitu fraksi A, B, C, D, E, dan F. Fraksi D diduga merupakan senyawa genistein, sedang fraksi E diudga merupakan campuran dari dua senyawa isoflavon yaitu genistein dan daedzein. Fraksi F diduga merupakan senyawa isoflavon daedzein. Sedang ekstrak 2 terlihat hanya mempunyai 5 fraksi A, B, C, D, dan E. Fraksi D diduga merupakan senyawa isoflavon genistein, sedang fraksi E diduga merupakan senyawa daedzein.

Tabel 4. Hasil Analisis KLT dari Fraksinasi Kolom Ekstrak 1, 2, dan 3.

Ekstrak	Fraksi	Nilai Rf	Warna	
			UV	Iodium
1	A	0.80	ungu	kuning
	B	0.66	ungu	kuning
	C	0.33	coklat	kuning
	D	0.26	ungu muda	kuning
	E	0.25	ungu muda	kuning
		0.21	ungu kebiruan	kuning
	F	0.22	ungu kebiruan	kuning
2	A	0.82	ungu	kuning
	B	0.62	ungu	kuning
	C	0.48	coklat	kuning
	D	0.30	ungu muda	kuning
	E	0.23	ungu kebiruan	kuning
3	A	0.83	ungu	kuning
	B	0.63	ungu	kuning
	C	0.50	coklat	kuning
	D	0.26	ungu muda	kuning
	E	0.26	ungu muda	kuning
		0.19	ungu kebiruan	kuning
	F	0.20	ungu kebiruan	kuning

Analisis KCKT dan Spektroskopi UV

Analisis kromatografi cair kenerja tinggi (KCKT) dilakukan dengan menggabungkan fraksi-fraksi yang diduga merupakan senyawa isoflavon. Kromatografi KCKT ini disajikan pada Tabel 5 dan Gambar 1 sampai 4.

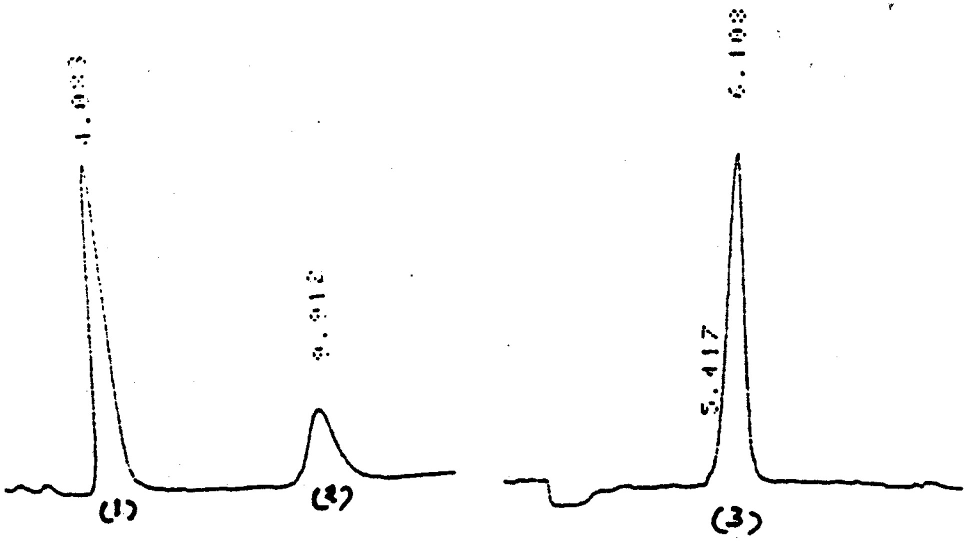
Hasil analisis KCKT untuk standar isoflavon genistein menunjukkan waktu retensi 4.083 menit, formononetin 6.108 menit dan biochanin A 9.912 menit (Gambar 1). Ektrak akar kedelai dengan ke tiga metode tersebut diduga mengandung genistein dan formononetin, karena mempunyai waktu retensi yang mendekati waktu retensi kedua standar tersebut.

Tabel 5. Hasil Analisis KCKT

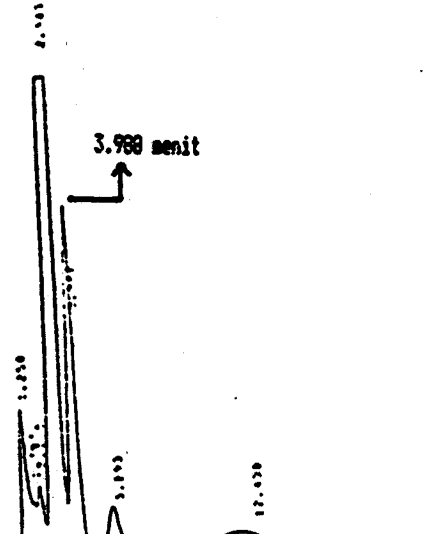
Ekstrak*	Puncak	Waktu Retensi	[Std] (mg/ml)	[IF] (%)
1	1	1.258		
	2	1.792		
	3	2.115		
	4	2.983		
	5	3.988		0.263
	6	5.893		6.302
	7	12.438		
2	1	0.880		
	2	1.200		
	3	2.107		
	4	3.067		
	5	4.108		0.033
	6	6.222		8.405
	7	8.908		
	8	17.782		
3	1	1.217		
	2	1.623		
	3	2.125		
	4	3.082		
	5	4.085		0.025
	6	6.250		3.278
	7	9.000		
	8	13.017		
	9	16.317		
	10	18.363		
G		4.083	0.1	
B		9.912	0.1	
F		6.108	2.7000	

Keterangan :
- * : Ektrak hasil fraksinasi
- G : Genistein
- B : Biochanin A
- F : Formononetin
- [Std] : Konsentrasi Standar
- [IF] : Konsentrasi Isoflavonoid dari Ektrak

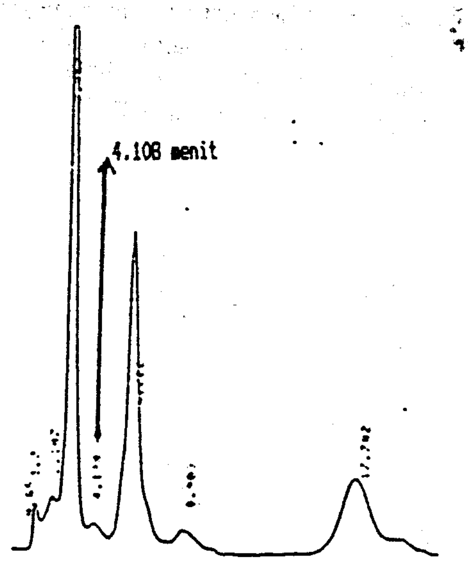
Puncak ke lima dan ke enam pada ektrak 1 mempunyai waktu retensi yang mendekati genistein dan formononetin yaitu berturut 3.988 menit dan 5.893 menit (Gambar 2). Pada ektrak 2 ditunjukkan oleh puncak ke lima dan ke enam dengan waktu retensi berturut 4.188 menit dan 6.222 menit (Gambar 3)



Gambar 1. Kromatogram KCKT untuk Genistein Biochanin A dan Formononetin

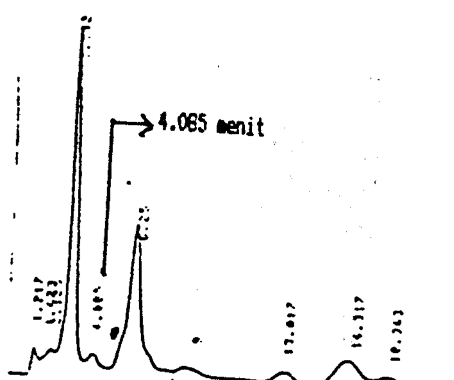


Gambar 2. Kromatogram KCKT untuk Ekstrak 1



Gambar 3. Kromatogram KCKT untuk Ekstrak 2

Sedang pada ekstrak 3 juga ditunjukkan oleh puncak ke lima dan ke enam dengan waktu retensi berturut-turut yaitu 4.085 menit dan 6.25 menit (Gambar 4).



Gambar 4. Kromatogram KCKT untuk Ekstrak 3

Pendugaan adanya senyawa genistein pada semua ekstrak didukung dengan analisis KLT dan hasil analisis spektroskopi UV. Spektrum Fraksi D dari metode 1 menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 263 nm, dan bahu pada daerah 320-330 nm (Gambar Lampiran 1). Spektrum fraksi E dari metode 2 mempunyai absorbansi maksimum pada panjang gelombang 262 nm, dan bahu pada daerah 315-335 nm (Gambar Lampiran 2). Sedang fraksi D dari metode 3 menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 264-266 nm, dan bahu pada daerah 315-335 nm (Gambar Lampiran 3). Ke tiga fraksi tersebut mempunyai spektrum yang mendekati genistein standar (Gambar Lampiran 1) dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 262 nm (data sekunder 261 nm) dan bahu pada daerah 320-330 nm (data sekunder 328 nm).

Pendugaan adanya senyawa formononetin hanya ditunjang dengan data hasil analisis KLT. Sedangkan dari data spektroskopi UV tidak menunjukkan spektrum dengan absorbansi pada daerah formononetin yang absorbansi maksimum pada daerah 248 nm, dan bahu pada daerah 240 nm, 259 nm dan 311 nm. Spektrum fraksi tersebut mempunyai absorbansi maksimum pada panjang gelombang 272 nm, dan bahu pertama dan kedua berturut-turut pada daerah 281-284 nm dan 262-256 nm. Senyawa tersebut masih diduga merupakan senyawa isoflavon karena mempunyai absorbansi maksimum pada daerah isoflavon yaitu panjang gelombang 245-275 nm. Waktu retensi yang mendekati formononetin standar diduga karena eluen KCKT dengan metanol 65 % memberikan waktu retensi senyawa lain yang mendekati waktu retensi formononetin standar.

Dari kromatogram terlihat bahwa puncak yang mempunyai konsentrasi terbesar pada masing-masing metodde diduga adalah senyawa daedzein. Pada ekstrak 1 ditunjukkan oleh puncak ke empat dengan waktu retensi 2.983 menit. Pada ekstrak 2 dan 3 ditunjukkan oleh puncak ke empat dengan waktu retensi 3.067 menit, dan 3.082 menit. Puncak tersebut diduga daedzein. Hasil ini sesuai dengan Porter (1986) yang telah melakukan isolasi senyawa isoflavon dari akar kedelai dan memperoleh hasil senyawa daedzein sebagai puncak isoflavon terbesar dan merupakan puncak yang keluar sebelum genistein. Petterson dan Kiessling (1984) dengan menggunakan eluen metanol 60% juga memperoleh hasil bahwa senyawa daedzein akan muncul sebagai puncak sebelum genistein, dengan waktu retensi untuk daezein sekitar 5 menit dan genistein 5.5 menit.

Adanya senyawa daedzein pada ke tiga ekstrak ditunjukkan juga dengan spektrum yang dihasilkan fraksi F pada ekstrak 1, fraksi E pada ekstrak 2 dan fraksi F pada ekstrak 3. Spektrum fraksi F dari metode 1 menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 249 nm dan bahu I, II, dan III pada daerah 300-310 nm, 262-264 nm, dan 242-238 nm (Gambar Lampiran 5). Spektrum fraksi E untuk metode 2 juga menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 249 nm, dan bahu I, II, dan III pada 296-306 nm, dan 260-264 nm, dan 242-238 nm (Gambar Lampiran 6). Sedang spektrum fraksi F dari metode 3 juga menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 249 nm, dan bahu I, II, dan III pada 296-308 nm, 254-260 nm, dan 244-238 nm (Gambar Lampiran 7). Spektrum sesuai dengan spektrum untuk daedzein bahwa daedzein mempunyai absorbansi maksimum pada panjang gelombang 249 nm, dan bahu pada daerah 238 nm, 260 nm, dan 303 nm (Markham, 1982). Dari analisis KCKT ini juga dapat diperoleh kadar genistein ekstrak akar kedelai, untuk setiap metode. Kadar genistein metode 1, 2, dan 3 berturut-turut adalah sebesar 0.026%, 0.003%, dan 0.001%. Dengan demikian terlihat bahwa metode 1 dapat menghasilkan kadar genistein yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode lainnya. Untuk senyawa lain dengan waktu retensi yang mendekati formononetin dari ke tiga metode menghasilkan kadar senyawa berturut-turut 6.303%, 8.405%, dan 3.278%. Hasil ini menunjukkan bahwa ternyata metode 2 menghasilkan kadar yang paling tinggi dibandingkan kedua metode lainnya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Efisiensi ekstrak dipengaruhi oleh cara ekstraksi dan pelarut yang digunakan
2. Hasil ekstraksi akar kedelai dengan metode 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 0.72%, 0.52% dan 0.21%. Metode dengan menggunakan pelarut etanol dan cara ekstraksi dengan pemanasan menunjukkan rendemen yang paling tinggi.
3. Perbandingan pelarut yang sesuai untuk pemisahan ekstrak akar kedelai dengan eluen metanol dan kloroform adalah 9 : 1.
4. Konsentrasi genistein dalam hasil KCKT dari ke tiga metode tersebut berturut-turut adalah 0.263%, 0.033%, dan 0.025%.
5. Akar kedelai mengandung senyawa-senyawa isoflavon fitoestrogen yaitu genistein dan daedzein yang teridentifikasi.

Saran

Penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak akar kedelai dengan uji hayati perlu dilakukan, demikian juga pendugaan senyawa-senyawa isoflavon yang terdapat pada akar kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S.A. 1986. Buku Materi Pokok, Kimia Organik Bahan Alam. Departemen P & K Univ. terbuka. Jakarta.

________________. E. Holiston, dan L. Makmur. 1990. Flavonoid dan Phyto'Medica. Kegunaan dan Prospek. Phyto Medica. 1(2). 120-127.

Beck, B. 1964. The Oestrogenic Isoflavones of Subterranean Clover. Aust. J. Agric. Res. 15 (2). 223-30.

Bate-smith, E.C. 1967. Comparative Biochemistry of Flavonoid-III. Phytochemistry. Pergamon Press Ltd. London. 6.1407-1413.

Braden, A.W.H. et. al. 1967. The Oestrogenic Activity and Metabolism of Certain in Sheep. Aust. J. Agric. Res. 18. 335-248.

Gildersleve, R.R. 1991. Detection of Isoflavones in Seedling Subterranean Clover. Crop Science. Univ. of California. 31 (4).

Harborne, J.B. 1967. comparative Biochemistry of The Flavonoids. Academic Prees. London.

____________________, 1971. Chematoxonomy of the Leguminosae. Academic Press. London.

____________________, 1973. Phytochemical Methods; A Guide to Modern Techniques of Plats Analysis. Chapman and Hall. London.

______________________, and F.J. Mabry. 1975. The Flavonoids. Chapman & Hall. London.

Ingham, J.L. et. al. 1981. Inducibly-Formed Isoflavonoids from Leaves of Soybean. Phytochemistry. London. 20 (4). 795-798.

Kudou, S. et. al. 1991. A New Isoflavon Glycosida in Soybean Seeds, Glycitein 7-0-B-D(6-0-acetyl)-glucopyranosida. J. Agric. Biol. Chem. 55 (3).

Lamina, 1989. Kedelai dan Pengembangannya. C.V. Simplex. Jakarta.

Markham, K.r. 1982. Technique of Flavonoid Identification. Academic Press. London.

Murphy, P.A. 1982. Phytoestrogen Content of Processed Soybean Product. food Tech. 36.

Naim et al. 1976. Antioxidative and Antihemolytic Activity of Soybean Isoflavones. J. Agric. food. Chem. 4(6). 1174-1177.

Nicollier G.F. Separation and Quantitation of Estrogenic Isoflavones from Clovers by HPLC. J. of Chrom. 249.

Petterson, H., and K.H. Kiessling, 1984. Liquid Chromatografic Determination of The Plant Oestrogen Coumestrol and Isoflavones in Animal Feed. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 67(3) 503-506.

Porter, P.M., W.L. Banwart, and J.J. Haslett. 1986. Phenolics Acids and Flavonoids in Soybean Root and Leaf Extract. J. Env. & Exp. Botany. 26(1) 65-73.

Turner, T. and J. Bagnara. 1976. Endokrinologi Umum. Edisi 6. Univ. Press. Erlangga. Jakarta.

Wang, G. et. al. 1990. A. Simplified HPLC Method for the Determination of Phytoestrogens in Soybean and its product. J. Agric. Food Chem. 38.

Wijesekera, R.O.B. 1992. The Medicinal Plant Industry. C.R.C. Press. London.

Winarno, F.G. et. al. 1985. Limbah Pertanian. Kantor Menteri Muda Urusan Peningkatan Produksi Pangan. Jakarta.

Wyman, J.G., H.D. Van Etten. 1978. Antibacterial Activity of Selected Isoflavonoids. Phytopatology. 68. 583-589.