

Ekstraksi Isoflavon Kedelai dan Penentuan Kadarnya Secara Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC)

Soybean Isoflavones Extraction and Analysis Their Concentration by Ultra Fast Liquid Chromatography

Sartini^{*}, M. Natsir Djide, A. Dian Permana, Ismail

Fakultas Farmasi

Universitas Hasanuddin. Jl. Perintis Kemerdekaan, Makassar

Received 15th May 2014 / Accepted 20th June 2014

ABSTRAK

Isoflavon merupakan komponen polifenol utama dalam kacang kedelai. Isoflavon kedelai utamanya dalam bentuk glikosida (Genistin dan Daidzin) dibanding bentuk aglikonnya (Genistein dan Daidzein). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap kandungan isoflavonnya (Genistein, Daidzein, Genistin, Daidzin). Isoflavon kedelai diekstraksi dengan beberapa cara, yaitu: 1) kacang kedelai tanpa kulit ari diblender dengan air panas, 2). Kacang kedelai tanpa kulit ari diblender dengan etanol 70 % , 3) kacang kedelai utuh diekstraksi secara maserasi dengan aseton 70 %, dan 4) kacang kedelai utuh diekstraksi secara maserasi dengan metanol.. Perbandingan kacang kedelai dan cairan penyari 1:10. Ekstrak yang diperoleh dianalisis kadar isoflavonnya menggunakan kromatografi cair kecepatan tinggi. Hasil penelitian menunjukkan total isoflavon tertinggi (dihitung sebagai total genistein, daidzein, genistin, daidzin) ada pada kacang kedelai utuh yang diekstraksi dengan metanol.

Kata Kunci : Metode Ekstraksi, Isoflavon, Kedelai (*Glycine max* L.), *Ultra Fast Liquid Chromatography*

ABSTRACT

Isoflavones are the major polyphenol compound in soybean. Soy isoflavones are mainly glycosides (Genistin and Daidzin) than their aglycones (Genistein and Daidzein). The aim of this research was to know effect of extraction methods against soy isoflavones contained ((genistein, daidzein, genistin, dan daidzin). Soy isoflavones were extracted by some methods, i.e.: dehulled soybean was blended with hot water and 70 % ethanol, hulled soybean was macerated by 70 % acetone and methanol, respectively. Isoflavones content in every extract was analyzed by Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC). The result

**Korespondensi:*

email: sardj@yahoo.com

showed that the highest total isoflavones ((genistein, daidzein, genistin, daidzin) concentration was present in methanolic extract from dehulled soybean.

Key words : Extraction Method, Isoflavones , Soybean (*Glycine max* L.), Ultra Fast Liquid Chromatography

PENDAHULUAN

Kacang kedelai merupakan salah satu sumber nabati yang berlimpah di Indonesia dan potensial untuk dikembangkan sebagai *food supplement* bagi wanita menopause. Kacang kedelai mengandung protein yang tinggi dan komponen bioaktif isoflavon. Isoflavon memiliki sifat fitoestrogen non steroid dan antioksidan yang potensial untuk melindungi penyakit-penyakit yang tergantung pada hormon, seperti: kanker payudara, kanker prostat, sindrom menopause, hiperkolesterolemia dan osteoporosis (Sarkar and Li, 2003; Lee dkk, 2005; Cheng dkk, 2007). Isoflavon di dalam kedelai terdapat empat bentuk, yaitu: glikosida, asetil-glikosida, malonil glikosida dari genestin, daidzin, glisitin, dan aglikon (daidzein, genistein dan glisitein). Bentuk glikosidanya lebih tinggi dibanding bentuk aglikonnya (Carrao-Panizzi dkk, 2002).

Kadar isoflavon dalam kedelai tergantung dari: faktor lingkungan, varietas/genetika dan jenis pupuk yang digunakan (Candr kov  dkk, 2012; Hoeck dkk, 2000; Vyn dkk, 2002), sedangkan kadar isoflavon dalam ekstrak atau sari kedelai sangat ditentukan oleh cara ekstraksi, jenis cairan pengekstraksi yang digunakan, dan metode analisis yang digunakan (Luthria dkk, 2007). Hasil penelitian sebelumnya diperoleh total kadar isoflavon dari serbuk kedelai non lemak 3.2 ± 0.01 mg/g dengan kadar daidzin 0,95 mg/g, genistin 0,78 mg/g, genestein 0,04

mg/g dan daidzein 0,02 mg/g. Untuk aplikasi isoflavon kedelai menjadi komponen aktif dalam suatu sediaan perlu dilakukan ekstraksi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh cara ekstraksi / pengolahan kacang kedelai terhadap kadar isoflavonnya (genestein, daidzein, daidzin, genistin) dalam ekstrak.

METODE

1. Bahan

Kacang kedelai yang digunakan adalah kacang kedelai organik yang diperoleh dari salah satu supermarket di Makassar. Cairan pengekstraksi yang digunakan adalah air suling, etanol, metanol, dan aseton (teknis), dan metanol pro HPLC, dll.

2. Ekstraksi kacang Kedelai

Ekstraksi kacang kedelai dilakukan dengan 4 cara, yaitu :

1. Biji kedelai 100 g direndam selama 1 jam dengan air panas yang ditambahkan NaHCO_3 1 %, dikeluarkan kulit arinya, diblender dengan 500 mL dengan air yang baru mendidih, disaring dan ampas yang diperoleh diekstraksi kembali dengan 500 mL air panas. Hasil saringan yang diperoleh diuapkan airnya dengan *spray drier*.

2. Biji kedelai 100 g direndam selama 1 jam dengan air panas yang ditambahkan NaHCO_3 1 %, dikeluarkan kulit arinya, diblender dengan 500 mL etanol 70 %, disaring dan ampas yang diperoleh diekstraksi kembali dengan 500 mL etanol

70 %. Hasil saringan yang diperoleh dirotavapour dan dilanjutkan liofilisasi untuk menghilangkan airnya.

3. Biji kedelai 100 g diekstraksi dengan metanol 500 mL secara maserasi kinetika menggunakan *rotary shaker* dengan putaran 180 rpm selama 4 jam. Ekstraksi diulang dua kali. dan dirotavapor hingga diperoleh ekstrak kering.

4. Biji kedelai 100 g diekstraksi dengan 500 mL aseton 70% secara maserasi kinetika menggunakan *rotary shaker* dengan putaran 180 rpm selama 4 jam. Ekstraksi diulang dua kali. dan dirotavapor hingga diperoleh ekstrak kering.

3. Penentuan Kadar Isoflavon

Kadar isoflavon dari ekstrak atau sari kedelai dianalisis menggunakan *Ultra Fast Liquid Chromatography* (UFLC) dengan kolom: Shim-Pack Vp-Ods; system fase terbalik, suhu kolom 40°C, volume injeksi 10 µl, dektektor Photodiode array (UV). Fase gerak Metanol-Air. Kondisi untuk Penentuan Genistin (Fase gerak: Metanol - Air (90:10), Laju alir: 1 ml/menit, Detektor : Photodiode array (UV) 260 nm); Daidzin (Fase gerak : Metanol - Air (85:15), Laju alir: 0,5 ml/menit, Detektor: Photodiode

array (UV) 199 nm), Genistein (Fase gerak: Metanol - Air (80:20); Laju alir: 0,5 ml/menit,, Detektor : Photodiode array (UV), 257 nm), Daidzein (Fase gerak : Metanol - Air (80:20), Laju alir: 0,5 ml/menit, Detektor: Photodiode array (UV), 250 nm). Waktu retensi: Daidzein 4,085, Genistein 2,185, Daidzein 3,412, dan Genistin 1,725.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ekstrak kacang kedelai menggunakan UFLC, diperoleh kadar rata-rata isoflavon (replikasi 3 kali) seperti terlihat pada tabel 1.

Dari hasil analisis kadar isoflavon dari ekstrak kedelai yang diperoleh dari kedelai tanpa pengeluaran kulit arinya memperlihatkan kadar isoflavonnya secara keseluruhan lebih tinggi dari kacang kedelai yang dihilangkan kulit arinya. Pada cara I dan 2, sebelum diekstraksi dilakukan terlebih dahulu perendaman dengan air panas dengan penambahan NaHCO₃ untuk mempercepat lepasnya kulit arinya. Proses perendaman dengan air panas dapat melarutkan sebagian isoflavonnya (Xie and Hettiarachchy, 2001).

Tabel 1. Kadar Isoflavon rata-rata dari ekstrak kedelai (%)

Ekstrak	Kadar Isoflavon rata- rata(%)				
	Daidzein	Genistein	Daidzin	Genistin	Total
Metode 1 (air panas)	0,16	0,16	2,38	0,65	3,35
Metode 2 (Etanol 70 %)	0,13	0,15	1,48	0,42	2,18
Metode 3 (Aseton 70 %)	0,51	0,57	7,10	1,41	9,59
Metode 4 (Metanol)	1,14	1,50	9,25	4,01	15,9

Selain faktor perendaman faktor cairan penyari yang digunakan juga menentukan.

Tabel 1 terlihat kadar isoflavon dari ekstrak etanol 70 %, lebih kecil dibanding, dengan

air. Hal ini disebabkan karena metode I menggunakan air panas sebagai cairan pengekstraksi dan diketahui genistin, daidzin, genestein, daidzein lebih mudah larut dalam air panas. Selain itu biji kedelai juga mengandung malonyl daidzin dan malonyl genestein yang juga terdapat dalam jumlah yang cukup banyak dalam kedelai, pada pemanasan dapat diubah menjadi daidzin dan genestein tergantung suhu dan waktu pemanasan.

Tingginya kadar isoflavon dalam ekstrak metanol dan aseton karena digunakan kacang kedelai yang tidak dihilangkan kulit arinya. Hasil ini Sesuai dengan penelitian Genovese dkk (2005) mendapatkan kadar isoflavon dari ekstrak kedelai utuh lebih besar dari ekstrak kedelai yang dihilangkan kulit arinya. Ini menunjukkan bahwa dalam kulit ari kedelai juga mengandung isoflavon. Ekstrak kedelai yang diekstraksi dengan metanol dapat diaplikasikan untuk penggunaan topikal dalam kosmetik, sedangkan untuk aplikasi per oral sebaiknya menggunakan penyari air atau aseton-air, karena metanol bersifat toksik. Hasil penelitian Sartini dkk (2009) menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao yang diekstraksi menggunakan aseton-air (7:3) bersifat tidak toksik.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar isoflavon kedelai tertinggi pada penelitian ini adalah kacang kedelai yang tanpa dihilangkan kulit arinya dan diekstraksi menggunakan cairan penyari metanol dengan kadar total isoflavonnya 15,9 % (dihitung terhadap total daidzein, daidzin, genestein, dan genistin).

Disarankan untuk aplikasi ekstrak kedelai dalam bentuk sediaan *food supplement*, sebaiknya digunakan ekstrak air atau ekstrak aseton-air.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini merupakan bagian penelitian Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi yang didanai tahun 2013. Terima kasih kami ucapkan kepada LPPM UNHAS yang telah memfasilitasi sehingga penelitian ini dapat didanai melalui dana Bantuan Operasional Perguruan Tinggi tahun 2013 dengan nomor kontrak 746/UN4.20/PL.09/2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Candráková, Macák EM, Hanáčková E. 2012. *The Effects of Fertilization and Variety on The Isoflavones Of Soybeans*. Research Journal of Agricultural Science. 44 (1):14-19.
- Carrao-Panizzi MC, de Goes Fanoni SP, Kikuchi A. 2002. *Extraction Time for Soybean Isoflavone Determination*. Brazilian archives of Biology and Technology. 45 (4): 515-518.
- Cheng G, Wilczek B, Warner M, Gustafsson JA, Landgren BM. 2007. *Isoflavone treatment for acute menopausal symptoms*. Menopause. 468-473.
- Genovese MI, Davila J, Lajolo FM. 2006. *Isoflavones in processed soybean products from Ecuador*. Braz. arch. biol. Technol. 49(5):853-859.
- Hoeck JA, Fehr WR; Murphy PA, Welke GA. 2000. *Influence of genotype and environment on isoflavone contents of soybean*. Crop Sci. 40:48-51.
- Lee CH, Yang L, Xu JZ, Yeung SYV, Huang Y, Chen ZY. 2005. *Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their*

- glycosides. Food Chemistry. 90(4):735–741.
- Lin F, Giusti MM. 2005. *Effects of solvent polarity and acidity on the extraction efficiency of isoflavones from soybeans (Glycine max)*.
- Luthria DL, Natarajan SS. 2009. *Influence of sample preparation on the assay of isoflavones*. Planta Med. 75(7):704-710.
- Sarkar FH, Li Y. 2003. *Soy isoflavones and cancer prevention*. Cancer Invest. 21(5):744-57.
- Sartini, Djide MN, dan Alam, G. 2009. *Eksraksi Komponen Bioaktif dari Limbah Kulit Buah Kakao dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba*. Majalah Obat Tradisional. 19.
- Vyn TJ, Yin X, Bruulsema TW, Jackson CC, Rajcan I, Brouder SM. 2002. *Potassium Fertilization effects on isoflavones concentrations in soybean [Glycine max (L.)Merr.]*. J. Agric. Food Chem. 50: 3501-3506.
- Xie L, Hettiarachchy NS. 2001. *Isoflavone content in hull, germ, and cotyledone in soy bean*.
- Xu Z, Wu Q, Godber JS. 2002. *Stabilities of daidzin, glycitin, genistin, and generation of derivatives during heating*. J Agric Food Chem. 50(25):7402-6.