Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol 7, No. 2, 2002, 99 – 101
Akreditasi Dikti Depdiknas RI No. 69/DIKTI/Kep/2000

ISSN : 1410-0177

Short Communication

Isolasi Isoflavonoid dari Limbah Cair Pabrik Tempe

Elidahanum Husni, Amri Bakhtiar, Helmiza
Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas, Padang

Diterima 28 Januari 2002 : Disetujui 28 Februari 2002

Abstract

It has been isolated an isoflavonoid from wasteproduct of tempeh industry as a white brownish amorphous solid, melted at 286° - 289° C (dec.). The compound was identified based on its organoleptic, melting point, paper chromatography, ultraviolet spectrum by addition of shift reagents and infrared spectrum. It was concluded that the compound was 7,4'-dihidroksiisoflavon or daidzein.

Keywords : isoflavonoid, wasteproduct of tempeh industry

Pendahuluan

Tempe adalah makanan tradisional bangsa Indonesia yang diperoleh dari fermentasi kedelai oleh kapang *Rhizophus sp* (Koswara, 1997. Sarwono, 1996). Bahan baku utama pembuatan tempe adalah kedelai yang merupakan sumber protein dan lemak yang sangat baik. Kedelai juga dapat digunakan sebagai sumber karbohidrat, vitamin, mineral dan serat (Fleury, Magnolato. 1990). Kedelai mengandung senyawa bioaktif yaitu isoflavonoid seperti genistein (aktifitas esterogenik, antitumor, antibakteri dan antioksidan) dan daidzein (aktifitas esterogenik dan antioksidan) ((Fleury, Magnolato. 1990. Harbone, Marby and Marby 1975. Wang, Murphy. 1994).

Daidzein banyak digunakan dalam pengobatan salah satu diantaranya sebagai anti oksidan. Dua produk utama metabolisme daidzein yang digunakan adalah ekuol da o-desimetilangolensin, yang berfungsi untuk menurunkan oksidasi lipoprotein didalam serum. Senyawa ini digunakan pada pengobatan aterogenesis (Mori, Beilin 1990 . Wang, Murphy 1994).

Diduga dalam air rebusan yang merupakan limbah pabrik tempe terdapat senyawa isoflavonoid sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan baku obat dan kosmetika.

*Corresponding author: Tel. 62-751-71682, Faks: 62-751-73118
E-mail : farmasi-unand@telkom.net

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan lampu UV (Camag) 254 nm dan 366 nm, melting point (Fisher John), spektrofotometer ultraviolet (Spektronik 21D Milton Roy), spektrofotometer inframerah (Perkin Elmer 735B).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : limbah cair pabrik tempe (60 menit) yang diambil pada pabrik tempe di Kecamatan Alai, Kodya Padang. Amberlite XAD-4, silika gel 60, air suling, metanol, heksana, etil asetat, n-butanol, kloroform, aluminium klorida, amonia, asam asetat anhidrat, asam klorida, besi (III) klorida, aseton, natrium asetat, natrium hidroksida, asam borat.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Limbah cair pabrik tempe yang berasal dari air rebusan berwarna kuning sebanyak ± 10 liter disaring dengan kertas saring. Filtrat dilewatkan ke dalam kolom kromatografi dengan fase diam Amberlite XAD-4. Resin dicuci dengan air suling untuk menghilangkan garam mineral, gula bebas, asam organik dan senyawa hidrofil lainnya. Selanjutnya isoflavonoid yang terikat dielusi dengan metanol. Ekstrak metanol diuapkan dengan

"rotary evaporator" sehingga diperoleh lebih kurang 3,52 gram ekstrak kental.

Ekstrak kental ini ditambahkan 150 ml air suling panas. Kemudian dikocok dan disaring dengan kapas. Filtrat difraksinasi dengan etil asetat (4 x 150 ml) sehingga didapatkan dua fraksi yaitu fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi etil asetat diuapkan dengan rotary evaporator dan diperolch isoflavonoid kasar C sebanyak 2,10 gram yang berwarna coklat kemerahan.

Fraksi air difraksinasi dengan n-butanol (3 x 150 ml), fraksi n-butanol diuapkan dengan rotary evaporator dan diperoleh isoflavonoid kasar B sebanyak 0,85 gram yang berwarna coklat. Fraksi air yang berwarna kuning kecoklatan juga diuapkan dengan rotary evaporator dan didapatkan isoflavonoid kasar A sebanyak 0,42 gram.

Pemisahan dan Pemurnian Isoflavonoid

Pemisahan isoflavonoid kasar fraksi etil asetat dilakukan dengan metoda kromatografi kolom, sebagai fase diam digunakan silika gel 60 dan fase gerak digunakan heksana yang ditingkatkan kepolarannya secara bertahap dengan penambahan etil asetat, etil asetat - metanol. Fraksi yang keluar ditampung dengan masing-masing vial kurang lebih 10 ml.

Fraksi C diuapkan dengan rotary evaporator kemudian dipisahkan lagi dengan kromatografi kolom, sebagai fase diam digunakan silika gel 60 dan fase gerak digunakan kloroform - metanol yang ditingkatkan kepolarannya secara bertahap. Fraksi yang keluar ditampung dengan masing-masing vial ± 10 ml. Fraksi C, pelarutnya dibiarkan menguap sehingga diperoleh isolfavonoid Ç.

Pemurnian terhadap isoflavonoid C dilakukan melalui proses rekristalisasi menggunakan pelarut campur metanol - kloroform sampai didapatkan isoflavonoid C.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Dari 10 liter limbah cair pabrik tempe diperolch isoflavonoid kasar fraksi etil asetat sebanyak 2,10 gram (0,021%), fraksi n-butanol sebanyak 0,85 gram (0,0085%) dan fraksi air sebanyak 0,48 gram (0,0048%) dari berat sampel.

Pemisahan dan pemurnian isoflavonoid kasar fraksi etil asetat, diperoleh isoflavonoid C sebanyak 27 mg yang berbentuk serbuk amorf, berwarna putih kecoklatan, tidak berbau dan terdekomposisi (terurai tanpa meleleh) pada suhu 286° - 289° C.

Data spektrum isoflavonoid C : (1) UV Max (MeOH) 235_{sh}; 249,4; 259 2_{sh}, MeOH / NaOH 259,5; 291_{sh}; 328, MeOH / $AlCl_3$ 235_{sh}; 249,4; 259 2_{sh}MeOH / $AlCl_3$242; 250,4; 301,5, MeOH / $AlCl_3$ / HCl 240_{sh}; 249,2; $302,4_{sh}$, MeOH / NaOAc 235_{sh}; 249,4; 259 2_{sh}MeOH / $AlCl_3$242; 250,4; 301,5MeOH / $AlCl_3$ / HCl240_{sh}; 249,2; $302,4_{sh}$MeOH / NaOAc256,7; $271,6_{sh}$; $328,4_{sh}$, MeOH / NaOAc / H_3BO_3 256,1;312,5 nm ; (2) IR (KBr) : 3000 - 3200, 2900 , 1620, 1460, 1220, 860 cm^{-1}.

Pembahasan

Pada pembuatan tempe dibutuhkan beberapa proses dimulai dari membersihkan kedelai dari kotoran yang tak diinginkan. Setelah itu kedelai dicuci dengan air dan direbus selama 30 menit. Rebusan kedelai ini dikupas kulitnya lalu dicuci dan direndam dalam air selama 24 jam. Selanjutnya kedelai direbus kembali selama 60 menit, lalu ditiriskan. Setelah dingin kedelai diinokulasi dengan inokulum, kemudian dibungkus dan difermentasi selama 48 jam (Sarwono, 1996). Limbah cair pabrik tempe yang digunakan adalah air rebusan kedelai 60 menit, pada air ini kandungan isoflavonoidnya lebih tinggi karena total konsentrasi isoflavonoid pada kedelai (80 – 90 %) terdapat pada cotiledon sedangkan sisanya pada hipokotil (Wang, Murphy, 1994).

Isoflavonoid C terdekomposisi pada suhu 286°-289° C. suhu dekomposisi Isofavonoid C ini hampir sama dengan suhu dekomposisi daidzein 290° C (Wang, Murphy 1994).

Dari data spektrum UV di atas diketahui bahwa isoflavonoid C adalah isoflavon yang punya gugus hidroksi pada posisi C-7 dan C-4' ini sesuai dengan struktur daidzein (Mabry, Markham and Thomas. 1970).

Kesimpulan

Dari 10 liter limbah cair pabrik tempe diperoleh isoflavonoid kasar fraksi etil asetat sebanyak 2,10 gram (0,021%). Pemisahan isoflavonoid kasar ini secara kromatografi kolom diperoleh senyawa murni sebanyak 27 mg (0,00027 %). Hasil data kromatografi kertas, pengukuran jarak leleh, spektrum ultraviolet dengan penambahan berbagai pereaksi geser dan spekrum inframerah, didapatkan senyawa dengan struktur 7,4'-dihidroksiisoflavonoid atau daidzein.

Daftar Pustaka

Fleury, Y., D. Magnolato, Change in Isoflavonoid Content During Maturation of Soybean, in Das N.P., *Flavonoid in Biology and Medicine III*, Nasional University of Singapore, 1990.

Harborne, J.B., T.J., Marby and H. Marby, *The Flavonoid*, Chapman and Hall, London, 1975.

Harborne, J.B., *Comparative Biochemistry of Flavonoid*, Akademic Press, London and New York, 1982.

Koswara , S., *Teknologi Pengolahan Kedelai*, Pustaka Sinar Harapan, Jakarta. 1997.

Mabry, T.J., K.R. Markham and M.B. Thomas, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, 1970.

Mori, T.A. and L.J. Beilin, Soybean Isoflavonoids and Their Metabolic Products Inhibit *In vitro* Lipoprotein Oxidation in Serum", *J. Nutr. Biochem.*, 1990, 7 (12), 664-669.

Sarwono, S., *Membuat Tempe dan Oncom*, Edisi Revisi, Penebar Swadaya, Jakarta, 1996

Wang, H., P.A. Murphy, "Isoflavonoid Content in Comercial Soybean Foods", *J. Agric.Food Chem.*, 1994, 42 (8), 1666 – 1673.

Wang, H. and Murphy, "Isoflavone Composition of Amerika and Japanese Soybean in Lowa : Effects of Variety, Corp, Year and Location", *J. Agric. Food Chem.* 1994, 42, 1674-1677.