

## PERBANDINGAN KANDUNGAN MAKRONUTRISI DAN ISOFLAVON DARI KEDELAI *Detam 1* DAN Wilis SERTA POTENSINYA DALAM MENURUNKAN BERAT BADAN

Meilinah Hidayat<sup>1</sup>, Dikdik Kurnia<sup>2</sup>, Muchtan Sujatno<sup>3</sup>, Nugraha Sutadipura<sup>4</sup>, Setiawan<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Bagian Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

Jalan Prof Drg Suria Sumantri 65, Bandung 40163

E-mail: *mellahidayat@yahoo.com*.

<sup>2</sup>Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran

<sup>4</sup>Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran

<sup>5</sup>Bagian Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran

### ABSTRAK

Biji kedelai merupakan sumber protein berkualitas tinggi, oligosakarida, serat makanan, mineral dan fitokimia terutama isoflavon. Isoflavon dan protein yang merupakan komponen utama dalam kedelai terbukti mempunyai beberapa efek yang menguntungkan. Isoflavon mempunyai efek menurunkan berat badan melalui peningkatan kadar hormon pencernaan Kolesistokinin (KSK). Kedelai varietas *Detam 1* adalah kedelai unggulan berkualitas tinggi berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian November 2008, dan sebagai pembanding adalah kedelai lokal varietas Wilis yang banyak ditanam oleh petani di Indramayu. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji dan membandingkan kandungan makronutrisi (air, protein, lemak dan karbohidrat) kedelai dan tempe, mengetahui jenis ekstrak yang mengandung kadar isoflavon yang tertinggi. Pengujian kadar air dengan metoda Thermogravimetri, protein dengan metoda Kjeldahl, lemak dengan metoda Soxhlet, dan karbohidrat dengan metoda Antron. Kadar Isoflavon yang terdapat dalam ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, fraksi air dan ekstrak protein dari kedelai dan tempe dari *Detam 1* dan Wilis diperiksa menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Hasil penelitian menunjukkan kadar protein yang paling tinggi terdapat dalam biji kedelai *Detam 1* (41,82%). Proses fermentasi meningkatkan kadar air dari biji kedelai namun menurunkan kadar protein, lemak dan karbohidrat. Kadar isoflavon paling tinggi terdapat dalam fraksi etil asetat, kadar Daidzein tertinggi dalam fraksi etil asetat biji kedelai *Detam 1* (Daidzein 0,669%). Ekstrak metanol tempe kedelai Wilis juga memiliki kadar isoflavon yang tinggi (Daidzein 0,580%, Genistein 0,576%). Ekstrak metanol tempe kedelai Wilis diharapkan mempunyai manfaat sebagai terapi untuk penurunan berat badan di masa mendatang.

Kata Kunci: Kedelai *Detam 1*, kedelai Wilis, makronutrisi, isoflavon, HPLC

### COMPARATION OF MACRONUTRITION AND ISOFLAVONE CONTENT BETWEEN *Detam 1* AND Wilis SOYBEANS AND ITS POTENCIAL TO REDUCE BODY WEIGHT

### ABSTRACT

Soybean seed was sources of high quality protein, oligosacharides, fiber, minerals and phytochemicals especially isoflavones. Isoflavones and protein which were the main components in soybean have been proved to have beneficial effects. Isoflavone had reducing body weight effects through increasing gut hormone Cholecystokinin mechanism. This study used *Detam 1* variety which was a high quality of soybean and Wilis as local variety. The aim of this study was to compare the macronutrition contents between tempeh and seed of *Detam 1* and Wilis soybean and to find out which extracts had the highest content of isoflavone, and to examined water content with Thermogravimetri, protein content with Kjeldahl, lipid with Soxhlet, carbohydrate with Antron method and methanol extracts, n-hexane, ethyl acetate, buthanol, water fraction and protein extract of seed and tempeh of *Detam 1* and Wilis soybean were examined using HPLC. The results of this study showed that the highest protein level was in soybean seed *Detam 1* variety. Fermentation process increased water content of soybean seed. The Daidzein highest level was in ethyl acetate fraction of *Detam 1* variety. Methanol extract of Wilis soybean tempeh had also high isoflavone content. This extract was expected to be a reducing body weight therapy in the future.

Keywords: *Detam 1* soybean, Wilis soybean, macronutrition, isoflavones, HPLC

## PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* L.merr) merupakan sumber makanan yang lengkap dengan kandungan nutrisi yang tinggi dan baik. Biji kedelai merupakan sumber protein berkualitas tinggi, oligosakarida, serat makanan, mineral dan fitokimia terutama isoflavon. Kadar isoflavon dalam biji kedelai adalah yang tertinggi diantara golongan hypocotyledon (> 20 mg/g) (Craig, 1997; Anderson *et al.*, 1999; Messina, 1999; Liu, 1999).

Kedelai varietas *Detam 1* adalah kedelai unggulan berkualitas tinggi yang sudah diakui Badan Benih Nasional berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian November 2008. Isi biji kedelai ini berwarna kuning namun kulit luarnya berwarna hitam, cukup keras dan tebal. Keunggulan kedelai ini adalah mempunyai kadar protein yang lebih tinggi dan mempunyai kadar lemak yang lebih rendah dibanding varietas lainnya (TEMPO 2008; SK Menteri Pertanian 2008), sedangkan kedelai varietas Wilis adalah kedelai lokal (dalam negeri) yang banyak ditanam oleh petani di Indramayu. Belum ada data mengenai perbedaan kadar kandungan makronutrisi antara kedua kedelai tersebut.

Penelitian di bidang nutrisi terhadap hewan coba dan manusia menunjukkan bahwa kedelai memberi banyak manfaat untuk kesehatan. Penelitian efek ekstrak produk fermentasi kedelai seperti tempe belum banyak dilakukan. Fermentasi adalah salah satu proses pengawetan makanan dengan menggunakan mikroorganisme (Buckle *et al.*, 2007). Pada pembuatan tempe, kapang *Rhizopus* sp memegang peran utama terutama spesies *Rhizopus oligosporus* (Ariasasmita dkk, 1999; Prawiroharsono, 1999). Enzim yang dihasilkan kapang selama fermentasi merubah tiga komponen utama makanan yaitu karbohidrat, protein dan lemak (Prawiroharsono, 1999). Proses fermentasi dapat menurunkan kandungan protein yang terkandung dalam kedelai namun jumlah protein yang dapat diabsorpsi oleh tubuh meningkat karena zat-zat antinutrisi yang terdapat dalam kedelai mentah hilang akibat pemanasan selama proses fermentasi. Pemanasan dan fermentasi merubah kandungan total isoflavon dan komposisi dalam produk kedelai. Glukosida isoflavon akan dioksidasi oleh enzim  $\beta$ -glukosidase yang diproduksi oleh mikroorganisme, sehingga kadar aglikon (bentuk aktif isoflavon) meningkat selama proses fermentasi (Hermana, 1999; Coward *et al.*, 1999; Omoni, 2005).

Isoflavon dan protein yang merupakan komponen utama dalam kedelai terbukti mempunyai beberapa efek yang menguntungkan seperti menurunkan profil lipid darah terutama

kolesterol dan trigliserida, antikanker, mencegah osteoporosis serta menurunkan berat badan (Anderson, 1999; Aoyama *et al.*, 2000). Baik isoflavon maupun protein kedelai, keduanya mempunyai efek menurunkan berat badan walaupun dalam jalur mekanisme yang berbeda. Penelitian Zhang *et al.*, (2009) menyebutkan bahwa isoflavon mengakibatkan penurunan berat badan melalui peningkatan kadar hormon pencernaan Kolesistokinin (KSK). Dalam bentuk struktur kompleks antara isoflavon dan protein dalam biji kedelai belum jelas diketahui, komponen mana yang lebih bermanfaat dalam menurunkan berat badan (Jang *et al.*, 2008). Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan pada tikus Wistar jantan normal didapatkan hasil bahwa yang paling baik dalam menurunkan asupan makan adalah ekstrak protein biji *Detam 1*, paling baik dalam menurunkan berat badan adalah ekstrak protein tempe kedelai Wilis dan yang paling baik dalam meningkatkan kadar KSK plasma adalah ekstrak metanol tempe kedelai Wilis (Hidayat dkk, 2009).

Kandungan isoflavon dalam masing-masing ekstrak dan fraksinasi belum diketahui. Proses ekstraksi metanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dari kedelai, seperti flavon dan flavonoid. Untuk memisahkan kandungan golongan utama berdasarkan kepolarannya dilakukan fraksinasi dengan n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan air. Dalam ekstrak protein kandungan yang terutama adalah protein, namun belum dipastikan apakah ekstrak protein juga mengandung isoflavon.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji dan membandingkan kadar air, protein, lemak, dan karbohidrat antara kedelai *Detam 1*, kedelai lokal Wilis dengan tempe kedelai *Detam 1*, dan tempe kedelai Wilis sehingga dapat diketahui perubahan yang terjadi setelah kedelai mengalami proses fermentasi. Pengujian kadar isoflavon yang terdapat dalam ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, fraksi air dan ekstrak protein dari kedelai *Detam 1*, tempe kedelai *Detam 1*, kedelai lokal Wilis, dan tempe kedelai Wilis menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk mengetahui jenis ekstrak yang mengandung kadar isoflavon yang tertinggi.

## BAHAN DAN METODE

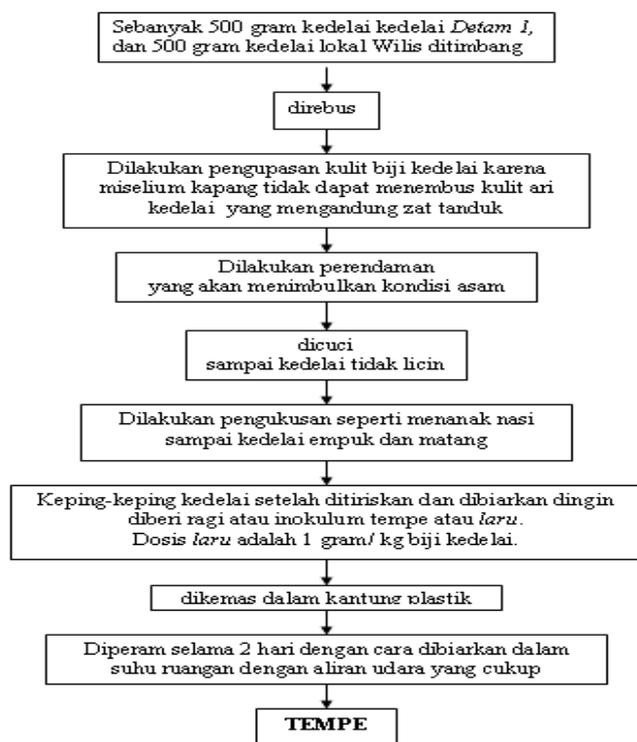
Dua jenis kedelai yang dipilih dalam penelitian ini adalah kedelai unggulan varietas *Detam 1* yang ditanam di perkebunan Balitkabi Malang dengan umur panen 84 hari dan kedelai lokal varietas Wilis yang ditanam di Indramayu dengan umur panen 90 hari. Kedua jenis kedelai ini kemudian

dibuat tempe. Kedelai *Detam 1*, tempe kedelai *Detam 1*, kedelai lokal Wilis, dan tempe kedelai Wilis diuji kadar air, protein, lemak, dan karbohidratnya.

Kedua jenis kedelai dan kedua jenis tempe selanjutnya dibuat 6 jenis ekstrak yaitu ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, fraksi air dan ekstrak protein (modifikasi metode Panthee) (Delwiche, 2007). Kadar isoflavon yang terdapat dalam semua ekstrak dan fraksi (6 jenis ekstrak dari 4 jenis bahan yaitu kedelai *Detam 1*, tempe kedelai *Detam 1*, kedelai lokal Wilis, dan tempe kedelai Wilis) sejumlah 24 ekstrak akan diperiksa dengan metoda Kromatografi Cair Kinerja Tinggi atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

### Metode pembuatan Tempe

Pembuatan tempe dari kedelai dilakukan melalui 8 tahap proses yaitu perebusan, pengupasan kulit, perendaman, pencucian, pengukusan, pemberian ragi, pengemasan dan pemeraman. Tahap pembuatan tempe dapat dilihat dalam skema di bawah ini:



(Sumber: Santoso, 2003; Hermana, 1999).

Pemeriksaan kadar makronutrisi (air, protein, lemak dan karbohidrat) dari biji kedelai dan tempe kedelai *Detam 1* dan Wilisi dilakukan di Laboratorium Kimia FMIPA Singaperbangsa Universitas Padjadjaran Bandung. Penentuan kadar air dengan metoda Thermogravimetri (Kimia FKUP 2002; Muchtadi, 1989). Alat dan bahan yang

dipergunakan adalah oven suhu 100–200°C, cawan porselen, desikator berisi fosforpentoksida kering, kalsium klorida atau silika gel granular. Prosedur dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam cawan yang sudah dikeringkan dan ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 102°C selama 1 jam. Cawan didinginkan dalam desikator sampai diperoleh berat yang konstan.

Penentuan kadar protein total dilakukan dengan metoda Kjeldahl untuk (Kimia FKUP 2002; Muchtadi, 1989). Alat dan bahan yang dipergunakan adalah Labu kjeldahl ukuran 150 mL, alat pemanas kjeldahl dalam lemari asam, alat destilasi lengkap dengan erlenmeyer 100 mL sebagai penampung, Buret 50 mL, labu ukur 100 mL, Asam sulfat pekat, Asam klorida 0,1 N, Kalium sulfat, Tembaga sulfat, Asam oksalat, Natrium hidroksida, dan Indikator Tashiro. Prosedur penentuan dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 500 mg dimasukkan dalam labu kjeldahl, kemudian ditambahkan 10 mL asam sulfat pekat dan 5 gram katalis (campuran  $K_2SO_4$ :  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  perbandingan 8 : 1). Selanjutnya dilakukan destruksi dalam lemari asam sampai didapat cairan berwarna hijau jernih. Larutan diencerkan dengan air suling sampai 100 mL. Pipet sebanyak 10 mL larutan tersebut dan masukkan ke dalam alat destilasi Kjeldahl lalu tambahkan 10 mL NaOH 30%. Didestilasi selama 20 menit dan destilatnya ditampung dalam erlenmeyer yang berisi 25 mL larutan HCl 0,1 N. Kelebihan HCl dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N menggunakan indikator Tashiro.

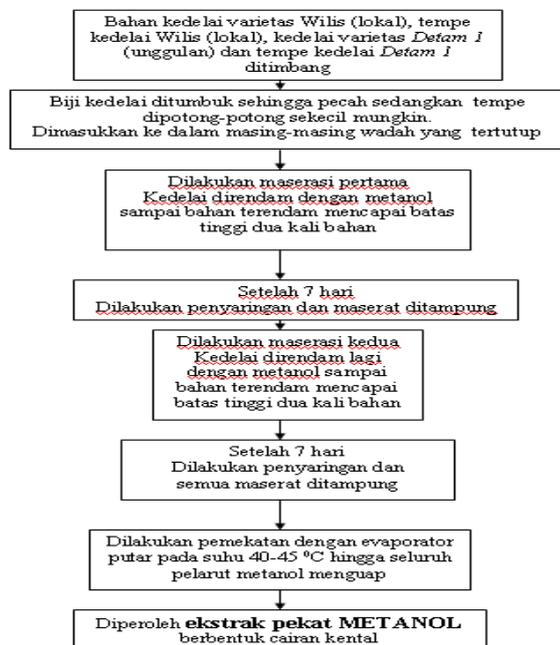
Penentuan kadar lemak total dilakukan dengan metoda Soxhlet (Kimia FKUP 2002, Muchtadi, 1989). Alat dan bahan yang dipergunakan adalah satu set ekstraksi tipe Soxhlet, penangas air, timbangan analitik, eksikator dan petroleum eter. Prosedur dilakukan dengan menimbang sampel berbentuk tepung sebanyak 1 gram dimasukkan dalam saringan timbel dan ditutup dengan kapas bebas lemak diletakkan dalam alat Soxhlet. Pasang kondensor di atasnya dan labu di bawahnya. Sejumlah petroleum eter ditambahkan ke dalam labu. Ekstraksi dijalankan selama 5 jam. Labu yang berisi residu lemak dikeringkan dalam oven 105°C sampai beratnya tetap, dan didinginkan dalam eksikator.

Penentuan kadar karbohidrat (gula) total dilakukan dengan metoda Antron (Kimia FKUP 2002; Muchtadi, 1989). Alat yang dipergunakan adalah pipet 1 mL dan 5 mL, tabung reaksi, labu ukur, kelereng, penangas air 100°C, spektrofotometer dan larutan Antron (9,10-dihidro-9-antrasen) yang merupakan hasil reduksi antraquinon. Prosedur dilakukan dengan membuat

kurva standar sebagai berikut: Sampel sebanyak 0,1 gram ditambahkan  $H_2SO_4$  pekat 1 mL (hingga sampel terendam) lalu dimasukkan ke dalam oven selama 24 jam. Setelahnya dinetralkan dengan NaOH. Akuades ditambahkan sampai 100 mL. Pipet ke dalam tabung reaksi masing-masing 0,0 (blanko) 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, dan 1,0 mL larutan glukosa standar. Ditambahkan akuades sampai total volume masing-masing tabung reaksi 1,0 mL lalu ditambahkan 5 mL pereaksi Antron. Selanjutnya ditempatkan dalam penangas air mendidih selama 12 menit. Setelah didinginkan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 630 nm. Dibuat kurva hubungan antara kurva absorbansi dengan konsentrasi glukosa. Penetapan Konsentrasi gula total dalam sampel dapat ditentukan dengan memasukkan 1 mL sampel kedalam tabung reaksi ditambahkan 5 mL pereaksi Antron lalu ditempatkan dalam penangas air mendidih selama 12 menit. Setelah didinginkan absorbansinya diukur pada panjang gelombang 630 nm.

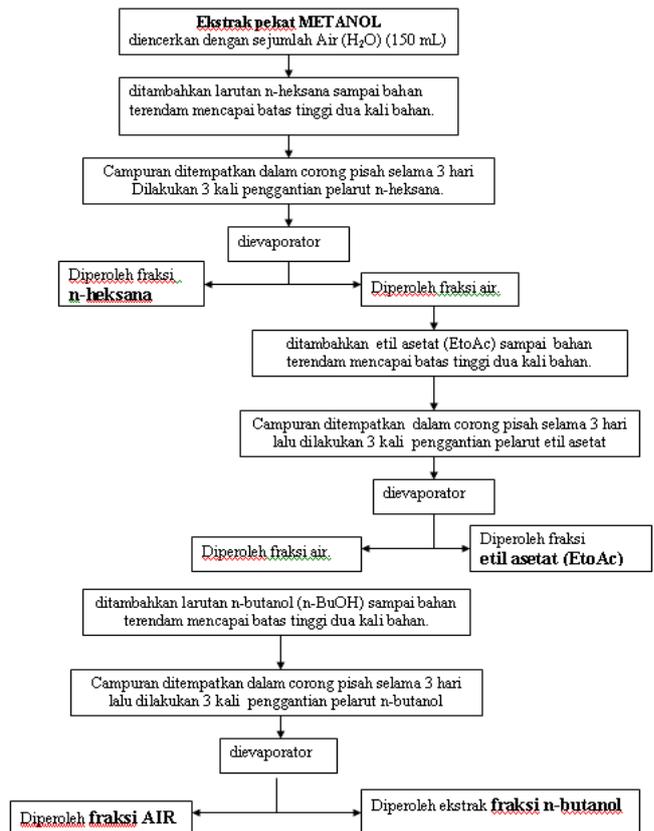
### Metoda ekstraksi Metanol kedelai dan tempe (Harborne, 1987).

Pembuatan ekstrak kedelai dan tempe menggunakan metode maserasi sederhana. Tahap ekstraksi metanol dapat dilihat pada skema di bawah ini:



### Fraksinasi n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan fraksi air dari kedelai dan Tempe (Harborne, 1987).

Tahap fraksinasi n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan fraksi air dari kedelai dan tempe dapat dilihat pada skema berikut ini:



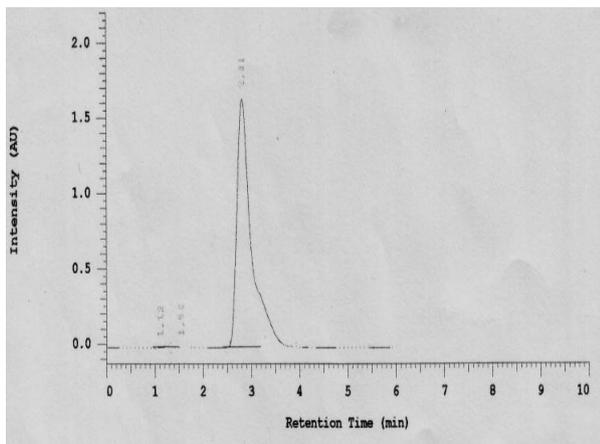
### Ekstraksi protein kedelai *Detam 1* (modifikasi metode Panthee) (Delwiche, 2007).

Kedelai varietas Wilis (lokal), tempenya, kedelai varietas *Detam 1*, serta tempenya ditimbang masing-masing sebanyak 10 gram, blender dalam 1095 cc air dingin ( $20^{\circ}C$ ) selama 20 detik, sehingga diperoleh tepung kedelai dalam partikel yang kecil yang seragam. Selanjutnya 1 gram tepung kedelai *full-fat* dicampur dalam perbandingan 1 : 15 (w/v) dengan 0,2M Tris HCl buffer, pH 8,0 yang mengandung 0,1 M  $\beta$ -mercaptoethanol kemudian protein terlarutnya diekstraksi selama 1 jam pada temperatur ruangan sambil diaduk. Campuran disentrifus ( $10.000 \times g$ ) selama 10 menit pada suhu  $4^{\circ}C$ . Setelah lapisan lemak dihilangkan, diambil aliquot sebanyak 1 ml ekstrak protein kasar atau supernatan dari setiap sampel. Simpan protein dan polipeptidanya yang terpisah dengan menambahkan 5% SDS dan larutan 0,1 M  $\beta$ -mercaptoethanol pada setiap sampel dan dihangatkan dalam *waterbath* selama 10 menit.

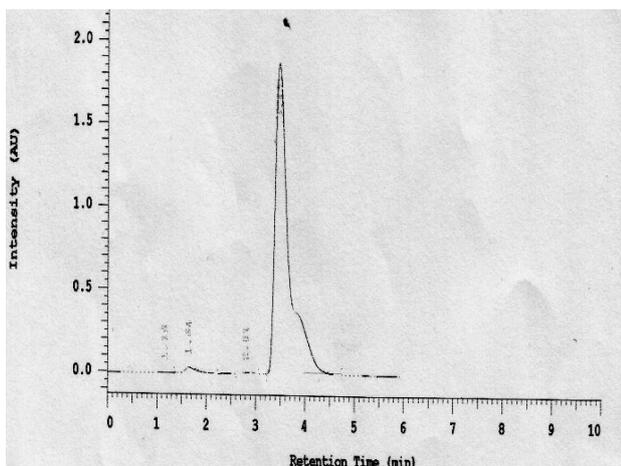
### Proses analisis kadar isoflavon dalam ekstrak kedelai menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)

Isoflavon merupakan komponen antioksidan yang paling banyak ditemukan dalam kedelai. Isoflavon dalam bentuk aglikon kedelai adalah daidzein (*4,7-dihydroxy isoflavon*) dan genistein

(4,5,7- trihydroxy isoflavon) (Zubic and Meydani, 2003). Persiapan zat standar zat murni isoflavon (Daidzein dan Genistein diperoleh dari Kepala Bidang Bahan Alam Pangan dan Farmasi Kimia LIPI Bandung. Daidzein ditimbang sejumlah 0,130 gram dan Genistein 0,80 gram kemudian dilarutkan dalam metanol dan air perbandingan 1:1 sesuai kondisi analisis fase gerak. Lalu disaring menggunakan membran PTFE dan didegasing selama 5 menit. Selanjutnya diinjeksikan sebanyak 20  $\mu$ l ke dalam kolom HPLC dan diperoleh hasil kromatogram yang dideteksi menggunakan UV dengan panjang gelombang 240 nm. Data selengkapnya disajikan dalam Gambar 1 dan 2.



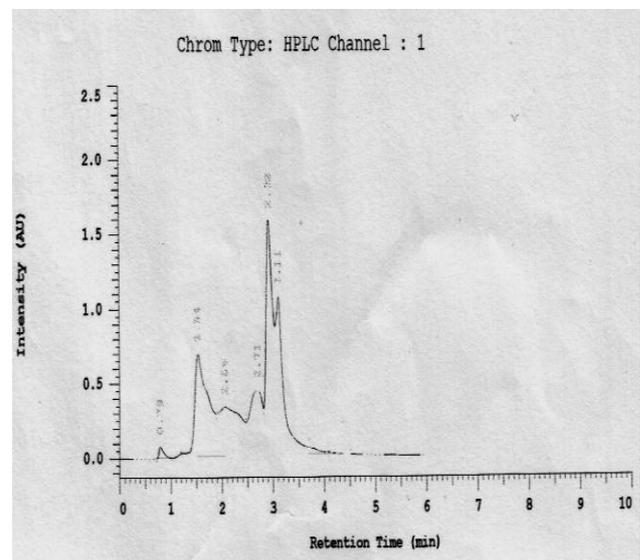
Gambar 1. Hasil kromatogram zat standar Daidzein Kromatogram Daidzein diperiksa dalam Kondisi Optimum HPLC: Rt 2,81, Area 17419443, Konsentrasi 130 ppm, Penimbangan 1.3/10 mL



Gambar 2. Hasil kromatogram Zat Standar Daidzein Kromatogram Genistein dalam Kondisi Optimum HPLC: Rt 3,48, Area 18150808, Konsentrasi 80 ppm, Penimbangan 0,8/10 mL

### Prosedur preparasi sampel

Berat sampel ditimbang, sebagai contoh misalnya sampel no 7, ekstrak metanol tempe kedelai Wilis, sejumlah 0,0251 gram dilarutkan dalam pelarut kloroform 5 mL. Disaring dengan membran PTFE lalu didegasing selama 5 menit. Diinjeksikan sebanyak 20  $\mu$ l ke dalam kolom HPLC dan didapatkan hasil kromatogram yang dideteksi menggunakan UV dengan panjang gelombang 240 nm. Pemeriksaan dilakukan 3 kali (triplo) lalu diambil hasil yang terbaik dan didapat hasil Rt Daidzein 2,71 dan areanya 3905282; Rt Genistein 3,11 dan areanya 6568162. Selanjutnya dapat dihitung kadar semikuantitatif Daidzein dalam sampel = 0,580%, dan Genistein dalam sampel = 0,576% seperti terlihat dalam Gambar 3.



Gambar 3. Hasil kromatogram sampel ekstrak metanol tempe kedelai Wilis (no 7).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar air dari kedua jenis kedelai, *Detam 1* (8,33%) dan Wilis (11,57%) banyak bertambah pada tempe kedelai *Detam 1* (60,24%) dan tempe kedelai Wilis (60,84%) (Tabel 1). Hal ini disebabkan selama proses fermentasi kedelai mengalami beberapa tahap proses yang menggunakan air, yaitu perebusan, perendaman, pencucian, dan pengukusan.

Tabel 1. Hasil analisis makronutrien biji kedelai dan tempe kedelai *Detam 1* dan Wilis

No	Parameter Analisis	Kedelai Wilis	Kedelai <i>Detam 1</i>	Tempe Wilis	Tempe <i>Detam 1</i>	Metoda
1	Kadar Air (%)	11,57	8,33	60,84	60,24	Thermogravimetri
2	Protein Total (%)	39,00	41,82	23,70	25,35	Kjehldahl
3	Lemak Total (%)	36,90	35,61	7,55	5,46	Soxhletasi
4	Karbohidrat (%)	36,90	35,61	6,99	4,90	Antron

Kadar protein dari kedua jenis kedelai, *Detam 1* (41,82%) dan Wilis (39%) berkurang pada tempe kedelai *Detam 1* (25,35%) dan tempe kedelai Wilis (23,70%). Hal ini sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa kadar protein produk fermentasi kedelai akan berkurang, namun jumlah protein (asam amino) yang dapat diabsorpsi oleh tubuh meningkat karena zat-zat antinutrisi yang terdapat dalam kedelai mentah hilang akibat pemanasan selama proses fermentasi (Santoso, 2003; Hermana, 1999). Kadar protein tempe *Detam 1* 25,35% dan tempe kedelai Wilis 23,70% jauh lebih tinggi dibanding kadar protein tempe yang banyak beredar di masyarakat yang hanya mencapai 18,3% (Gizi DepKes RI, 1981). Hal ini disebabkan tempe yang dijual di pasaran seringkali menggunakan biji kedelai yang tidak murni melainkan dicampur dengan parutan singkong. Kemungkinan lain adalah jenis kedelai yang digunakan mengandung kadar protein yang lebih rendah atau proses pembuatan tempe yang tidak higienis sehingga terjadi kontaminasi.

Kadar lemak total dan karbohidrat kedua jenis kedelai, *Detam 1* (14,07% dan 35,61%) dan Wilis (12,13% dan 36,90%) banyak berkurang setelah menjadi tempe kedelai *Detam 1* dan tempe kedelai Wilis. Hal ini sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa enzim yang dihasilkan oleh kapang *Rhizopus oligosporus* selama fermentasi merubah tiga komponen utama makanan yaitu karbohidrat, protein dan lemak (Prawiroharsono, 1999). Kadar lemak dan karbohidrat yang rendah menjadikan tempe makanan yang cocok untuk penderita obesitas dan hiperglikemi.

Hasil pemeriksaan HPLC menunjukkan bahwa kandungan isoflavon secara umum paling banyak terkandung dalam fraksi etil asetat (Tabel 2) yaitu fraksi etil asetat kedelai *Detam 1* (Daidzein 0,669%), fraksi etil asetat kedelai lokal Wilis (Daidzein 0,563%, Genistein 0,386%), Fraksi etil asetat tempe kedelai Wilis (Daidzein 0,471%), fraksi etil asetat tempe *Detam 1* (Daidzein 0,093%, Genistein 0,015%). Pelarut etil asetat memang

biasa digunakan untuk memfraksinasi senyawa yang cukup polar dan cara yang disarankan untuk mendapatkan senyawa flavonol dan flavon adalah dengan cara hidrolisis menggunakan asam dengan HCl 2M lalu diekstraksi dengan etil asetat (Harborne, 1987).

Selain fraksi etil asetat, ekstrak metanol diperkirakan juga mengandung isoflavon yang cukup tinggi (Harborne, 1987). Dalam penelitian ini beberapa ekstrak metanol tidak mengandung isoflavon sama sekali. Hal ini kemungkinan akibat keterbatasan ketersediaan alat HPLC sehingga terdapat selang waktu cukup lama antara pembuatan ekstrak dan pemeriksaan HPLC, kemungkinan kadar isoflavon yang terkandung pada beberapa ekstrak sudah banyak berkurang. Dari Tabel 2 terlihat hasil pemeriksaan fraksi n-heksana kedelai lokal Wilis, fraksi n-butanol tempe Wilis juga mengandung isoflavon walaupun dalam kadar yang lebih rendah.

Pemeriksaan HPLC ekstrak metanol kedelai Wilis dan kedelai *Detam 1* tidak atau sedikit sekali mengandung isoflavon, tapi ekstrak metanol produk fermentasinya yaitu tempe kedelai Wilis dan kedelai *Detam 1* ternyata mengandung isoflavon. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol tempe kedelai Wilis adalah ekstrak yang paling baik dalam meningkatkan kadar KSK plasma pada tikus Wistar (Hidayat dkk, 2009). Ekstrak metanol tempe kedelai Wilis ternyata mengandung isoflavon yang tinggi yaitu Daidzein sebesar 0,580% dan Genistein sebesar 0,576%. Hal ini sesuai teori yang menyatakan bahwa pemanasan dan fermentasi merubah kandungan total isoflavon sehingga kadar isoflavon meningkat selama proses fermentasi (Hermana, 1999; Santoso, 2003; Buckle, 2007). Efek isoflavon yang tinggi inilah yang menyebabkan ekstrak tersebut mempunyai efek yang paling baik dalam meningkatkan kadar KSK plasma, hal ini sesuai dengan hasil studi yang dilakukan oleh Zhang (2009).

Tabel 2. Hasil HPLC ekstrak kedelai dan tempe *Detam 1* dan Wilis

No	Jenis Ekstrak	Berat	Pelarut	D	G	Rt D	RtG	Kdr D	Kdr G
Kedelai Wilis									
1	Ekstrak metanol kedelai lokal Wilis	0,0978	Metanol	(-)	(-)				
2	Fraksi n-hexane kedelai lokal Wilis Area D: 5154088 G: 2446937	0,0554	Metanol	(+)	(+)	2,73	3,16	0,347%	0,097%
3	Fraksi etil asetat kedelai lokal Wilis Area D: 3774748 G : 4388970	0,0250	Air	(+)	(+)	2,76	3,16	0,563%	0,386%
4	Fraksi n-butanol kedelai lokal Wilis	1,0638	Metanol	(-)	(-)				
5	Fraksi air kedelai lokal Wilis	0,1542	Metanol	(-)	(-)				
6	Ekstrak protein kedelai lokal Wilis	0,1764	Metanol	(-)	(-)				
Tempe Wilis									
7	Ekstrak metanol tempe kedelai Wilis Area D: 3905282 G: 6568162	0,0251	Kloroform	(+)	(+)	2,71	3,11	0,580%	0,576%
8	Fraksi n-hexane tempe kedelai Wilis	0,0306	Kloroform	(-)	(-)				
9	Fraksi etil asetat tempe kedelai Wilis Area D: 8058215	0,0638	Kloroform	(+)	(-)	2,71		0,471%	
10	Fraksi n-butanol tempe Wilis Area D: 3131918 G: 4583198	0,1045	Kloroform	(+)	(+)	2,83	3,17	0,111%	0,096%
11	Fraksi air tempe kedelai Wilis	0,1181	Metanol	(-)	(-)				
12	Ekstrak protein tempe kedelai Wilis	0,1547	Metanol	(-)	(-)				
Kedelai <i>Detam 1</i>									
13	Ekstrak metanol kedelai <i>Detam 1</i>	0,1087	Metanol	(-)	(-)				
14	Fraksi n-hexane kedelai <i>Detam 1</i> Area G: 30668	0,2361	Metanol		(+)		3,14		0,001%
15	Fraksi etil asetat kedelai <i>Detam 1</i> Area D: 3821766	0,0213	Kloroform	(+)	(-)	2,72		0,669%	
16	Fraksi n-butanol kedelai <i>Detam 1</i>	0,1202	Metanol	(-)	(-)				
17	Fraksi air kedelai <i>Detam 1</i>	0,1184	Air	(-)	(-)				
18	Ekstrak protein kedelai <i>Detam 1</i>	0,1420	Metanol	(-)	(-)				
Tempe <i>Detam 1</i>									
19	Ekstrak metanol tempe <i>Detam 1</i> Area D: 160787	0,0622	Air	(+)	(-)	2,78		0,090%	
20	Fraksi n-hexane tempe <i>Detam 1</i>	0,0563	Metanol	(-)	(-)				
21	Fraksi etil asetat tempe <i>Detam 1</i> Area D: 1551614 G: 4388970	0,0763	Metanol	(+)	(+)	2,79	3,16	0,093%	0,015%
22	Fraksi n-butanol tempe <i>Detam 1</i>	0,0558	Metanol	(-)	(-)				
23	Fraksi air tempe kedelai <i>Detam 1</i>	0,1350	Metanol	(-)	(-)				
24	Ekstrak protein tempe <i>Detam 1</i>	0,1152	Metanol	(-)	(-)				

Banyaknya pelarut: 5 mL D= Daidzein G= Genistein

Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak yang paling baik dalam menurunkan asupan makan pada tikus Wistar adalah ekstrak protein *Detam 1* (Hidayat, 2009). Hasil pemeriksaan HPLC ekstrak protein kedelai *Detam 1* ternyata tidak mengandung isoflavon sama sekali. Dengan demikian efek ekstrak protein *Detam 1* dalam menurunkan asupan makan kemungkinan bukan akibat efek isoflavon tapi melalui efek zat aktif yang terdapat dalam protein kedelai ( $\beta$ -Conglycinin). B-Conglycinin subunit  $\beta$  fragmen 51-63 mempunyai aktivitas terkuat untuk menstimulasi pengeluaran hormon pencernaan KSK dan menekan keinginan makan (Nishi, 2003). Demikian pula ekstrak protein tempe kedelai Wilis yang paling baik dalam menurunkan berat badan pada tikus Wistar (Hidayat, 2009) ternyata tidak mengandung isoflavon samasekali.

## SIMPULAN

Kadar protein biji kedelai *Detam 1* adalah yang paling tinggi (41,82%). Proses fermentasi meningkatkan kadar air dari biji kedelai namun menurunkan kadar protein, lemak dan karbohidrat dari kedelai. Kadar protein tempe *Detam 1* (25,35%) dan tempe kedelai Wilis (23,70%) jauh lebih tinggi dibanding kadar protein tempe yang banyak beredar di pasaran (18,3%).

Kadar isoflavon paling banyak terdapat dalam fraksi etil asetat, sedangkan kadar Daidzein tertinggi dalam fraksi etil asetat biji kedelai *Detam 1* (Daidzein 0,669%) namun tidak mengandung Genistein. Ekstrak metanol tempe kedelai Wilis juga memiliki kadar isoflavon yang tinggi (Daidzein 0,580% dan Genistein 0,576%). Kadar isoflavon yang tinggi akan meningkatkan kadar KSK plasma yang selanjutnya akan menekan keinginan makan.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Ramdan dari Bagian Kimia Fakultas MIPA Jatinangor Universitas Padjadjaran, Ibu Kiki Maesaroh dan Ibu Ida Nur Farida Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Lingkungan-Jurusan Kimia Fakultas MIPA Singaperbangsa Universitas Padjadjaran, Ibu Ir. Sri Priatni M.Sc yang mewakili Kepala Bidang Bahan Alam Pangan dan Farmasi Kimia LIPI Bandung serta Ibu Soja Siti Fatimah M.Sc Bagian Kimia Fakultas MIPA UPI Bandung.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.W., Smith, B.M., & Washnock, C.S. 1999. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. *Am J Clin Nutr.*, 70: 464-474.
- Aoyama, T., Fukui, K., Takamatsu, K., Hashimoto, Y., & Yamamoto T. 2000. Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow KK). *Nutrition*, 16(5): 349-54.
- Ariasmita, J.H., Kuswardani, I., Astuti, M., Syarif, R., Hermianto, J., & Hariyadi, P. 1999. *Wacana Tempe Indonesia*. Surabaya: Universitas Katolik Widya Mandala.
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., & Wotton, M. 2007. *Ilmu Pangan*. Jakarta: UI Press.
- Coward, L., Smith, M., Kirk, M., & Barnes, S. 1998. Chemical modification of isoflavones in soyfoods during cooking and processing. *Am J Clin Nutr* 68(suppl), 1486S-91S.
- Craig, W.J., 1997. Phytochemicals: Guardians of our health. *J Am Diet Assoc*, 97: 199-204.
- Delwiche, S.R., Pordesimo, L.O., Panthee, D.R., & Pantalone, V.R. 2007. Assessing Glycinin (11S) and  $\beta$ -Conglycinin (7S) fractions of Soybean Storage protein by Near-Infrared Spectroscopy. *J Am Oil Chem Soc*, 84: 1107-1115.
- Gizi Departemen Kesehatan RI. Direktorat Sub Bidang Gizi. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Penerbit Bhratara karya Aksara, Jakarta.
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan Kedua. Penerbit ITB Bandung.
- Hidayat, M., Sujatno, M., Sutadipura, N., & Setiawan. 2009. Effect Several Soybean (*Glycine max* L.merr) Extracts to Food Intake, Body Weight and Cholecystokinin Plasma in Rats. Proceeding of the International Symposium & Seminar IAIFI "The Holistic interaction between Living Organisms and Environment for Better Quality of Living" November 15<sup>th</sup>, 2009.
- Hermana & Karmini, M. 1999. The development of tempe technology. In: Agranoff J, editor. *The complete handbook of tempe: The unique fermented soyfood of Indonesia*. American Soybean Association. p. 81-92
- Hermana, Mahmud, M., & Karyadi, D., 1999. Composition and Nutritional value of Tempe. Its role in the improvement of the nutritional value of food. In: Agranoff J, editor. *The complete handbook of tempe: The unique fermented soyfood of Indonesia*. American Soybean Association. p. 27-32
- Jang, E.H. , Moon, J.S., Ko, J.H., Ahn, C.W., Lee, H.H., Shin, J.K., Park, C.S., & Kang, J.H. 2008. Novel black soy peptides with antiobesity effects: activation of leptin-like Signaling and AMP-activated protein kinase. *International Journal of Obesity* 32, 1161–1170; doi:10.1038/ijo.2008.60; published online 15 April 2008.
- Kimia/Bagian Biokimia FKUP. 2002. *Penuntun Praktikum Analisis Makanan dan Obat*. Fakultas kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung.
- Liu, K.S. 1999. Chemistry and nutritional value of soybean components. In *Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization*. Aspen Publ. Inc.: Gaithersburg, Maryland, USA. pp. 25-113.
- Messina, M.J. 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr*, 70: 439-450.
- Muchtadi, D. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. PAU Pangan dan Gizi. IPB Bogor.
- Nishi, T., Hara, H., Asano, K., & Tomita, F. 2003. The Soybean  $\beta$ -Conglycinin  $\beta$  51–63 Fragment Suppresses Appetite by Stimulating Cholecystokinin Release in Rats. *The American Society for Nutritional Sciences*, 133: 2537-2542 . [Medline].
- Omoni, A.O. & Aluko, R.E. 2005. Soybean food and their benefits: potential mechanisms of action. *Nutrition reviews*, 63(8): 272-83.
- Prawiroharsono, S. 1999. Microbiological aspects of tempe. In: Agranoff J editor. *The complete handbook of tempe: The unique fermented*

- soyfood of Indonesia. Singapore: The American Soybean Association Southeast Asia. p. 93-115.
- Santoso, H.B. 2003. Pembuatan tempe dan tahu kedelai bahan makanan bergizi tinggi. Ed 10. Jogjakarta. Kanisius.
- Surat Keputusan Menteri Pertanian 2008. Lampiran Keputusan Menteri Pertanian Nomor 240/Kpts/SR 120/3/2008. Tanggal 6 Maret 2008.
- TEMPO Surat Kabar Harian. 9 Desember 2008. Ilmu Pengetahuan dan Teknologi: Kedelai Ponorogo Naik Pangkat.
- Zhang, Y., Na, X., Zhang, Y., Li, L., Zhao, X., & Cui, H. 2009. Isoflavone Reduces Body Weight by Decreasing Food Intake in Ovariectomized Rats. *Ann Nutr Metab*, 54: 163-170.
- Zubic, L. & Meydani, M. 2003. Bioavailability of Isoflavones from Aglycone and Glucoside forms in American women. *Am J Clin Nutr*, 77: 1459-65.