

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Kedelai

Kedelai (*Glycine max L*) dikenal dengan berbagai nama daerah antara lain sojaboom, soja, sojabohne, soybean, kedelai, kacang gambol, kacang bulu, kacang remang, dan lain-lain (Rukmana, 1995). Didalam kedelai terkandung metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai obat yang berperan dalam menjaga dan memperbaiki sistem fisiologi maupun mencegah penyakit (Asih, 2007).

2.1.1 Taksonomi Kedelai (*Glycine max L*)

Menurut Rukmana (1995), klasifikasi tanaman kedelai adalah sebagai berikut:

Kindom Plantae

Divisi Spermatophyta

Subdevisi Angiospermae

Kelas Dicotyledonae

Ordo Polypetales

Subordo Rosineae

Famili Leguminoseae

Subfamily Papilioneideae

Genus *Glycine*

Spesies *Glycine max (L.) Merill*

2.1.2 Morfologi Tanaman Kedelai (*Glycine max*)

Menurut Rukmana (1995), tanaman kedelai memiliki fungsi sebagai bahan penurun kolesterol. Karena dalam kedelai terdapat serat maupun asam lemak tidak jenuh yang sangat tinggi (Pitojo, 2003). Akar kedelai (*Glycine max L*) berupa akar tunggang yang membentuk cabang-cabang akar. Batang tanaman kedelai (*Glycine max L*) pendek (30-100 cm), memiliki cabang 3-6 percabangan dan berbentuk tanaman perdu. Daun tunggal yang memiliki tangkai pendek dan berbentuk oval, tipis dan berwarna hijau. Bunga sempurna dan penyerbukan bersifat sendiri (Hermaprodit). Buah kedelai berbentuk polong. Biji terdapat didalam polong dan berkeping dua terbungkus oleh kulit tipis. Embrio terletak diantara keping biji (Rukmana, 1995).

2.2 Kultur Kedelai (*Glycine max L*) secara In Vitro

Teori perbanyakan secara In Vitro berawal dari teori totipotensi dimana setiap sel tanaman memiliki informasi genetika lengkap sehingga mampu beregenerasi membentuk tanaman lengkap apabila di tumbuhkan dalam lingkungan yang sesuai. Bagian tanaman yang dapat di gunakan sebagai eksplan dalam kultur jaringan bisa di ambil dari hipokotil, daun muda, embrio muda, dan embrio matang (Zulkarnain, 2009). Sedangkan menurut Sasmitamihardja (1990), sel somatik dari tumbuhan jika diberikan kondisi yang baik dan tepat dapat berkembang menjadi tumbuhan yang baru dan utuh. Hal ini disebabkan karena mereka memiliki potensi yang penuh untuk berkembang.

Menurut Andaryani (2010), Perbanyak tanaman melalui kultur jaringan (*in vitro*) menawarkan peluang besar untuk menghasilkan jumlah bibit tanaman yang banyak dalam waktu relatif singkat sehingga lebih ekonomis. Teknik perbanyak tanaman ini dapat dilakukan sepanjang waktu tanpa tergantung musim. Selain itu, perbanyak tanaman dengan teknik *in vitro* mampu mengatasi kebutuhan bibit dalam jumlah besar, serentak, dan bebas penyakit sehingga bibit yang dihasilkan lebih sehat serta seragam.

Tanaman yang ditanam pada media agar akan membentuk kalus yaitu masa sel yang tidak tertata. Sel yang berasal dari spesies tanaman apapun dapat dibiakkan atau dikulturkan dalam medium hara. Kultur biasanya dapat dimulai dengan menanamkan satu iris jaringan steril pada medium hara yang didapatkan dengan agar. Dalam waktu 2-3 minggu akan membentuk kalus. Hara terdiri atas komponen utama dan komponen tambahan. Komponen utama meliputi garam mineral, sumber karbon (gula) vitamin dan ZPT. Sedangkan komponen tambahan meliputi asam organik metabolit dan ekstrak tambahan yang tidak mutlak keberadaannya tapi dapat menguntungkan ketahanan sel dan perbanyak (Wetter dan Constabel, 1982). Penerapan kultur jaringan tumbuhan mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan dengan kegunaan konvensional. Keuntungan-keuntungan tersebut, antara lain (a) dapat dibentuk senyawa bioaktif, (b) bebas dari kontaminasi mikroba, (c) setiap sel dapat diperbanyak untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder tertentu, (d) pertumbuhan sel terawasi dan proses metabolismenya dapat diatur secara

rasional, (e) tidak bergantung kepada kondisi lingkungan seperti keadaan geografi, iklim dan musim (Fitriani, 2003).

2.3 Kultur Kalus

Kalus merupakan sekumpulan massa sel yang belum terdiferensiasi menjadi organ dari tanaman. Proses terjadinya kalus tergantung pada bagian tanaman yang dipakai sebagai eksplan dan zat tanam yang ditambahkan pada media dasar. Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Kalus yang baik diasumsikan memiliki tekstur remah (*friable*). Tekstur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, di samping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu : kompak (*non friable*), *intermediet* dan remah (*friable*) (Andaryani, 2010).

ZPT yang biasa digunakan adalah 2,4-D dari golongan auksin untuk menginduksi kalus. Auksin berperan dalam pembentukan kalus, morfogenesis akar dan tunas serta embriogenesis. Pemilihan konsentrasi dan jenis auksin ditentukan antara lain oleh tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikehendaki. Penggunaan auksin umumnya digunakan untuk induksi kalus embriogenik. Selain itu, jenis dan konsentrasi hormon, jenis asam amino serta rasio auksin dan sitokinin sangat menentukan dalam menginduksi pembentukan kalus (Ma'rufah. 2008). Menurut Gunawan (1987), kalus dapat

diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula.

Agar kalus dapat dijaga pertumbuhannya dan dapat diperbanyak secara berkesinambungan, maka perlu dipindahkan secara teratur pada media baru dalam jangka waktu tertentu (subkultur). Terdapat lima fase pertumbuhan kalus, yaitu (1) Fase lag, dimana sel-sel mulai membelah, (2) Fase eksponensial, dimana laju pembelahan sel berada pada puncaknya, (3) Fase linear, dimana pembelahan sel mengalami perlambatan tetapi laju ekspansi sel meningkat, (4) Fase deselerasi, dimana laju pembelahan dan pemanjangan sel menurun, dan (5) Fase stationer, dimana jumlah dan ukuran sel tetap (Anonnyous, 2009). Sedangkan menurut Bonacin (2000) dalam penelitiannya mengkombinasikan 5 kultivar kedelai (Renascenta, IAS-5, IAC-17, BR-16, dan FT-Cometa) dengan 3 taraf NAA (8,10 dan 12 mg L), menunjukkan bahwa terdapat interaksi yang sangat nyata dalam membentuk embrio somatik.

Menurut Fatmawati (2008) dalam Andryani (2010), kalus yang sebagian besar bertekstur remah pada eksplan daun *A. annua* disebabkan oleh penggunaan 2,4-D dalam media kultur. Hal serupa juga diperoleh pada penelitian Ratnadewi (1991) dalam Andryani (2010), auksin 2,4-D yang dipadukan dengan kinetin 1 mg/l dipakai untuk menginduksi pembentukan dan memperbanyak kalus friable pada tanaman tebu. Terbentuknya kalus yang bertekstur remah dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang telah tumbuh membentuk kalus tersebut.

2.4. Faktor Yang Menentukan Kultur In Vitro

2.4.1 Media

Dalam teknik kultur jaringan media sangat mempengaruhi pertumbuhan dari suatu eksplan. Untuk itu dalam membuat media perlu diperhatikan spesifikasi kecocokan bagi jenis tanaman. Media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung nutrisi makro dalam kadar dan perbandingan tertentu, serta sumber tenaga (umumnya sukrosa). (Wattimena, 1990).

Komposisi medium harus disesuaikan dengan jenis tanaman, jenis sel atau jaringan, serta umur jaringan yang akan dikulturkan agar dapat mendukung kehidupan dan pertumbuhan sel, jaringan, atau organ yang dikultur. Karena, masing-masing medium mempunyai komposisi dan kandungan yang berbeda-beda, terutama dalam penggunaan zat pengatur tumbuh. Namun demikian, pada umumnya, medium dasar berupa unsur-unsur makro dan mikro dalam bentuk garam-garam anorganik yang sama atau sedikit mengalami modifikasi (Dyah, 2004). Komposisi medium yang cocok mempunyai komposisi unsur-unsur hara yang dalam bentuk garam, zat pengatur tumbuh, hormon, atau zat pengatur tumbuh agar sel, jaringan, dan organ dapat tumbuh dengan baik (Dyah, 2004).

Hendaryono dan Wijayani (1994) menyebutkan bahwa media padat digunakan untuk tujuan mendapatkan kalus (induksi kalus). Media padat adalah media yang mengandung semua komponen kimia yang dibutuhkan oleh tanaman dan dipadatkan dengan menambahkan zat pematat.

2.4.2 Eksplan

Umumnya bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif karena mempunyai daya regenerasi lebih tinggi, sel-selnya masih aktif membelah diri dan lebih bersih (mengandung lebih sedikit kontaminan) (Yusnita, 2003). Kultur jaringan akan lebih besar prosentase keberhasilannya bila menggunakan jaringan meristem karena terdiri dari sel-sel yang selalu membelah dan dindingnya tipis sehingga bersifat totipotensi yang dibutuhkan dalam pelaksanaan kegiatan kultur jaringan (Santoso dan Nursandi, 2001).

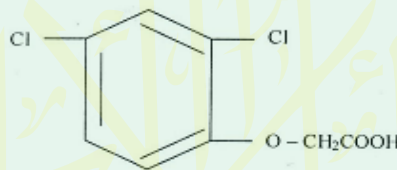
Pada umumnya, semua bagian tanaman dapat digunakan sebagai sumber bahan untuk kultur jaringan. Namun, tidak semua jaringan tanaman tersebut mudah untuk ditumbuhkan (Widiastoety, 2001). Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah biji atau bagian-bagian biji seperti kotiledon, tunas pucuk, potongan batang, potongan akar, potongan daun, potongan umbi batang, empulur batang, umbi lapis dengan sebagian batang, dan bagian bunga (Yusnita, 2003).

2.4.3 Zat Pengatur Tumbuh

ZPT pada tanaman adalah senyawa organik yang bukan termasuk unsur hara (nutrisi), yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung (promote) dan dapat merubah proses fisiologis tumbuhan (Abidin, 1985). Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk menginduksi pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ (Livy, 1988). Sedangkan menurut Zulkarnain

(2009), auksin dapat membantu pemanjangan sel, pembelahan sel dan pembentukan akar.

Auksin menginisiasi pemanjangan sel dengan cara mempengaruhi fleksibilitas dinding sel dan memacu protein tertentu yang ada dimembran plasma untuk memompa ion H^+ kedinding sel. Ion H^+ mengaktifkan enzim tertentu sehingga memutuskan ikatan silang hydrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Sel tumbuh memanjang akibat air yang masuk secara osmosis. Sel terus tumbuh dengan mensintesa kembali mineral dinding sel dan sitoplasma (Widiarti. 2009)



Gambar 2.1 struktur Kimia 2,4-D (Amaliah. 2010)

Hormon 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic Acid*) dari hasil penelitian terungkap bahwa memberi pengaruh signifikan terhadap pembentukan, pertumbuhan dan regenerasi kalus yang terkait dengan diferensiasi, dan peningkatan kompetensi sel. Pada tahap berikutnya berubah menjadi sel-sel meristematik yang aktif membelah hingga membentuk kalus (Winarto. 2010).

Inisiasi kalus pada *Portulaca grandiflora* menggunakan 2,4-D 0.25 mg/l mampu menghasilkan kalus primer (Rahayu. 2008). Selain itu, hasil penelitian Amien *et al* (2009), respon terbaik dalam menginduksi kalus dengan penambahan 2,4-D diketahui pada konsentrasi 0,5 mg/L pada medium MS.

Sedangkan hasil penelitian Gangga (2007), kalus biji buah mahkota dewa yang ditanam pada media MS dengan penambahan 2,4-D tumbuh optimal pada konsentrasi 2 ppm/L. Untuk induksi kalus kacang tanah pada media MS dengan penambahan 2,4-D, eksplan mampu tumbuh pada konsentrasi 2,4-D 1 mg/l (Tyagi *et al*, 1993).

2.5 Produksi Senyawa Metabolit Sekunder dengan Teknik Kultur Jaringan

Metabolit sekunder merupakan hasil metabolis yang memiliki kriteria khusus dalam makhluk hidup dan diperoleh melalui jalur khusus dari metabolit primer seperti karbohidrat, lemak, dan asam amino. Metabolit skunder dibentuk untuk meningkatkan pertahanan diri (Harbert, 1995), dan sumber senyawa yang mempunyai aktifitas farmatikal. Metabolit sekunder memiliki peran ekologis dalam tubuh tumbuhan diantaranya sebagai (Rao, 2002):

- a. Melindungi tumbuhan dari serangan herbivore dan infeksi oleh mikroba pathogen.
- b. Bertindak sebagai polinator pada benih yang penyerbukannya dibantu oleh binatang.

Kultur jaringan dapat digunakan sebagai sarana penghasil metabolit sekunder. Hal ini karena metabolit sekunder merupakan hasil dari proses biokimia yang terjadi dalam tanaman, sedangkan proses tersebut juga terjadi pada proses kultur jaringan. Menurut Hendaryono (1994), metabolit yang

dihasilkan oleh kalus memiliki kadar yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan cara biasa (langsung dari tanaman). Sedangkan menurut Amini dkk (1987) dalam Parti (2004), penggunaan metode kultur jaringan untuk menghasilkan metabolit sekunder memiliki beberapa keuntungan antara lain:

- a. Dapat diambil langsung dari kalus atau suspense sel sehingga tidak perlu dari tanaman asal.
- b. Waktu yang dibutuhkan untuk memperoleh metabolit sekunder dalam teknik kultur jaringan lebih singkat.
- c. Kadar metabolit sekunder dalam kultur jaringan dapat ditingkatkan dengan beberapa cara antara lain penambahan elisitor dan prekursor kedalam media, memakai media yang lebih sesuai atau mengubah komponen media.

Dari hasil penelitian Aziz (2006), metabolit sekunder juga dapat diperoleh secara In Vitro pada tanaman *Eurycoma longifolia* Jack atau yang biasa dikenal dengan nama pasak bumi. Tanaman tersebut diketahui mengandung bahan-bahan kimia aktif hasil metabolisme sekunder dan mempunyai aktivitas biologi yang berguna untuk kesehatan seperti tonik setelah melahirkan, mengobati gusi berdarah, sakit kepala, menyembuhkan luka dan gatal-gatal pada kulit. Hasilnya menunjukkan bahwa tumbuhan *E. longifolia* Jack dapat dihasilkan melalui kultur kalus dan suspensi sel dengan kandungan yang lebih tinggi dibanding dengan akar tumbuhan induk *E. longifolia* Jack. Selain pada *Eurycoma longifolia* metabolit sekunder juga di temukan pada daun katu yang dapat digunakan sebagai digunakan untuk pengobatan demam, bisul,

dan memperlancar ASI. Setelah dilakukan identifikasi salah satu senyawa flavonoid tersebut adalah rutin (Harsodjo. 2003).

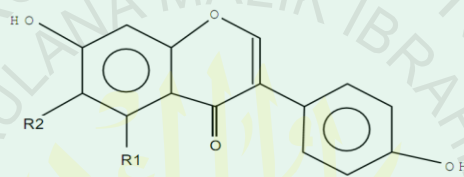
Hasil analisis tentang metabolis sekunder dari kalus mahkota dewa dengan teknik dari golongan alkanoid, flavonoid, saponin dan tiamin (Gangga. 2007). Hasil penelitian tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder juga ditemukan pada kalus dari daun katuk yang ditanam pada media MS. Setelah dikeringkan dan dimaserasi dengan kloroform-metanol menunjukkan profil kimia tanaman yang terkandung didalamnya (Puspitasari. 2002).

2.6 Biosintesa Isoflavon pada Kedelai (*Glycine max*)

Pada kedelai terdapat lima macam isoflavon glikosida yaitu genistin, daidzin, glistein, 0 (7-)-B-D-glukosida, 6'-O-asetilgenistin dan aglikonnya. Senyawa tersebut berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antialergi, pengawet makanan, dan penurun tekanan darah tinggi (Rinawati. 1995).

Isoflavonoid terdiri atas struktur dasar C₆-C₃-C₆ yang secara alami disintesa oleh tumbuh-tumbuhan dan senyawa asam amino aromatik fenilalanin atau tirosin. Biosintesa isoflavonoid berlangsung secara bertahap dan melalui sederetan senyawa antara lain yaitu asam sinamat, asam kumarat, kalkon, flavon dan isoflavon. Berdasarkan biosintesa tersebut maka isoflavon digolongkan sebagai senyawa metabolit sekunder. Isoflavonoid termasuk dalam kelompok flavonoid (1,2-diarilpropan) dan merupakan kelompok yang terbesar dalam kelompok tersebut (Hernawati. 2009). Sedangkan menurut Markhame

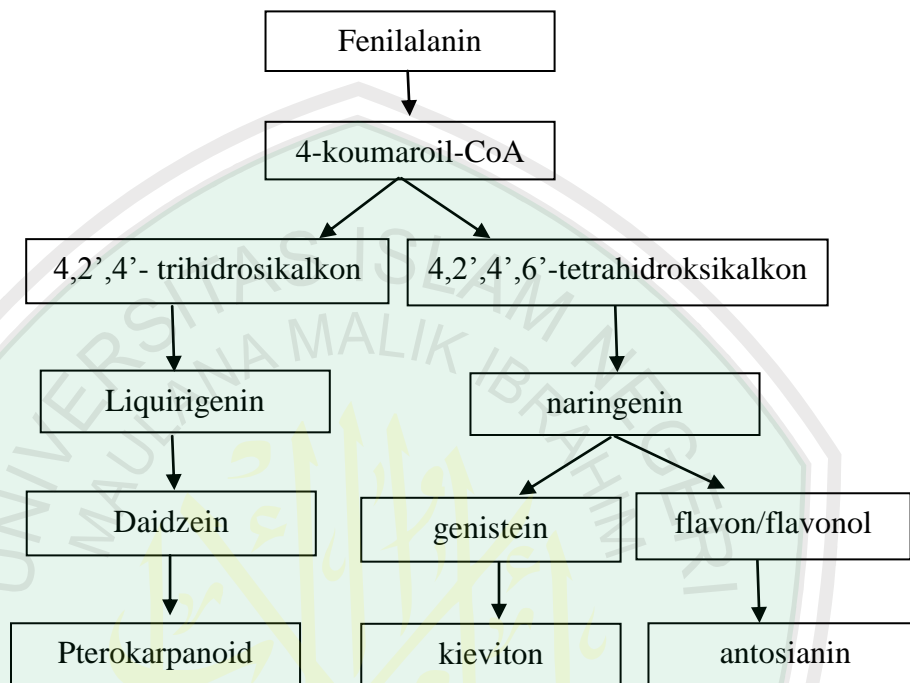
(1982), isoflavonoid termasuk golongan senyawa flavonoid tersusun atas kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon sebagai inti dasarnya. Kelima belas atom tersebut membentuk dua cincin aromatik (C6) yang terikat pada rantai propana (C3) sehingga membentuk susunan C6-C3-C6. Dari susunan ini dapat dihasilkan tiga jenis struktur yaitu 1,3-diarilpropana atau flavonoid, 1,2-diarilpropana atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropana atau neoflavonoid.



Gambar 2.2 Struktur Dasar Isoflavon

Dalam kedelai isoflavon berbentuk senyawa konjugat dengan senyawa gula melalui ikatan -O- glikosidik. Selama proses fermentasi, ikatan -O- glikosidik terhidrolisa, sehingga dibebaskan senyawa gula dan isoflavon aglikon yang bebas. Senyawa isoflavon aglikon dapat mengalami transformasi lebih lanjut dengan membentuk senyawa-senyawa yang mempunyai aktifitas biologi (Hernawati et al, 2009). Dijelaskan juga oleh Utomo (2004) bahwa isoflavonoid terakumulasi dalam jaringan tanaman bisa disebabkan berbagai faktor internal maupun eksternal. Faktor internal berasal dari aktivitas gen-gen dari tanaman tersebut, sedangkan faktor eksternal adalah kondisi lingkungan dimana tanaman itu tumbuh. Senyawa isoflavon pada kedelai terbentuk secara konjugat dengan senyawa gula melalui ikatan -O- glikosidik.

Selama proses fermentasi, ikatan -O- glikosidik terhidrolisis, sehingga dibebaskan senyawa gula dan isoflavon aglikon yang bebas.



Gambar 1. Jalur Biosintesa Isoflavonoid (Utomo, 2004)

Menurut Durango dalam Amaliah (2010), biosintesis isoflavon diawali dari pembentukan fenilalanin sebagai prekursor utamanya yang dihasilkan dari asam shikimat, kemudian akan membentuk cincin B aromatik yang terikat pada rangkaian 3 atom karbon melalui jalur shikimat. Sedangkan untuk deaminasi enzimatis yang dikatalis oleh FAL terjadi dengan hilangnya gugus amina dan pro-hidrogen-S dari asam amino tersebut sehingga menghasilkan trans-sinamat sebagai prekursor cincin B. Asam trans sinamat diubah menjadi kumarat melalui hidroksilasi dan kondensasi p-kumaril koenzim A dengan tiga molekul malonil koenzim A (unit asetat). Reaksi ini dikatalis oleh enzim kalkan sintase (chalkon synthase

atau CHS) dan menghasilkan kalkon. Kalkon merupakan senyawa intermediet biosintesis isoflavon. Kalkon dapat menjadi genistein maupun daidzein. Kalkon mengalami reaksi isomerasi menjadi naringenin (5,7,4-trihidroksiflavonon), yang selanjutnya menjadi genistein dengan katalis isoflavon sintase. Kalkon juga dapat mengalami reduksi menjadi isoliquiritigenin (4,2,4-trihidroksikalkon), lalu mengalami perubahan struktur dengan katalis enzim kalkon isomerase menjadi liquiritigenin (7,4- dihiroksiflavonon), yang akhirnya menghasilkan daidzein (Bhat *et al*, 2005).

2.7 Sifat Genetik Kedelai

Perbedaan varietas cukup besar mempengaruhi perbedaan sifat dalam tanaman. Keragaman penampilan tanaman terjadi akibat sifat dalam tanaman (genetik) atau perbedaan lingkungan. Keragaman sifat disebabkan oleh perbedaan gen yang dibawa oleh masing-masing individu yang disebabkan oleh perbedaan lingkungan dimana individu berada. Menurut Harbert (1995), metabolit sekunder dibentuk untuk meningkatkan pertahanan diri dan sumber senyawa yang mempunyai aktifitas farmatikal. Aktivitas farmakologi dari flavonoid berfungsi sebagai anti-inflamasi, analgesi dan anti-oksidan. Mekanisme anti-inflamasi terjadi melalui efek penghambatan pada jalur metabolisme asam arakhidona, pembentukan prostaglandin dan pelepasan histamine.

Menurut ukuran biji, varietas kedelai dibedakan ke dalam varietas berbiji kecil (<10 g/100 biji), sedang (10-12 g/100 biji), dan besar (>12

g/100 biji). Karakter kimiawi pada biji kedelai umumnya dikendalikan oleh sifat genetik, sehingga pendekatan genetik untuk perbaikan kualitas biji memiliki peluang keberhasilan tinggi (Muchlish, 2006), selain itu juga dijelaskan bahwa strategi perbaikan untuk peningkatan isoflavon pada kedelai di Indonesia dapat diarahkan pada perbaikan kedelai berbiji besar (Argomulyo, Burangrang, Brono, Mahameru dan Anjasmoro) dan kedelai berbiji sedang (Wilis, Kaba, Sinabung dan sebagainya).

Kedelai varietas Detam merupakan kedelai hasil persilangan dari varietas unggul yang memiliki kadar protein cukup tinggi, namun ukuran bijinya relatif kecil. Menurut Setyastuti (2004), kedelai berkulit hitam mengandung banyak antosianin. Antosianin tinggi mempunyai aktivitas antioksidan besar, juga mempunyai kandungan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan O₂. Ekstrak kedelai hitam yang direbus mengandung liver tert-butyl hydroperoxide yang tinggi dan mencegah kuat generasi dari thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) yang menyebabkan gangguan pada hati. Umumnya varietas memiliki biji besar dan berwarna kuning, seperti Anjasmoro, bahkan lebih besar kadar proteinnya dibanding kedelai impor. Kedelai Anjasmoro merupakan hasil seleksi massa dari populasi galur murni Mansuria, memiliki warna kulit biji kuning, berat 100 biji berkisar antara 14.8 – 15.3 gram, kandungan protein 41.78 – 42.05% dan kandungan lemak 17.21 – 18.60%. sedangkan varietas biji sedang digunakan kedelai Tidar hasil seleksi dari mutan B 1682, introduksi dari AVRDC Taiwan. Kedelai Tidar memiliki warna kulit biji hijau dengan bobot 100 biji berkisar antara 7 gram,

bentuk biji oval dan memiliki kandungan protein 37% dan kandungan lemak 20%. Sedangkan kedelai varietas Wilis berasal dari seleksi keturunan persilangan Orba dengan No. 1682. Memiliki warna kulit biji kuning, bentuk biji oval dan agak pipih, bobot 100 biji berkisar ± 10 g, dan memiliki skandung protein 37,0% dan kandungan minyak 18,0%.

Tabel 1. Ukuran biji (bobot 100 biji) dan komposisi kimia beberapa varietas/galur kedelai (Erliana et.al, 2009)

Vaietas/ galur	Bobot biji (g)	Warna kulit biji	Protein (% bk)	Lemak	Potensi hasil (t/ha)	Tahun lepas
Argomulyo	18-19	Kuning	37-40,20	19,30- 20,80	2	1998
Grobogan	18	Kuning	43,90	18,40	3,40	2008
Panderman	15-17	Kuning	36,90	17,70	2,40	2003
Burangrang	14,90-17	Kuning	39-41,60	20	2,50	1999
Kedelai import	14,80- 15,80	Kuning	35-36,80	21,40- 21,70	-	-
Bromo	14,40- 15,80	Kuning	37,80- 42,60	19,50	2,50	1998
Anjasmoro	14,80- 15,30	Kuning	41,80- 42,10	17,20- 18,60	2,30	2001
Detam-1	14,80	Hitam	45,50	13,10	3,50	2008
Detam-2	13,50	Hitam	45,60	14,80	3	2008
Tampomas	10,90-11	Kuning	34-41,20	18-19,60	1,90	1992
Cikutay	9,10-11	Kuning	35-42,40	17-19	1,70	1992
Willis	8,90-11	Kuning	37-40,50	18-18,80	1,60	1983
Kawi	10,10- 10,50	Kuning	38,50- 44,10	16,60- 17,50	2	1998
Mallika	8-9,50	Hitam	37	20	2,90	2007
Merapi	8-9,10	Hitam	41-42,60	7,50-13	1	1938
Krakatau		Kuning	36-44,30	16-17	1,90	1992

Hasil penelitian Renitya (2010) menunjukkan bahwa, kedelai hitam selain unggul Antosianinnya juga mengandung isoflavon dan mineral Fe lebih tinggi dibandingkan kedelai kuning. Antosianin kedelai hitam berfungsi sebagai

antioksidan dan meningkatkan ketajaman penglihatan. Sedangkan kedelai berwarna kuning mengandung isoflavon sebesar <1-3 mg/g protein dan mengandung <25-40 mg isoflavon. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Mercedes (2009), menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kandungan isoflavon yang berbeda pada beberapa varietas kedelai yang terdapat di Brazil dan dipengaruhi oleh faktor genetik. Perbedaan genetik ternyata mempengaruhi konsentrasi isoflavon yang diamati dari beberapa kultivar kedelai yang tumbuh pada lokasi dan tahun tanam yang sama. Selain itu konsentrasi isoflavon kedelai juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Kandungan isoflavon tertinggi diperoleh pada varietas kedelai jenis Guarapuava, Canoinhas, Vacaria dan Campos dengan nilai isoflavon 130- 409 mg/100 g. Sedangkan menurut Juan (2009), terdapat pengaruh genetik dan juga lingkungan yang menyebabkan perbedaan pada kandungan genistein, daidzain dan total isoflavon.

Hasil penelitian tentang perbedaan kandungan isoflavon pada beberapa varietas kedelai yang dilakukan oleh Joo Lee (2004) melaporkan bahwa pada 15 varietas yang ditanam pada tiga lokasi (Seoul, Suwon dan Kyongsan) di Korea pada tahun 1998-2000, menyebutkan bahwa adanya interaksi genotipe dengan lingkungan merupakan faktor utama yang menjadikan perbedaan isoflavon dalam biji kedelai dan kedelai varietas Geomjeong memiliki total isoflavon lebih tinggi jika dibandingkan dengan yang lainnya.

2.8 Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Isoflavon Dengan Kromatografi

Lapis Kolom

Ekstraksi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Isoflavon merupakan senyawa yang larut dalam air, sehingga dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap berada dalam lapisan air setelah ekstrak dikocok dengan eter. Flavonoid merupakan senyawa fenol, sehingga bila ditambah basa atau amonia dapat dengan mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harborne, 1987).

Kromatografi merupakan teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan perambatan komponen dalam medium tertentu. Pemisahan komponen secara kromatografi kolom dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase stasioner dan cairan (pereaksi) sebagai fase mobil untuk mengetahui banyaknya komponen contoh yang keluar melalui kolom. Pengisian kolom dilakukan dengan memasukkan adsorben dalam bentuk larutan (slurry), dan partikelnya dibiarkan mengendap. (Himam, 2008).

Kromatografi kolom atau tabung merupakan salah satu jenis pemisahan dengan menggunakan prinsip aliran zat cair (pelarut) yang dipengaruhi oleh gaya tarik bumi (gravitasi bumi) atau dikenal dengan sistem bertekanan rendah biasanya terbuat dari kaca yang dilengkapi keran jenis tertentu pada bagian bawahnya untuk mengatur aliran pelarut. Pada dasarnya cara ini meliputi penempatan campuran flavonoida (berupa larutan) di atas kolom yang berisi

serbuk penyerap (seperti selulose, silika, atau poliamida), dilanjutkan dengan elusi beruntun setiap komponen memakai pelarut yang cocok. Kolom yang digunakan umumnya terbuat dari kaca yang dilengkapi dengan keran pada salah satu ujung, dan ukurannya sedemikian rupa sehingga nisbah garis tengah terhadap panjang kolom dalam rentang 1:10 sampai 1:30. Kemasan kolom harus dipilih dari jenis yang dipasarkan khusus untuk kromatografi kolom karena ukuran partikel penting. Jika ukuran partikel terlalu kecil, laju aliran pengelusi mungkin terlalu lambat, sedangkan bila terlalu besar, mungkin pemisahan komponen secara kromatografi tidak baik. Kemasan niaga biasanya dalam ukuran 100-300 mesh (Markham,1988).

2.9 Pemanfaatan Tanaman dalam Prespektif Islam

Allah SWT sebagai Tuhan mempunyai tanda-tanda kebesaran-Nya berupa hasil-hasil ciptaan-Nya, berupa langit dan bumi dan apa yang ada di dalam keduanya, apa yang ada di antara keduanya. Termasuk juga kejadian-kejadian yang berlangsung dalam makhluk-Nya tersebut. Kemudian Allah menyuruh untuk memikirkan tanda-tanda kekuasaan-Nya tersebut, termasuk pada tanaman dan tumbuhan (As-Sa'dy, 2007).

Tumbuhan merupakan salah satu dari ciptaan Allah SWT yang banyak manfaatnya kepada manusia. Al-Qur`an menyebutkan bahwa sejumlah tumbuhan dapat memberikan manfaat pada tubuh manusia dalam berbagai cara. Begitu pula dengan tanaman kedelai, banyak manfaat dan kegunaannya. Selain digunakan sebagai bahan pangan ternyata dalam kedelai terkandung senyawa yang bersifat sebagai obat. Sehingga

perlu dilakukan usaha penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan kedelai sebagai obat ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam surat Ali Imron ayat 191 yang berbunyi :

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ
وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَطِلًا سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya

“ Orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (serayaberkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka ” (QS. Ali Imron191).

Allah SWT menciptakan segala sesuatu sesuai kehendak-Nya dengan maksud dan tujuan tertentu sesuai dengan kadarnya. Allah menciptakan semua yang ada di dunia ini tidaklah sia-sia dari yang kecil hingga yang besar. Makhluk hidup (hewan, tumbuhan dan lain-lain) semuanya dapat dimanfaatkan oleh manusia jika manusia itu mau untuk berfikir.

Menurut tafsir Nurul Quran (Imani, 2005) dijelaskan bahwa Allah telah menciptakan segala macam tanaman sebagai tanda-tanda kekuasaan Allah dan sebagai bahan untuk berfikir agar dapat tercipta kemaslahatan bagi seluruh umat. Penjelasan di atas didukung dengan firman Allah dalam surat Asy-syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

اَوَلَمْ يَرَوْا اِلَى الْاَرْضِ كَمْ اُنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍ ﴿٧﴾

Artinya

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. Asy-Syu'ara:7)

Shihab (2002) memberikan tafsir bahwa Allah menumbuhkan dari bermacam-macam tumbuhan yang baik yakni subur dan bermanfaat. Sebagaimana halnya tanaman kedelai yang di dalamnya banyak memberikan manfaat jika dikonsumsi oleh manusia sebagai makanan, obat-obatan, bahan baku pembuatan sabun dan kosmetik.

Al-Quran bukan hanya petunjuk bagi orang-orang yang bertaqwa, tetapi juga petunjuk bagi orang-orang yang berakal yang mau menggunakan akal pikirannya untuk mempelajari segala sesuatu yang telah Allah SWT ciptakan termasuk tumbuhan-tumbuhan yang beranekaragam, yang masing-masing diantaranya mempunyai manfaat bagi mahluknya. Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan berpotensi sebagai obat. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit, hal ini merupakan anugerah Allah SWT yang harus dipelajari dan dimanfaatkan. Keragaman jenis tumbuhan tersebut menjadikan tumbuhan memiliki berbagai potensi yang berbeda satu sama lain. Seperti yang dijelaskan pada ayat dibawah ini:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا
مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ

وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ

يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya:

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman (Q.S Al-An’aaam: 99).

Firman Allah SWT dalam surat Al-An’aaam ayat 99 yang artinya “Kami menumbuhkan darinya kebun-kebun kurma, zaitun dan delima, ada yang serupa dan tidak serupa”, menjelaskan bahwa Allah menciptakan beragam jenis buah. Setiap jenis buah memiliki rasa dan harum tersendiri meskipun semuanya tumbuh di tanah yang sama. Selain itu, buah-buahan dan sayur-sayuran juga merupakan sumber-sumber vitamin dan nutrisi esensial yang melimpah. Allah SWT menutup surat Al-An’aaam ayat 99 dengan firman-Nya sesungguhnya pada demikian itu, terdapat tanda-tanda yang nyata bagi orang-orang yang beriman, karena orang-orang yang beriman itu hidup, bekerja, berfikir dan memahami sehingga untuk mendapatkan bukti dari ayat tersebut yang dapat menunjukkan kepada mereka perbuatan mengesankan Allah SWT (Al-Jazairi, 2007).

Tafsir Muyassar menjelaskan tentang kandungan surat Al-An’aaam ayat 99 bahwasannya hanya Allah semata yang menumbuhkan setiap tumbuhan hijau dalam air hujan dan mengeluarkan setiap yang tertanam. Kemudian

mengeluarka biji yang bersusun dari tanaman itu, sebagiannya di atas sebagian yang lain. Setiap biji ditata sedemikian rupa dengan bijinya dalam keindahan yang menakjubkan dan ciptaan yang mantap. Allah SWT mengeluarkan kurma basah yang indah lagi mudah dipetik, nikmat rasanya, indah warnanya, bertata seperti permata, manis seperti madu dari mayang kurma. Dengan air, Allah SWT menumbuhkan kebun- kebun anggur, zaitun dan delima yang beraneka warna yang menakjubkan cita rasa yang bervariasi. Semua itu menunjukkan kebijaksanaan Allah yang merancangNya, kekuasaanya-Nya Yang membuatnya. Meskipun warna-warna tidak jauh berbeda, namun rasanya bervariasi. Terkadang, ada yang sama dalam sebagian bentuk, namun rasa dan warnanya berbeda (Al-Qarni, 2008). Banyak diantara tanaman yang sudah dijelaskan dalam Al qur'an bermanfaat untuk pengobatan, diantaranya yaitu :

- a. Anggur, keutamaan buah anggur dijelaskan Firman Allah SWT Q.S An-Nahl ayat 67:

وَمِنْ ثَمَرَاتِ النَّخِيلِ وَالْأَعْنَابِ تَتَّخِذُونَ مِنْهُ سَكَرًا وَرِزْقًا حَسَنًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً
لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿٦٧﴾

Artinya :

Dan dari buah korma dan anggur, kamu buat minuman yang memabukkan dan rezki yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang memikirkan (Q.S An-Nahl: 67).

Aggur termasuk buah-buhan yang terbaik dan paling banyak kegunaannya, bisa dimakan dalam keadaan kering maupun basah, yang hijau

dan masak maupun yang masih mengkal. Anggur akan menjadi obat bila dicampurkan dengan obat (Savitri, 2008).

b. Kurma, Selain anggur dalam hadits Rosulullah SAW bersabda :

”Barangsiapa yang mengkonsumsi tujuh butir kurma di pagi hari (dalam riwayat lain: tujuh butir kurma al-Aliyyah) pada hari itu ia tidak akan terganggu oleh racun ataupun sihir”.

Menurut penelitian yang telah dilakukan bahwa menyantap tujuh butir kurma Ajwah dari kota Madinah dapat memelihara tubuh dari bahaya racun dan sihir. Padahal Rosulullah telah menyampaikan hal tersebut ratusan tahun lalu, dan kini telah menjadi pembuktian dikalangan medis (Al-Khuzaim 2005 dalam Savitri 2008).

c. Delima, dalam hadits dijelaskan bahwa Rasulullah SAW bersabda :

” Makanlah buah delima dan bagian dagingnya sekaligus, karena buah ini berfungsi membersihkan lambung.”

Buah delima berguna untuk tenggorokan, dada dan paru-paru, selain juga baik untuk mengobati batuk. Airnya dapat memperbaiki lambung, memberikan suntikan gizi pada tubuh sedikit lebih banyak. Dan sebagian bahan campuran celak bersama madu dan mengobati luka lama (Savitri, 2008).

a. Habbah sauda’, dalam hadist Al Bukhari meriwayatkan dari Rosulullah SAW.

إِنَّ هَذِهِ الْحَبَّةَ السَّوْدَاءَ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا مِنَ السَّمِّ . قُلْتُ : وَمَا السَّمُّ ؟ قَالَ : الْمَوْتُ .
(رواه البخارى)

Artinya:

“Sungguh Habbah sauda’ adalah obat yang bias menyembuhkan segala penyakit kecuali sam. Saya lalu bertanya mengenai penyakit sam itu? Beliau menjawab, sam adalah kematian” (HR. Al Bukhari)

Penjelasan ayat diatas mengisyaratkan agar kita sebagai makhluk ciptaan Allah yang ada di bumi diharuskan untuk mencari dan mempelajari berbagai tumbuhan yang menjadi rezeki dan memberikan manfaat bagi makhluk hidup. Adanya senyawa kimia dalam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat itu hanyalah satu dari banyak tanda-tanda kekuasaan Allah yang diciptakan- Nya di alam semesta.

Dari kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi inilah, Allah SWT ingin mengetahui sikap manusia sebagai makhluk yang diberi kesempurnaan dengan akal nya, apakah akan beriman, atau sebaliknya menjadi ingkar. Jika menjadi beriman maka manusia mengakui kebesaran sang Khalik sebagai penguasa atau pemilik dan pemelihara alam semesta (Rabbil ‘Alamin). Sebaliknya jika menurutkan hawa nafsunya, bahwa ilmu itu diakui sebagai kehebatan otak atau pikirannya semata, maka manusia akan menjadi ingkar atau kafir.