

ISBN :978-602-73159-0-7

SEMINAR NASIONAL
KIMIA DAN PENDIDIKAN
KIMIA VII



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA VII
“Penguatan Profesi Bidang Kimia dan Pendidikan Kimia
Melalui Riset dan Evaluasi”
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan P.MIPA FKIP UNS
Surakarta, 18 April 2015



MAKALAH
PENDAMPING

KIMIA ORGANIK

ISBN :978-602-73159-0-7

DINAMIKA KONSENTRASI GENISTEIN DALAM PROSES PEMBUSUKAN TEMPE KEDELAI

Rode Sukma Lewidharti^{1,*}, Hartati Soetjipto², Silvia Andini²

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, UKSW, Salatiga, Indonesia

²Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, UKSW, Salatiga, Indonesia

Telp: 085-726-133-588, email: 652011006@student.uksw.edu

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk menentukan pola dinamika konsentrasi genistein dalam proses pembusukan tempe kedelai telah dilakukan di Laboratorium Kimia Pangan, Fakultas Sains dan Matematika, UKSW dari bulan Desember 2014 sampai bulan Maret 2015. Contoh tempe diambil dari pengrajin tempe “Echo” di Domas, Salatiga. Konsentrasi genistein diamati mulai dari pembuatan tempe hari ke-0 sampai hari ke-9 pembusukan tempe. Genistein diperoleh dengan maserasi lalu dianalisis dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Data dinamika konsentrasi genistein dianalisis dengan analisa regresi non linier. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi genistein berfluktuasi selama waktu fermentasi dan konsentrasi genistein tertinggi 324,27 µg/g diperoleh dalam 9 hari proses pembusukan.

Kata Kunci: *Dinamika, Konsentrasi, Genistein, Tempe*

PENDAHULUAN

Tempe yang umumnya terbuat dari kedelai merupakan makanan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat. Di daerah Jawa Tengah “tempe bosok” atau tempe yang sudah kadaluarsa 1-2 hari dikenal sebagai salah satu bumbu dapur. Tempe bosok banyak digunakan dalam masakan daerah seperti sayur lodeh, sambal tumpang dsb, sehingga “tempe bosok” bukan hal baru bagi masyarakat.

Isoflavon merupakan bagian dari isoflavonoid yang banyak ditemukan dalam kedelai. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa kandungan isoflavon pada kacang-kacangan dipengaruhi oleh varietas, waktu panen dan lokasi [1].

Winarsi (2005) melaporkan dalam 1 gram protein kedelai, mengandung 3,5 mg isoflavon [2]. Kedelai mengandung banyak isoflavon yang terutama terdiri dari genistein (60%) dan daidzein (30%) dengan jumlah yang lebih kecil dari glycitein



PENGUATAN PROFESI BIDANG
KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA
MELALUI RISET DAN EVALUASI

(10%).[3]. Dalam pembuatan tempe kondisi pertumbuhan, varietas kedelai, waktu fermentasi kedelai, suhu, dan kultur starter memberikan pengaruh yang signifikan terhadap produksi isoflavon [4].

Yaakob *et al.*, (2011) melaporkan bahwa kandungan isoflavon pada produk kedelai yang difermentasi lebih tinggi dari sebelum difermentasi [5]. Menurut Garlock (2000), kandungan genistein tempe dua kali lipat genistein kedelai [6].

Genistein adalah salah satu bentuk aglikon dari isoflavon kedelai [7]. Senyawa isoflavon aglikon ini telah mengalami transformasi lebih lanjut membentuk senyawa transforman baru. Hasil transformasi lebih lanjut dari senyawa aglikon ini menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi [8].

Saat ini banyak dilakukan penelitian tentang genistein sehubungan dengan aktivitasnya sebagai anti proliferasi, efek estrogenik, dan efek antiestrogenik [9]. Genistein merupakan fitoestrogen yang berpotensi mengurangi resiko kanker [10].

Mengingat pentingnya senyawa genistein bagi kesehatan manusia maka ingin diketahui pada fermentasi hari ke berapa diperoleh kandungan genistein paling tinggi. Jadi penelitian ini bertujuan untuk menentukan pola dinamika konsentrasi genistein dalam proses pembusukan tempe kedelai.

METODE PENELITIAN

Bahan dan alat

Tempe yang digunakan berasal dari pengrajin tempe di daerah Salatiga. Waktu

fermentasi yang diukur 0, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hari. Bahan kimiawi yang digunakan adalah metanol, kloroform, n-heksan, dan standar genistein (*Sigma Chemical Co.*)

Piranti yang digunakan antara lain neraca analitis 4 digit (Mettler H 80, Mettler Instrument Corp, USA), neraca analitis 2 digit (Ohaus TAJ602, Ohaus Corp, USA), blender (Philips, Belanda), *rotary evaporator* (Buchi R0114, Swiss), *drying cabinet* dan HPLC (Knauer Smartline 5000, Smartline pump 1000, Smartline UV Detector 2500, Jerman).

Preparasi sampel

Tempe dipotong tipis-tipis dan dikeringkan dengan *drying cabinet* pada suhu 50°C selama 2 hari, kemudian dihaluskan menggunakan grinder.

Ekstraksi Isoflavon dengan Metode Maserasi ([11], dimodifikasi)

Sebanyak 50 g tempe kering dimaserasi dalam metanol-80% selama 9 jam. Setelah disaring, filtrate dievaporasi sampai kering. Ekstrak dilarutkan dalam 50 ml campuran methanol -50% dan heksana (1:2, v/v) untuk menghilangkan lemak secara partisi. Hasil separasi ekstrak fraksi polar dilarutkan dalam campuran metanol dan kloroform (1:1) kemudian dilakukan pemisahan kembali. Fraksi kloroform dievaporasi menghasilkan ekstrak kasar isoflavon.

Identifikasi Isoflavon ([12], dimodifikasi)

Identifikasi isoflavon dengan menggunakan metode HPLC dilakukan dengan pengkondisian instrumen HPLC dan pembuatan larutan sampel. Larutan sampel dibuat dengan mengambil 0.1 g ekstrak lalu dilarutkan dalam metanol 5

mL. Setelah larutan disentrifuge, diambil 20 μ L dengan alat injeksi. Selanjutnya sampel diinjeksikan ke dalam HPLC setelah pengkondisian HPLC selesai. Kromatogram HPLC dianalisis dengan menggunakan pembandingan kromatogram isoflavon genistein standar.

Instrumentasi

Panjang kolom : 25 cm

Jenis kolom : Vertex, Euroshper 100-5
c18, 150x4,6 mm (AH201)

Fase gerak : metanol : asam asetat
0,1

(48% : 52%), isokratik

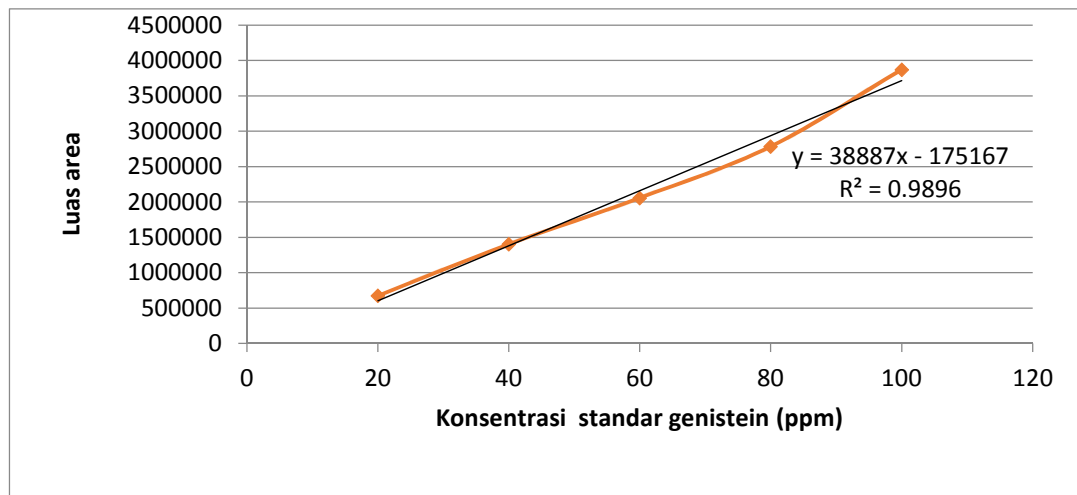
Kecepatan alir : 1,2 ml/menit

Tekanan : 13,3 MPa

Volume injeksi : 20 μ L

Detektor : 254nm

Analisis kuantitatif genistein dilakukan dengan menghitung luas area kromatogram. Konsentrasi genistein dapat diketahui dengan menghitung persamaan garis dari kurva standar genistein.



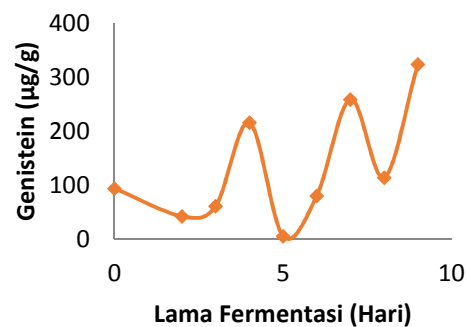
Kurva Standar Genistein

Analisa Data

Data konsentrasi genistein dianalisis secara grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi genistein dengan HPLC menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, jumlah genistein yang dihasilkan semakin meningkat (Gambar 1).



Gambar 1. Pengaruh Lama Waktu Fermentasi

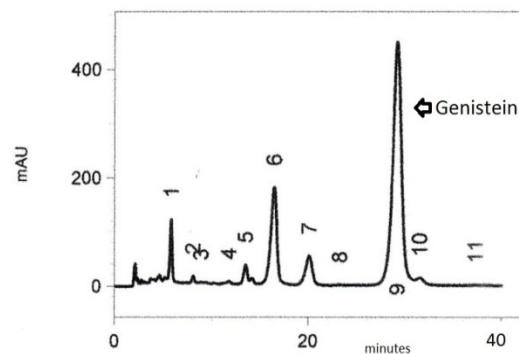
Diawali dengan tempe hari ke nol yang masih berupa kedelai memiliki konsentrasi genistein sebesar 93,70 µg/g dan pada hari kedua mengalami penurunan menjadi 41,12 µg/g. Namun pada hari ketiga dan keempat mengalami kenaikan menjadi 61,27 µg/g dan 216,23 µg/g secara berurutan. Sedangkan pada hari kelima terjadi penurunan yang cukup drastis menjadi 5,40 µg/g. Namun demikian pada hari keenam dan ketujuh kembali mengalami kenaikan menjadi 80,26 µg/g dan 259,34 µg/g. Pada hari kedelapan genistein menurun sampai 114,14 µg/g sedangkan pada hari kesembilan kembali mengalami kenaikan menjadi 324,27 µg/g. Pengamatan dihentikan pada hari ke sembilan karena pada hari ke sepuluh tempe sudah 100% rusak dan busuk.

Gambar 1 menunjukkan bahwa produksi genistein yang tinggi terjadi pada fermentasi tempe hari ke 4,7 dan 9. Tampaknya terjadi fluktuasi yang nyata dimana genistein yang sudah terbentuk kemudian mengalami penurunan. Diduga hal ini disebabkan karena sifat genistein yang dapat mengalami transformasi membentuk senyawa baru yang disebut faktor 2 [13]. Senyawa faktor-2 atau 6,7,40-trihidroksiisoflavon hanya dijumpai pada kedelai yang difermentasi [9].

Pada umumnya jalur konversi isoflavanoid adalah yaitu dari bentuk glikosida menjadi aglikon yang kemudian menjadi aglikon lainnya [9]. Oleh karena itu, naiknya konsentrasi genistein di hari 0-4 karena konversi dari glikon ke aglikon, sedangkan turunnya konsentrasi genistein pada hari ke 5 diduga karena terbentuknya isoflavon jenis lain. Namun

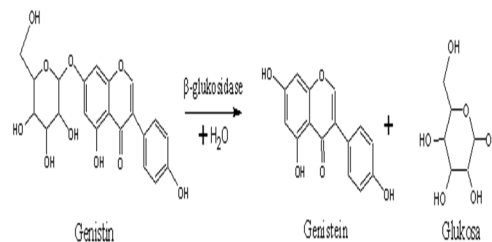
genistein kemudian mengalami kenaikan, hal ini menarik untuk diteliti lebih lanjut. Diduga dapat dikarenakan mikroba menghasilkan enzim yang bisa mengkonversi isoflavon lain menjadi genistein.

Kromatogram HPLC ekstrak isoflavon tempe fermentasi 9 hari disajikan pada Gambar 2. Genistein muncul di waktu retensi 29,25 menit. Sedangkan beberapa peak yang muncul di awal diduga merupakan isoflavonoid glikosida.



Gambar 2. Kromatogram HPLC tempe hari ke-9

Genistin yang terdapat pada bijidapat dihidrolisis oleh β-glukosidase yaitu genistein (5,7,4'-trihidroksi isoflavon) dan glukosa [6] (Gambar 3). Fermentasi dapat meningkatkan kandungan genistein melalui hidrolisis β-glukosidase [14]. Enzim β-glukosidase menjadi aktif dan membantu perubahan isoflavon terikat (glukosida) menjadi isoflavon tidak terikat (aglikon) [10].



Gambar 3. Reaksi Hidrolisis Glukosida Isoflavon menjadi Aglikon Isoflavon [8].

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa: Konsentrasi genistein dalam proses pembusukan tempe kedelai (tempe bosok) bersifat fluktuatif. Konsentrasi genistein tertinggi pada fermentasi tempe hari ke 4,7, dan 9. Sedangkan konsentrasi genistein tertinggi pada hari ke 9. Konsentrasi genistein terendah pada fermentasi hari ke 5.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Nakajima, N., Nobuyuki, N., Ishihara, K. 2005. Analysis of Isoflavone Content in Tempeh, a Fermented Soybean, and Preparation of a New Isoflavone-Enriched Tempeh. *Journal Bioscience and Bioengineering*, Vol. 100, No. 6, pp. 685–687.
- [2] Winarsi, H. 2005. *Isoflavon*. Yogyakarta: GadjahMada University Press.
- [3] Lee, J., H. Seung Kim., Y. Sang Song, 2011. Genistein As a Potential Anticancer Agent Against Ovarian Cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2 (2), pp. 96-104.
- [4] Kusumaningsih, T., Retnos, S., Agustina, W. 2006. Profil Kandungan Daidzein dan Genistein Pada Tempe Gembus Selama Proses Fermentasi. *J.Alchemy*, Vol.5, No 1, ISSN 1412-4092, pp.45-43.
- [5] Yaakob, H., R. AbdMalek., M. Misson., M.F. Abdul Jalil, 2011. Optimization of Isoflavone Production from Fermented Soybean Using Response Surface Methodology. *Food Sci. Biotechnol*, 20(6), pp. 1525-1531.
- [6] Garlock, T. 2000. *The Effect of Various Acidic Solutions on the Concentration of Genistein in Tempeh*. Tesis. The Graduate College University of Wisconsin-Stout Menomonie.
- [7] USDA, 2008. *USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods*. Nutrient Data Laboratory. United States of America.
- [8] Pawiroharsono, S. 2001. *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*. Direktorat Teknologi Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
- [9] Istiani, Y. 2010. *Karakterisasi Senyawa Bioaktif Isoflavon dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Tempe Berbahan Baku Koro Pedang (Canavalia ensiformis)*. Tesis. Program Studi Biosains. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- [10] Tagliaferri. M., I. Cohen., D. Tripathy, 2007. *Kanker Payudara*. Jakarta: PT. Indeks
- [11] Purwoko, T. 2004. Kandungan Isoflavon Aglikon pada Tempe Hasil Fermentasi *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus*: Pengaruh Perendaman. *BioSMART*, 6(2), pp. 85-87
- [12] Cesar. I., Braga, F., Soares, C. 2006. Development and Validation of a RP-HPLC method for Quantification of Isoflavone Aglycones in Hydrolyzed Soy Dry Extracts. *Journal of Chromatography*, 836, pp.74-78.
- [13] Pawiroharsono, S. 2001. *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*.

Direktorat Teknologi Bioindustri, Badan
Pengkajian dan Penerapan Teknologi.

[14] Iswandari, R. 2006. *Studi Kandungan Isoflavon Pada Kacang Hijau (Vignaradiata L), Tempe Kacangijau, dan Bubur Kacang Hijau*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.

TANYA JAWAB

PENANYA : Armi Wulandari

Pertanyaan :

- Apakah tadi (genistein) bersifat toksik apa tidak? Memiliki toksisitas apa tidak?
- berarti kandungan semakin banyak semakin baik?
- Apakah nanti adapengaruh suhu dan sebagainya, terutama pada faktor 2 tadi?

Jawaban :

- tidak, genistein bahkan merupakan suatu kitoestrogen yang berpotensi mengurangi resiko kanker, atau bisa menghambat dan mengobati kanker. Banyak penelitian menemukan genistein menjadi agensi anti kanker.
- iya, banyaknya kandungan genistein memungkinkan daya hambat kankerpun besar juga, selain anti kanker, genistein juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan.
- Faktor 2 merupakan biokonversi dan daidzen. Diduga ada pengaruh pH maupun suhu sehingga terbentuk Faktor 2. oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.