

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ISOFLAVON DARI KACANG KEDELAI (*Glycine max*)

I. A. R. Astiti Asih

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari biji kedelai (*Glycine max*). Dari 1740,83 g serbuk kering biji kedelai diperoleh sekitar 17,82 g ekstrak kental metanol yang berwarna kuning kecoklatan. Hasil hidrolisis terhadap ekstrak kental ini dengan HCl 2N adalah 2,61 g ekstrak *n*-heksana. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana positif mengandung flavonoid. Pemisahan dan pemurnian terhadap ekstrak *n*-heksana dilakukan dengan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis. Identifikasi terhadap fraksi yang positif flavonoid dengan UV-Vis menunjukkan dua pita serapan yaitu pita I pada panjang gelombang 312,9 nm dan pita II pada panjang gelombang 268,2 nm. Hasil pereaksi geser dengan natrium hidroksida, natrium asetat, natrium asetat-asam borat, aluminium klorida, aluminium klorida-asam klorida pekat menunjukkan bahwa isolat mengandung senyawa flavonoid golongan isoflavon dengan tidak terdapat gugus OH bebas pada cincin A serta tidak mengandung gugus orto dihidroksi pada cincin A. Spektrum inframerah menunjukkan bahwa isolat mempunyai gugus-gugus yang khas seperti C-H aromatik, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O.

Kata kunci : biji kedelai (*Glycine max*), isoflavon

ABSTRACT

Isolation and identification of flavonoid compound from soy bean (*Glycine max*) have been conducted in this research. Extraction of 1740.83 g of soy bean powder with methanol yielded 17.82 g yellowish brown of crude methanol extract. The crude extract was then hydrolysed with 2N HCl. Following partition of hydrolysed product with *n*-hexane gave 2.61g of *n*-hexane extract. Phytochemical testing of *n*-hexane extract gave positive result for flavonoid compound. The *n*-hexane extract was then subjected to column chromatography for purification. Identification of fraction which contained flavonoid using UV-Vis showed two band peaks at λ 312.9 nm dan 268.2 nm. Further identification using chemical shift including sodium hydroxide, sodium acetate, sodium acetate:borate acid, aluminium chloride, aluminium chloride-concentrated chloride acid suggested that the compound isolated was isoflavone without any free hydroxyl group and ortho dihydroxy group at ring A. The infra red spectra of isolate indicated the presence of characteristic functional group such as aromatic CH, aliphatic C-H, C=O, aromatic C=C, and C-O

Keywords : soy bean (*Glycine max*), isoflavone

PENDAHULUAN

Tanaman merupakan sumber kekayaan alam yang banyak dijumpai di lingkungan sekitar kita. Tanaman itu sendiri terdiri dari akar, batang, daun dan biji. Setiap akar, batang, daun dan biji memiliki senyawa kimia yang berbeda. Senyawa kimia inilah yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Kini penggunaan dan

permintaan terhadap tanaman obat tradisional bertambah sehingga penelitian ke arah obat-obatan tradisional semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena efek samping obat tradisional yang lebih kecil daripada obat modern (Heinnermen, 2003).

Tanaman obat merupakan jenis tanaman yang dipercaya masyarakat mempunyai khasiat dan telah digunakan sebagai bahan baku obat

tradisional. Obat tradisional digunakan untuk berbagai macam tujuan seperti menjaga kesegaran dan kesehatan tubuh secara keseluruhan, menyembuhkan penyakit tertentu, mengatur kehamilan dan kosmetik (Liu, 1999).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat berasal dari genus *Glycine* seperti *Glycine max* (Kacang Kedelai). Tumbuhan ini mempunyai peranan yang sangat penting dalam budaya Asia baik sebagai makanan, minuman maupun sebagai obat. Khasiat sebagai obat disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif yang bermanfaat untuk menjaga dan memperbaiki sistem fisiologis maupun untuk pencegahan penyakit (www. Goegle, 2005). Terutama pada bagian biji dari tumbuhan kedelai ini. Senyawa bioaktif yang mempunyai sifat antioksidatif diperlukan untuk mempertahankan fungsi biologis ini. Kedelai mengandung senyawa-senyawa antioksidan diantaranya adalah vitamin E, vitamin A, provitamin A, vitamin C dan senyawa flavonoid golongan isoflavon, genistein dan daidzein. Sedangkan senyawa kimia atau senyawa antioksidan yang mempunyai fungsi dapat mencegah penyakit kanker terutama kanker prostata pada kaum laki-laki dan kanker payudara pada kaum wanita adalah flavonoid golongan isoflavon, genistein dan daidzein (Aak, 1989).

Penelitian yang pernah dilakukan menyatakan bahwa pada biji kedelai diketahui mengandung senyawa flavonoid golongan isoflavon. Isoflavon ini boleh dibilang hanya terdapat pada kedelai saja. Isoflavon ini berfungsi melakukan regulasi untuk menghambat pertumbuhan kanker terutama kanker prostata. Seperti diketahui penyakit kanker prostata merupakan masalah utama kesehatan pria berusia diatas 50 tahun di negara barat. Di Jerman saja, setiap tahunnya sekitar 29.000 pria terserang kanker prostata. Sementara di Amerika Serikat, setiap tahunnya muncul 220.000 kasus baru kanker prostata. Selain berfungsi untuk mencegah kanker prostata, biji kedelai juga berfungsi untuk menurunkan resiko terkena penyakit jantung, diabetes, ginjal dan osteoporosis (Koswara, 1992). Karena begitu pentingnya fungsi tanaman ini, serta dugaan terhadap adanya senyawa golongan flavonoid

yang dikandung, maka pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa golongan flavonoid dari biji kedelai (*Glycine max*).

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kedelai (*Glycine max*) yang dikumpulkan dari Desa Wedoro Anom Gresik Jawa Timur dalam keadaan segar. Biji dikupas dari kulitnya dan dikeringkan, selanjutnya biji digiling dengan blender sampai berbentuk serbuk.

Bahan-bahan kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah Metanol (teknis dan p.a), Kloroform (p.a), Asam Klorida pekat, *n*-heksana (p.a), Natrium Hidroksida, Serbuk Magnesium, Silika Gel 60, Plat KLT Silika Gel GF₂₅₄, Etil Asetat (p.a), Aquades, Asam Sulfat pekat.

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Blender, Neraca Analitik, Lampu UV, Seperangkat Alat Penampak Bercak H₂SO₄pekat, Kertas Saring, Seperangkat Alat Gelas, Penguap Putar Vakum (rotary vacuum evaporator), Seperangkat Alat Kromatografi Lapis Tipis dan Kromatografi Kolom, Spektrofotometer UV-Vis, Spektrofotometer Inframerah.

Cara Kerja

Penyiapan bahan

Biji kedelai dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan lalu dihaluskan sampai berupa serbuk.

Ekstraksi dan fraksinasi senyawa flavonoid

Sekitar 1740 g serbuk biji kedelai dimaserasi dengan metanol teknis sebanyak 10 L. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan diuapkan dengan menggunakan penguap putar vakum (rotary vacuum evaporator) sampai diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 71,82 g. Ekstrak ini kemudian dihidrolisis dengan HCl 2N selama 2-3 jam. Hasil hidrolisis diekstraksi dengan *n*-heksana. Ekstrak *n*-heksana yang diperoleh diuapkan dengan penguap putar vakum sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana sebanyak 2,61 g, kemudian ekstrak kental yang diperoleh diuji dengan uji flavonoid.

Metode Pemisahan dan Pemurnian

Pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan cara kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom.

a). Kromatografi lapis tipis (KLT)

Pemisahan dengan KLT digunakan untuk mencari fase gerak yang terbaik yang akan digunakan dalam kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan pada KLT adalah silika gel GF₂₅₄ dan sebagai fase gerak digunakan *n*-heksana, kloroform, etil asetat dan *n*-butanol. Bejana kromatografi sebelum digunakan untuk elusi, terlebih dahulu dijenuhkan dengan fase geraknya. Sedikit fraksi positif flavonoid yaitu fraksi *n*-heksana dilarutkan dengan pelarutnya (eluen yang akan dipakai) kemudian ditotolkan pada plat kromatografi lapis tipis dengan menggunakan pipa kapiler. Setelah kering lalu dimasukkan dalam bejana. Bila fase gerak telah mencapai batas yang ditentukan, plat diangkat, dan dikeringkan di udara terbuka. Sebagai penampak noda digunakan asam sulfat. Noda yang terbentuk diamati dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm kemudian dihitung Rf-nya.

b). Kromatografi kolom

Fase diam yang digunakan pada kromatografi kolom adalah silika gel, sedangkan fase geraknya digunakan fase gerak yang memberikan pemisahan terbaik pada KLT.

Silika gel 60 (70-100) Mesh terlebih dahulu dipanaskan dalam oven pada suhu 110⁰C,

kemudian ditambahkan sedikit fase geraknya sehingga menjadi bubur. Pelarut (fase gerak yang digunakan) dimasukkan ke dalam kolom sampai hampir penuh dan keadaan kran kolom tertutup. Setelah itu kecepatan aliran kolom diatur dan bubur dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam kolom sampai seluruh bubur masuk ke dalam kolom. Setelah bubur masuk, fase diam ini dielusi hingga homogen (kolom ini didiamkan selama 1 hari sehingga diperoleh pemampatan yang sempurna). Sementara itu sampel dilarutkan dalam pelarut, kemudian sampel dimasukkan dengan hati-hati melalui dinding kolom dan aliran fase gerak diatur. Begitu sampel masuk ke dalam fase diam, fase gerak ditambahkan secara kontinyu sampai terjadi pemisahan. Eluat ditampung pada botol penampung fraksi setiap 3 mL, kemudian keseluruhan fraksi yang dihasilkan dilakukan KLT penggabungan.

Fraksi hasil KLT penggabungan yang mempunyai pola pemisahan sama (harga Rf sama) digabungkan, kemudian diuapkan dengan penguap putar vakum dan masing-masing kelompok fraksi yang diperoleh diuji dengan pereaksi flavonoid.

Uji Fitokimia

Pemeriksaan golongan flavonoid dapat dilakukan dengan uji warna yaitu :

1. Test Wilstatter
Beberapa mililiter sampel dalam alkohol ditambahkan 2-4 tetes larutan HCl dan 2-3 potong kecil logam Mg. Perubahan warna yang terjadi diamati dari kuning tua menjadi orange.
2. Test dengan NaOH 10%
Beberapa mililiter sampel dalam alkohol ditambahkan 2-4 tetes larutan NaOH 10%. Perubahan warna yang terjadi diamati dari kuning tua menjadi kuning muda.
3. Test dengan H₂SO₄ (pekat)
Beberapa mililiter sampel dalam alkohol ditambahkan 2-4 tetes larutan H₂SO₄ (pekat). Perubahan warna yang terjadi diamati dari kuning tua menjadi merah tua.

Uji Kemurnian

Uji kemurnian dilakukan menggunakan berbagai campuran fase gerak, yaitu *n*-heksana, kloroform, etil asetat dan *n*-butanol. Jika isolat tetap menunjukkan noda tunggal pada plat kromatogram dengan fase gerak yang berbeda, menunjukkan isolat relatif murni secara KLT, bahwa isolat tersebut hanya mengandung satu macam senyawa.

Karakterisasi Golongan Senyawa Flavonoid

Karakterisasi golongan senyawa flavonoid dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometri inframerah.

a). Karakterisasi golongan senyawa flavonoid dengan spektrofotometer UV-Vis

Pengukuran spektrum UV-Vis dilakukan pada panjang gelombang 250-500 nm. Sebanyak 1 mg isolat dilarutkan dalam 100 mL metanol (larutan persediaan), kemudian diukur panjang gelombangnya. Selanjutnya untuk mengetahui kedudukan gugus hidroksi pada inti flavonoid dilakukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan. Pereaksi geser yang digunakan antara lain natrium hidroksida, natrium asetat, natrium asetat dan asam borat, aluminium klorida, aluminium klorida dan asam klorida. Tahapan kerja penggunaan pereaksi geser adalah sebagai berikut :

- a. Setelah mengukur spektrum cuplikan dalam metanol, ditambahkan 3 tetes NaOH ke dalam kuvet, dikocok hingga bercampur. Kemudian diukur panjang gelombangnya. Setelah diukur, cuplikan dibuang dan sel dicuci.
- b. Pengukuran spektrum dengan pereaksi geser NaOAc dilakukan dengan cara menambahkan serbuk NaOAc dalam kuvet yang berisi larutan persediaan hingga terdapat kira-kira 2 nm lapisan NaOAc pada dasar kuvet, lalu dikocok, kemudian diukur. Pengukuran spektrum NaOAc + H₃BO₃ diukur setelah ditambahkan serbuk H₃BO₃ pada larutan persediaan yang kemudian dicampur/dikocok (banyaknya serbuk H₃BO₃

kira-kira setengah dari NaOAc yang ditambahkan sebelumnya). Setelah diukur, cuplikan dibuang dan sel dicuci.

- c. Pengukuran spektrum dengan pereaksi geser AlCl₃ dilakukan dengan menambahkan enam tetes pereaksi geser AlCl₃ ke dalam larutan persediaan, kemudian diukur panjang gelombangnya. Untuk spektrum dengan pereaksi geser AlCl₃ + HCl dilakukan dengan cara menambahkan tiga tetes HCl, kemudian dicampur dan diukur. Akhirnya cuplikan dibuang dan sel dicuci.

b). Karakterisasi gugus fungsi golongan senyawa flavonoid dengan spektrofotometer inframerah (IR)

Isolat aktif yang diduga golongan senyawa flavonoid yang telah murni dicampur dengan nujol. Campuran yang terbentuk selanjutnya ditempatkan pada dua buah lempeng kristal NaCl dan dimasukkan ke dalam alat inframerah, kemudian diukur serapannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Senyawa Flavonoid

Serbuk biji kedelai sekitar 1740,8384 g diekstraksi dengan cara maserasi untuk menarik komponen-komponen yang terkandung dalam sampel. Sampel dimaserasi dengan metanol teknis sebanyak 8 L. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan penguap putar vakum (rotary vacuum evaporator) sampai semua metanol menguap sehingga diperoleh ekstrak kental metanol berwarna kuning kecoklatan sebanyak 71,82 g. Selanjutnya ekstrak kental metanol yang diperoleh dihidrolisis dengan HCl 2 N yang tujuannya untuk memisahkan antara senyawa aglikon dengan senyawa glikon. Setelah dihidrolisis sampel yang diperoleh diekstraksi dengan *n*-heksana hingga diperoleh ekstrak asam dan ekstrak *n*-heksana. Ekstrak *n*-heksana yang diperoleh diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana sebanyak 2,61 g. Ekstrak kental *n*-heksana yang diperoleh kemudian dilakukan uji flavonoid. Hasil uji flavonoid pada ekstrak *n*-heksana adalah setelah ditetaskan NaOH (kuning

tua-kuning muda), setelah ditetaskan H_2SO_4 (pekat) (kuning tua-merah tua), setelah ditetaskan Mg-HCl (kuning tua-orange).

Dari uji fitokimia, ekstrak *n*-heksana positif mengandung flavonoid karena pada penambahan pereaksi warna tersebut terjadi perubahan yang khas untuk flavonoid. Perubahan warna yang terjadi diduga ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa flavonoid golongan flavonon dan isoflavon. Terhadap ekstrak *n*-heksana ini selanjutnya dilakukan uji pemisahan dan pemurnian.

Pemisahan dan Pemurnian

Pada ekstrak *n*-heksana yang positif flavonoid ini dilakukan kromatografi lapis tipis untuk mencari fase gerak yang memberikan pemisahan terbaik. Setelah memperoleh fase gerak yang terbaik dilakukan kromatografi kolom untuk memisahkan komponen-komponen yang ada pada ekstrak *n*-heksana.

Dari berbagai fase gerak yang digunakan, fase gerak *n*-heksana : kloroform : etil asetat (9:1:0,5) yang memberikan pemisahan terbaik, sehingga fase ini yang digunakan dalam kromatografi kolom. Terhadap 2,61 g ekstrak kental *n*-heksana dilakukan proses pemisahan dengan menggunakan fase diam silika gel 60 (70-100 Mesh) sekitar 100 g (panjang kolom 45cm, diameter 2,3 cm), menggunakan fase gerak *n*-heksana:kloroform:etil asetat (9:1:0,5).

Hasil kromatografi kolom gravitasi adalah 120 fraksi (dimana tiap fraksi 3 mL). Setelah dilakukan kromatografi lapis tipis gabungan dengan menggunakan fase gerak *n*-heksana:kloroform:etil asetat (9:1:0,5) dihasilkan 4 kelompok fraksi (FA, FB, FC, FD) yang menunjukkan pola pemisahan yang berbeda. Keempat fraksi dilakukan uji flavonoid dengan uji fitokimia.

Dari keempat fraksi yang menunjukkan positif flavonoid adalah fraksi D karena pada penambahan pereaksi warna tersebut menunjukkan adanya perubahan warna yang khas untuk flavonoid. Dari perubahan warna yang ditunjukkan oleh fraksi D setelah ditambah pereaksi NaOH, H_2SO_4 (pekat), Mg-HCl, maka fraksi ini diduga mengandung senyawa flavonoid golongan isoflavon, sehingga

dilanjutkan untuk diuji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis pada berbagai fase gerak.

Uji Kemurnian

Uji kemurnian terhadap isolat fraksi D dengan berbagai fase gerak menunjukkan adanya noda tunggal dengan demikian dapat dianggap bahwa isolat tersebut terdiri dari satu komponen senyawa yang relative murni secara KLT.

Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan uji warna flavonoid, analisis spektrofotometri UV-Vis dan inframerah

Spektrofotometri UV-Vis

Data panjang gelombang absorpsi dan absorbansi dipaparkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data spektrofotometri UV-Vis (panjang gelombang absorpsi dan absorbansi) dari isolat

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
268,2	1.235
312,9	0.358

Berdasarkan spektrum UV-Vis dari isolat dalam MeOH dihasilkan 2 pita serapan, yaitu pita I terletak pada panjang gelombang 312,9 nm dan pita II terletak pada panjang gelombang 268,2 nm. Dari spektrum yang diperoleh diduga isolat ini mengandung senyawa flavon atau isoflavon, karena kedua senyawa tersebut memberikan rentang serapan pada pita I 310 nm-350 nm dan pita II 250 nm-280 nm (flavon) dan pita I 310 nm-330 nm dan pita II 245 nm-275 nm (isoflavon), namun dari warna yang ditunjukkan pada uji fitokimia menunjukkan bahwa isolat mengandung senyawa flavonoid golongan isoflavon.

Tabulasi panjang gelombang absorpsi dan pergeseran absorpsi spektrum UV-Vis dari isolat dengan penambahan pereaksi geser dipaparkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Data spektrum spektrofotometri UV-Vis (panjang gelombang absorpsi dan pergeseran absorpsi) dari isolat dengan penambahan pereaksi geser

Pereaksi	Panjang gelombang absorpsi (nm)		Pergeseran absorpsi (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
MeOH	312,9	268,2	-	-
MeOH + NaOH	312,9	268,2	-	-
MeOH + NaOH (stl 5 menit)	322,0	275,3	+9,1	+7,1
MeOH + AlCl ₃	326,8	282,0	+13,9	+13,8
MeOH + AlCl ₃ + HCl	323,1	284,1	+10,2	+15,9
MeOH + NaOAc	321,6	273,2	+8,7	+5
MeOH + NaOAc + H ₃ BO ₃	328,2	279,6	+15,3	+11,4

Setelah penambahan pereaksi geser natrium hidroksida dan didiamkan selama lima menit, maka terjadi pergeseran bathokromik pada pita II sebesar +7,1 nm dan pada pita I sebesar +9,1 nm, serta terjadinya penurunan kekuatan serapan. Hal ini menunjukkan bahwa isolat mengandung senyawa isoflavon, dimana pada cincin B mengandung gugus orto-diOH. Penambahan pereaksi geser aluminium klorida menyebabkan terjadinya pergeseran bathokromik sebesar +13,8 nm pada pita II. Hal ini menunjukkan bahwa isolat mengandung senyawa isoflavon yang mengandung gugus OH pada posisi 5. Penambahan pereaksi geser aluminium klorida-asam klorida terjadi pergeseran bathokromik pada pita II sebesar +15,9 nm yang menunjukkan adanya senyawa isoflavon dalam isolat yang mengandung gugus orto-diOH pada cincin A (6,7 dan 7,8). Penambahan pereaksi geser natrium asetat menyebabkan terjadi pergeseran bathokromik pada pita II sebesar +5 nm yang menunjukkan adanya gugus 7-OH. Penambahan pereaksi geser Natrium asetat dan didiamkan selama lima menit

menunjukkan kekuatannya menurun dengan bertambahnya waktu. Hal ini menunjukkan adanya gugus yang peka terhadap basa, seperti gugus OH pada posisi 3,4,-diOH. Pada penambahan pereaksi geser natrium asetat-asam borat terjadi pergeseran bathokromik pada pita I sebesar +15,3 nm dan pita II sebesar +11,4 nm yang menunjukkan terdapat gugus o-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8).

Spektrofotometri Inframerah

Data bilangan gelombang, bentuk pita, intensitas, dan penempatan gugus-gugus terkait dipaparkan pada Tabel 3.

Pada data spektrum inframerah, terlihat bahwa pola spektrum senyawa yang diperoleh menunjukkan serapan tajam namun intensitasnya lemah pada daerah bilangan gelombang 3011,0 cm⁻¹, yang diduga adalah serapan C-H aromatik. Dugaan ini diperkuat oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1378,4 cm⁻¹ dan 723,5 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya C-H alifatik dan C-H aromatik.

Tabel 3. Data spektrum spektrofotometri inframerah (gelombang, bentuk pita, intensitas, dan penempatan gugus terkait) dari isolat.

Bilangan gelombang isolat	Bilangan gelombang teori	Bentuk pita	Intensitas	Penempatan gugus
3011,0	3000 - 3450	Tajam	Lemah	C-H aromatik
2926,8	2700 - 3000	Tajam	Kuat	C-H alifatik
2855,1	2700 - 3000	Tajam	Sedang	C-H alifatik
1711,7	1650 - 1900	Tajam	Sangat kuat	C=O
1465,9	1400 - 1500	Tajam	Sedang	C=C aromatik
1378,4	1300 - 1400	Rendah	Lemah	C-H alifatik
1285,4	800 - 1300	Melebar	Lemah	C-O
939,0	650 - 1000	Melebar	Lemah	C=C
723,5	700 - 900	Tajam	Sedang	C-H aromatik

Pita serapan pada daerah bilangan gelombang 2926,8 cm^{-1} dan 2855,1 cm^{-1} diduga adalah C-H alifatik. Hal ini diperkuat oleh adanya serapan pada bilangan gelombang 1378,4 cm^{-1} yang menunjukkan pula C-H alifatik. Pita serapan pada daerah bilangan gelombang 1711,7 cm^{-1} adalah ciri khas adanya C=O. Serapan pada daerah bilangan gelombang 1285,4 cm^{-1} menunjukkan adanya C-O, Sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 939,0 menunjukkan adanya ikatan C-O. Pada spektrum inframerah tidak terdapat gugus OH. Hal ini diakibatkan oleh terjadinya ikatan hidrogen antar gugus OH yang mengambil posisi berdekatan (posisi orto). Sehingga dari data spektrum inframerah, menunjukkan bahwa isolat mempunyai gugus fungsi C-H aromatik, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, dan C-O.

Dari data spektrofotometri UV-Vis dan inframerah maka diduga senyawa flavonoid yang terdapat pada isolat adalah senyawa flavonoid golongan isoflavon, dengan tidak terdapatnya gugus OH bebas pada cincin A, serta mengandung gugus o-diOH pada cincin A.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa Isolat n-heksana relative murni diduga termasuk senyawa flavonoid golongan isoflavon dengan panjang gelombang pada pita I 312,9 nm dan 268,2 nm

pada pita II, mempunyai gugus fungsi C-H aromatik, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O dengan tidak terdapatnya gugus OH bebas pada cincin A serta mengandung gugus o-diOH pada cincin A.

Saran

Untuk dapat menentukan struktur senyawa golongan flavonoid dari isolate dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mempergunakan metode spektrofotometri $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan MS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dra. Emmy Sahara, M.Sc.(Hons), Bapak I Wayan Gede Gunawan, S.Si., M.Si., dan Bapak Anak Agung Bawa Putra, S.Si., M.Si. atas saran dan masukannya, serta Bapak Drs. I Gusti Agung Gede Bawa, M.Si., dan Fitri Dhani Wantari, S.Si. atas pengerjaan penelitian dan penulisan laporan data penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Aak, K., 1989, *Kacang Tanah dan Kedelai*, Kanisius, Yogyakarta

- Gritter, R. J., Bobbit, J. M., Schwarting, A. E., (1991), *Pengantar Kromatografi*, Terjemahan Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.
- Harborne, J. B., (1987), *Metode Fitokimia (Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan)*
- Heinnermen, J., 2003, *Khasiat Kedelai Bagi Kesehatan Anda*, Prestasi Pustakarya, Jakarta.
- Hossettman, K., marston, A., (1995), *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam*, Penerbit ITB, Bandung.
- Koswara. S, 1992, *Teknologi Pengolahan Kedelai*, Penerbit Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.
- Lamina, 1989, *Kedelai dan Pengembangannya*, CV. SIMPLEX, Jakarta
- Liu, K. S., 1999, *Soybeans: Chemistry, Teknologi and Utilization*. An Aspen Publication
- Mabry T. J., Markham.K. R., dan Thomas M. B.,1970, *The Systematic Identification of flavonoids*, Springer-Verlag, New York. Heidelberg. Berlin.
- Markham, K. R., (1988), *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung.
- Sastroamidjojo, H., (1999), *Spektroskopi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Sastroamidjojo, H., (2001), *Spektroskopi Inframerah*, Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Sastroamidjojo, H., (1991), *Kromatografi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Soetarno, S., Sutisna, M., (1990), *Senyawa Fenol Tumbuhan Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati*, ITB, Bandung.
- Suradikusumah, E., (1989), *Kimia Tumbuhan*, DepdikBud, IPB, Bogor.
- www.Geogle.com, 2005, *Isoflavon makanan ajaib*, RS. Jombang, Surabaya