

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Kedelai (*Glycine max* (L) Merr)

Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) merupakan salah satu tanaman pangan yang sangat penting bagi 208 juta penduduk Indonesia, karena fungsinya sebagai sumber protein nabati, bahan baku industri pakan ternak, dan bahan baku industri olahan pangan (Sudaryanto dan Swastika, 2007).

Kedelai mempunyai kandungan protein sebesar 35% lebih tinggi dibandingkan padi yang hanya sebesar 7%. Selain itu kedelai juga mengandung asam amino seperti metionin, tripsin, dan lisin yang cukup tinggi sehingga dapat diandalkan untuk memenuhi kebutuhan gizi dan bahan pangan bagi manusia (Suprpto, 1997)

2.2 Klasifikasi Kedelai

Menurut Thomas (1992), klasifikasi kedelai adalah sebagai berikut:

Kingdom Plantae

Divisio Spermatophyta

Subdivisio Angiospermae

Kelas Dicotyledoneae

Ordo Rosales

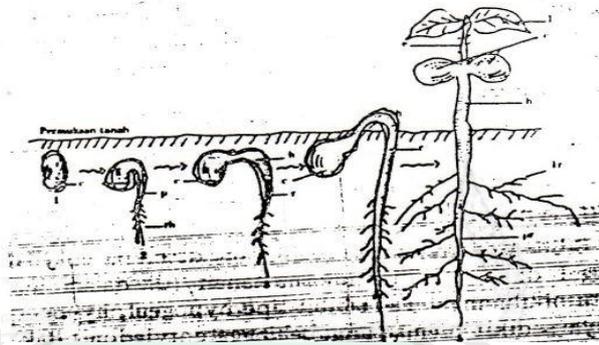
Famili Leguminosae

Genus *Glycine max* (L) Merr)

2.3 Morfologi Kedelai

Kedelai merupakan tanaman semusim, berupa semak rendah dan tumbuh tegak. Tinggi tanaman berkisar antara 30 cm – 100 cm. Batangnya beruas-ruas dengan 3 – 6 cabang. Kedelai memiliki akar tunggang. Sistem perakaran kedelai terdiri dari dua macam, yaitu akar tunggang dan akar sekunder (serabut) yang tumbuh dari akar tunggang. Daun kedelai berbentuk oval. Daun pertama yang keluar dari buku sebelah atas kotiledon berupa daun tunggal yang letaknya bersebrangan (Fachruddin, 2000).

Sistem perakaran kedelai terdiri dari dua macam, yaitu akar tunggang dan akar sekunder (serabut) yang tumbuh dari akar tunggang. Selain itu kedelai juga seringkali membentuk akar adventif yang tumbuh dari bagian bawah hipokotil. Pada umumnya, akar adventif terjadi karena cekaman tertentu, misalnya kadar air tanah yang terlalu tinggi (Wawan, 2006). Hipokotil pada proses perkecambahan merupakan bagian batang, mulai dari pangkal akar sampai kotiledon. Hipokotil dan dua keping kotiledon yang masih melekat pada hipokotil akan menerobos ke permukaan tanah. Bagian batang kecambah yang berada diatas kotiledon tersebut dinamakan epikotil (Wawan, 2006). Biji kedelai yang kering akan berkecambah bila memperoleh air yang cukup. Kecambah kedelai tergolong epigeous (Gambar 2.1), yaitu keping biji muncul di atas tanah. Warna hipokotil kedelai ungu akan berbunga ungu, sedang yang berhipokotil hijau berbunga putih.



Gambar 2.1 Tipe perkecambahan epigeal

Urutan tahap pertumbuhan bibit tipe epigeal tanaman kedelai:

1. Biji kedelai, cadangan disimpan pada kotiledon.
2. Radikal keluar, cadangan disimpan pada kotiledon.
3. Hipokotil (bagian antara radikal dan kotiledon) memanjang agak membesar.
4. Hipokotil membengkok karena aktivitas hormon kemudian mengangkat kotiledon keatas permukaan tanah.
5. Radikal tumbuh menjadi akar primer darimana akar lateral keluar, sehingga berbentuk sistem perakaran permanen yang menjadi pertumbuhan dan kehidupan bibit atau tanaman selanjutnya.

Biji kedelai bekeping dua terbungkus kulit biji dan tidak mengandung jaringan endosperm, embrio terletak diantara keping biji. Warna kulit biji kuning, hijau atau coklat. Puser biji (hilum) adalah jaringan bekas biji melekat pada dinding buah, berwarna coklat tua, kuning, putih atau hitam. Bentuk biji kedelai pada umumnya bulat lonjong, tetapi ada yang bundar atau bulat agak pipih. Besar biji seragam tergantung pada varietasnya (Sumarno, 1986).

Tipe pertumbuhan tanaman kedelai dibedakan menjadi 2 macam yaitu determinate dan indeterminate. Adapun yang dimaksud dengan tipe determinate adalah pertumbuhan tanaman yang ujung batangnya berakhir dengan rangkaian bunga dan batang atau cabang tumbuhnya tidak melilit. Sedangkan yang dimaksud dengan tipe indeterminate adalah tipe pertumbuhan tanaman yang batangnya tidak diakhiri dengan rangkaian bunga sedangkan ujung batangnya melilit (Susila, 2003).

2.4 Kultur *in vitro* Kalus

Kultur jaringan adalah istilah umum yang ditunjukkan dalam budidaya secara *in vitro* terhadap berbagai bagian tanaman yang meliputi batang, akar, bunga, kalus, sel, protoplas, dan embrio. Bagian-bagian tersebut yang diistilahkan sebagai eksplan, diisolasi dari kondisi *in vitro* dan dikultur dalam medium buatan yang steril sehingga dapat beregenerasi dan berdeferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009).

Kultur jaringan mempunyai tiga tujuan yaitu memperbanyak tanaman, produksi metabolit sekunder dan perbaikan kualitas tanaman. Produksi metabolit sekunder dapat dilakukan dengan kultur kalus dan kultur sel. Kultur kalus adalah teknik budidaya tanaman dalam suatu lingkungan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali (Gunawan, 1987).

Dalam budidaya *in vitro*, menginduksi kalus merupakan salah satu langkah penting. Kalus merupakan sekumpulan massa sel yang belum terdeferensiasi menjadi organ dari tanaman. Kalus yang muncul merupakan hasil dari

pembelahan sel-sel yang berada dalam jaringan eksplan. Proses terjadinya kalus tergantung pada bagian tanaman yang dipakai sebagai eksplan dan zat tanam yang ditambahkan pada media dasar. Untuk mendapatkan kalus, zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan adalah 2,4-D dari golongan auksin. Zat pengatur tumbuh dari golongan auksin berperan antara lain 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 dengan daya aktivitas kuat (antara lain 2,4-D, NAA atau dikombinasikan dengan sitokinin dengan konsentrasi rendah) 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, *et. al.* 2008).

Menurut Hos (2008), terdapat tiga tahapan dalam kultur kalus, yaitu tahapan induksi, proliferasi, dan diferensiasi. Tahapan induksi sel pada eksplan yang mengalami dediferensiasi dan memulai pembelahan, pada tahapan proliferasi pembelahan sel terjadi cepat, sedangkan pada tahapan diferensiasi terjadinya proses metabolisme atau organogenesis. Tingkat pertumbuhan dari kalus dapat digambarkan sebagai kurva pertumbuhan yang memiliki lima tahapan (fase). Kondisi kalus berbeda pada tiap tahapan pertumbuhan, yaitu (1) fase lag, dimana sel dalam persiapan membelah; (2) fase eksponen, merupakan pembelahan sel maksimal; (3) fase linear, pembelahan melambat

dan sel memperbesar; (4) fase pertumbuhan menurun; (5) fase stasioner atau tidak ada pertumbuhan, jumlah sel konstan.

Kultur kalus bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali. Kalus diharapkan memperbanyak dirinya secara terus menerus. Sel-sel penyusun kalus adalah sel-sel parenkim yang mempunyai ikatan yang renggang dengan sel-sel lain. Dalam kultur *in vitro*, kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril, di dalam media yang mengandung auksin dan kadang-kadang juga sitokinin (Gunawan, 1988).

Tunas atau kalus yang muncul pada eksplan setelah dikultur disebut propagul. Propagul dapat dikembangkan menjadi banyak propagul lagi. Proses multiplikasi ini memungkinkan menghasilkan propagul yang akan dapat langsung berakar dan akhirnya menjadi satu tanaman. Tanaman steril yang baru yang sudah mempunyai akar dan system pertumbuhan vegetasi (tunas) dihasilkan dari eksplan disebut dengan planlet (Katuuk, 1989).

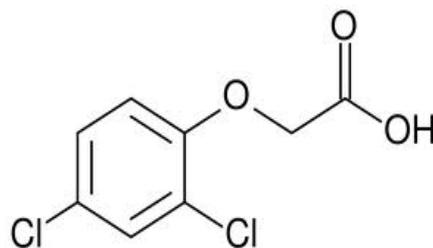
2.5 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan. Zat pengatur tumbuh dapat dibagi menjadi beberapa golongan yaitu golongan auksin, sitokinin, giberelin dan inhibitor. Zat pengatur tumbuh yang tergolong auksin adalah Indol Asam Asetat (IAA), Indol Asam Butirat (IBA), Naftalaen Asam Asetat (NAA) dan 2,4 Dikhlorofenoksiasetat (2,4-D). Zat pengatur tumbuh yang termasuk golongan sitokinin adalah Kinaetin, Zeatin, Ribosil dan Bensil Aminopurin (BAP). Sedangkan golongan giberelin

adalah GA1, GA2, GA3, GA4, dan golongan inhibitor adalah fenolik dan asam absisik (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Zat pengatur tumbuh yang banyak digunakan dalam kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin. Salah satu zat pengatur tumbuh yang digolongkan auksin adalah asam 2,4-D. Peran auksin adalah merangsang pembelahan dan perbesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman dan menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru. Penambahan auksin dalam jumlah yang lebih besar, atau penambahan auksin yang lebih stabil, seperti asam 2,4-D cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman (Wetherell, 1987).

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. Konsentrasi auksin yang rendah dapat meningkatkan pembentukan akar adventif, sedangkan konsentrasi yang tinggi dapat merangsang pertumbuhan kalus dan menekan morfogenesis. Auksin yang paling banyak digunakan adalah IAA (indole 3 acetic acid) yang disintesa pada bagian tertentu seperti daun muda dan biji yang sedang berkembang. Sedangkan auksin sintetik yang biasa digunakan adalah 2,4-D.



Gambar 2.2 struktur Kimia 2,4-D

Pemakaian zat pengatur tumbuh asam 2,4-D biasanya digunakan dalam jumlah kecil dan dalam waktu yang singkat, antara 2-4 minggu karena merupakan auksin kuat, artinya auksin ini tidak dapat diuraikan di dalam tubuh tanaman (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Sebab pada suatu dosis tertentu asam 2,4-D sanggup membuat mutasi-mutasi (Suryowinoto, 1996).

2.6 Isoflavon

Keanekaragaman isoflavonoid dan turunannya banyak ditemukan dalam kacang-kacangan (leguminosae) dan memiliki struktur molekul turunan 3-fenilkroman yang sangat bervariasi (Utomo, 2000). 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. Kandungan senyawa isoflavonoid sendiri dalam tanaman sangat rendah, yaitu sekitar 0,25% (Nakamura, *et.al.*, 2001).

Isoflavonoid termasuk golongan senyawa flavonoid sendiri berasal dari kata flavon yang merupakan nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dan sering ditemukan di alam. Flavonoid mempunyai 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. flavonoid alam adalah glukosa, ramnosa, galaktosa, dan gentiobosa (Markhame, 1982). Flavonoid

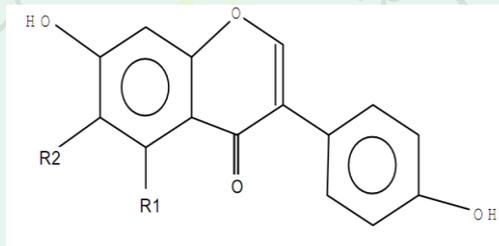
biasanya terdapat sebagai flavonoid O-glikosida, yaitu suatu kombinasi gula dengan satu atau lebih gugus hidroksil flavonoid yang tidak tahan asam. Isoflavonoid di alam sering terdapat dalam bentuk O-glikosida (Markham, 1982).

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, *et al*, 2009).

Isoflavon tergolong kelompok flavonoid, senyawa polifenolik yang banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayur-sayuran, dan biji-bijian (Yulianto, 2006). Senyawa isoflavon merupakan salah satu komponen yang juga mengalami metabolisme. Senyawa isoflavon ini pada kedelai terbentuk secara konjungat dengan senyawa gula melalui ikatan -O- glikosidik. Selama proses fermentasi, ikatan -O- glikosidik terhidrolisis, sehingga dibebaskan senyawa gula dan isoflavon aglikon yang bebas. Senyawa isoflavon aglikon ini dapat mengalami transformasi lebih lanjut membentuk senyawa transforman baru. Hasil transformasi lebih lanjut senyawa aglikon ini justru menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktifitas biologi yang lebih tinggi.

2.6.1 Struktur Senyawa Isoflavon

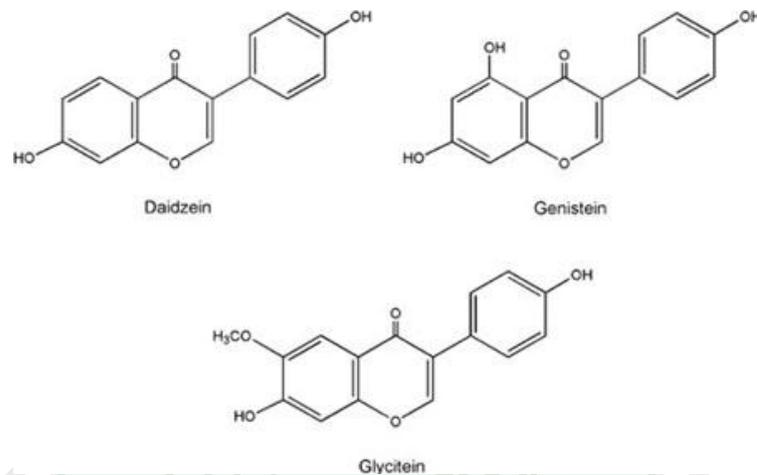
Flavonoid mempunyai kerangka dasar terdiri dari 15 atom karbon. Atom-atom karbon tersebut membentuk 2 cincin aromatik (C6) yang terikat pada rantai propana (C3) sehingga membentuk susunan C6-C3-C6. Dari susunan ini dapat diperoleh 3 jenis struktur yaitu 1,1-diarilpropana (neoflavonoid), 1,2-diarilpropana (isoflavonoid), 1,3-diarilpropana (flavonoid) merupakan turunan flavon. Flavon dianggap sebagai senyawa induk karena rantai propana dari system 1,3-diarilpropana mempunyai tingkat oksidasi rendah (Harborne, 1987 dalam Astuty, 2001).



Gambar 2.3 Struktur dasar isoflavon

Di alam terdapat 10 golongan senyawa flavonoid yaitu antosianin, leukantosianin, flavonol, glikoflavon, flavan, biflavonil, kalkon, auron, flavon dan isoflavon. Isoflavonoid dikelompokkan sebagai flavonoid minor karena penyebaran senyawa ini lebih terbatas. Pada umumnya terdapat pada anak suku leguminosae (Astuty, 2001).

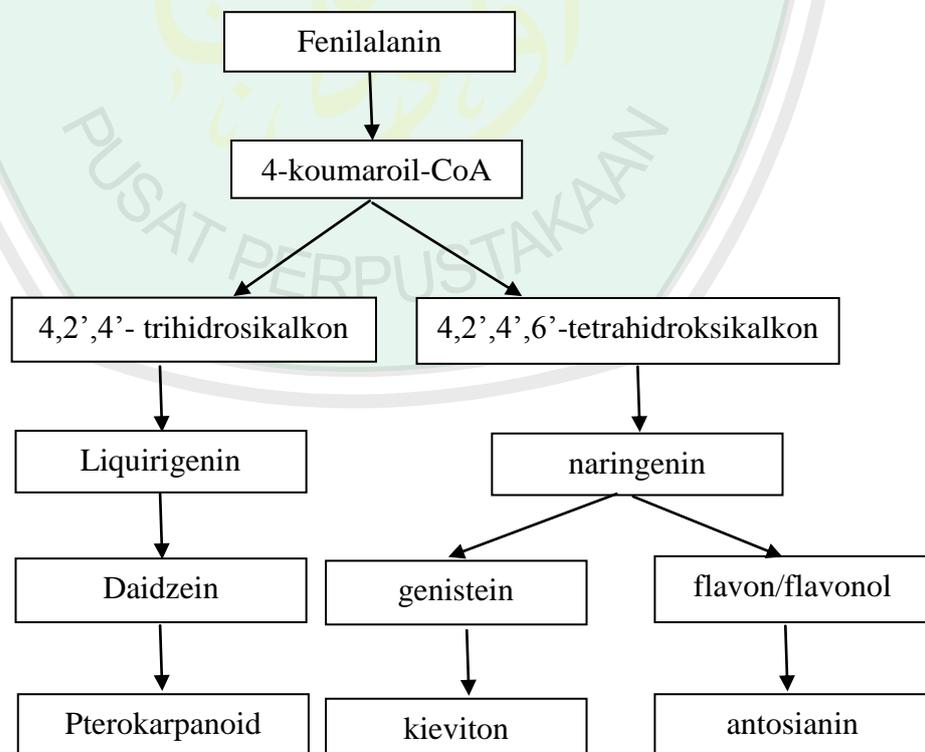
Secara spesifik, isoflavon berbentuk atas dua cincin benzena yang dihubungkan oleh cincin pirano heterosiklik dan terdapat substansi fenil pada posisi tiga cincin pirano (Bhat *dkk*, 2005). Satu gugus hidroksil dapat dijumpai pada tiap cincin benzena. Isoflavon terdiri atas daidzein, genistein dan glisitein (Chen dan Anderson, 2002).



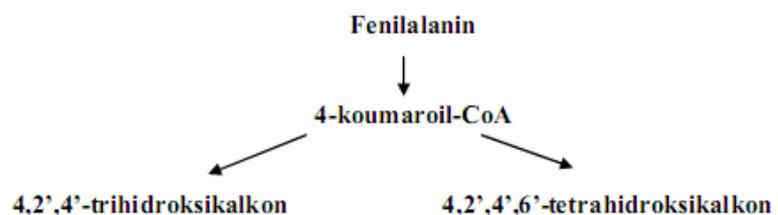
Gambar 2.4 Struktur senyawa isoflavon genistein, daidzein dan glisitein (Chen dan Anderson, 2002).

2.6.2 Jalur Sintesis Isoflavon

Biosintesis isoflavon diawali dari pembentukan fenilalanin sebagai prekursor utamanya yang dihasilkan dari asam shikimat, kemudian akan membentuk cincin B aromatic yang terikat pada rangkaian 3 atom karbon melalui jalur shikimat (Durango, *et al.* 2002).



Gam



Biosintesis cincin B dan C melalui jalur asam sikamat, sedangkan cincin A disintesis melalui jalur asetat malonat (Jedinak *dkk*, 2004). Deaminasi enzimatik 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 kalkon sintase (*chalkon synthase/CHS*) dan menghasilkan kalkon. Kalkon merupakan senyawa intermediet biosintesis isoflavon. Kalkon dapat menjadi genistein maupun daidzein. Kalkon mengalami reaksi isomerisasi menjadi narigenin (5,7,4-trihidroksiflavonon), yang selanjutnya menjadi genistein dengan katalis isoflavon sintase. Kalkon juga dapat mengalami reduksi menjadi isoliquiritigenin (4,2,4-trihidroksikalkon), yang selanjutnya mengalami perubahan struktur dengan katalis enzim kalkon isomerase menjadi liquiritigenin (7,4-dihidroksiflavonon), yang akhirnya menghasilkan daidzein (Bhat *et al*, 2005).

2.7 Produksi Metabolit Sekunder Dalam Kultur *In Vitro*

Metabolit sekunder adalah suatu senyawa kimia yang diproduksi oleh sel atau jaringan tumbuhan jika ada kelebihan karbon untuk aktivasi metabolit primer. Senyawa metabolit sekunder biasanya terbentuk akibat keterbatasan nutrisi dalam medium pertumbuhannya (Pawiroharsono, 2001).

Menurut Saito and Mizukami (2002), pada kultur kalus terdapat beberapa faktor yang dibutuhkan terutama dalam optimalisasi produksi metabolit sekunder, yaitu zat pengatur tumbuh (ZPT), nutrisi medium (nitrogen, fosfat, sukrosa, ion

Cu²⁺), elisitor, faktor fisika (cahaya, temperatur, pH, aerasi, kepadatan sel), dan faktor biologi (variasi sel, kemampuan biosintesis). ZPT yang digunakan pada medium primer zat pengatur tumbuh dalam pembentukan kalus sering digunakan berupa sitokinin (BAP, BA, kinetin) dan auksin (IAA, NAA, atau 2,4-D). Pada konsentrasi antara auksin dengan sitokinin yang seimbang akan menginduksi kalus (Gurel, 2000).

Salah satu strategi untuk meningkatkan metabolit sekunder adalah melalui teknik kultur jaringan. Teknik ini merupakan teknik untuk mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas dan bagian lainnya lalu menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan yang kaya akan nutrisi dan zat pengatur tumbuh secara aseptik dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap (Herbert, 1995).

Kultur jaringan dapat digunakan sebagai sarana penghasil metabolit sekunder. Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder merupakan hasil dari proses-proses biokimia yang terjadi dalam tubuh tanaman, sedangkan proses tersebut juga terjadi pada kultur jaringan. Senyawa ini terdapat pada kalus atau bagian lain, misalnya akar (Dalimonthe 1987 dalam Patri, 2004).

Menurut Amini, dkk (1987) dalam Patri (2004), penggunaan metode kultur jaringan untuk menghasilkan metabolit sekunder memiliki beberapa keuntungan antara lain:

- a. Metabolit sekunder dapat diambil langsung dari kalus atau suspensi sel sehingga tidak perlu dari tanaman asal.

- b. Waktu yang diperlukan untuk memperoleh metabolit sekunder dalam kultur jaringan lebih singkat.
- c. Kadar metabolit sekunder dalam kultur jaringan dapat ditingkatkan dengan beberapa cara antara lain penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media, memakai media lain yang lebih sesuai atau mengubah komponen media.

Hasil penelitian tentang metabolit sekunder dari kalus mahkota dewa dengan teknik KLT menunjukkan bahwa terdapat kandungan metabolit sekunder dari golongan alkanoid, flavonoid, saponin dan tiamin (Gangga, *et.al*, 2007). Hasil penelitian tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder juga ditemukan pada kalus dari daun katu yang ditanam pada media MS. Kalus tersebut setelah dikeringkan dan dimaserasi dengan kloroform-metanol menunjukkan profil kimia tanaman yang terkandung didalamnya (Puspitasari *et.al*. 2002).

Dari hasil penelitian Aziz *et al* (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 yang berasal dari 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, *et.al*, 2003).

2.8 Pengaruh Perbedaan Varietas dan Galur Kedelai Terhadap Produksi Senyawa 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. Pengaruh lingkungan tersebut dimungkinkan karena suhu, air dan nutrisi dalam tanah.

Kandungan isoflavon pada biji kedelai berkisar 0,5 – 2 mg/g tergantung pada varietasnya. Hasil analisis awal pada biji kedelai menunjukkan kandungan isoflavon per 100 g biji pada varietas Kaba untuk daidzein adalah 0,133% dan genistein 0,021% varietas Ijen mengandung daidzein 0,063% dan genistein 0,053% dan varietas Anjasmoro mengandung daidzein 0,094% dan genistein 0,011% (Berners, 1998). Amaliah (2010) menyebutkan kandungan isoflavon

pada beberapa varietas kedelai dalam produksi senyawa isoflavon pada media PEG 6000 dengan konsentrasi berbeda di dapat hasil pada varietas Grobongan yaitu 5279,1 ppm varietas Wilis 4851,5 ppm dan varietas Tanggamus 4694,3 ppm.

Analisa kandungan isoflavon terhadap 127 galur F5 terpilih, diikuti tiga galur pembanding G100H, IAC 100 dan Wilis mempunyai kandungan isoflavon total berkisar antara 78,8-175,6 mg/100 g, dengan rata-rata 101,1 mg/100g biji. Nilai median yang lebih rendah dibandingkan nilai tengahnya menunjukkan bahwa sebagian besar galur yang diuji memiliki kandungan isoflavon dibawah nilai tengah. Kandungan daidzein rata-rata 53,3 mg/100 g (kisaran antara 8,5-19,9 mg/100g) dan genistein rata-rata 33,23 mg/100 g (kisaran 20,5-60,3 mg/100 g). Varietas Wilis dan IAC 100 memiliki kandungan total isoflavon yang setara. Kandungan total isoflavon tertinggi dimiliki oleh galur kawi/IAC 100-1004-1037 dengan kandungan total isoflavon 129,07 mg/100 g biji (Krisnawati, 2009).

2.9 Pengaruh Sifat Genetik

Pendekatan genetik untuk meningkatkan kandungan isoflavon kedelai telah dilakukan di berbagai negara dengan kadar isoflavon yang beragam. Pemuliaan kedelai di Iowa Amerika Serikat berhasil mendapatkan galur Vinton 81 dengan kandungan isoflavon 94,9-284,2 mg/100 biji (Hoeck *et al*, 2000).

Hasil penelitian tentang perbedaan kandungan isoflavon pada beberapa varietas kedelai yang dilakukan oleh Joo Lee *et al* (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.

Perbedaan varietas cukup besar mempengaruhi perbedaan sifat dalam tanaman. Keragaman penampilan tanaman terjadi akibat sifat dalam tanaman (genetik) atau perbedaan lingkungan. Gen-gen tidak dapat menyebabkan berkembangnya karakter terkecuali jika mereka berada lingkungan yang sesuai. Namun, harus disadari bahwa keragaman sifat disebabkan oleh perbedaan gen yang dibawa oleh masing-masing individu yang disebabkan oleh perbedaan lingkungan dimana individu berada. 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). Sedangkan menurut Juan *et.al* (2009), terdapat pengaruh genetik dan juga lingkungan yang menyebabkan perbedaan pada kandungan genistein, daidzain dan total isoflavon.

2.10 Sejarah Persilangan Galur

Peningkatan kandungan isoflavon pada kedelai dapat diupayakan jika tersedia sumber gen yang dapat digunakan sebagai donor gen. Galur IAC 100 telah digunakan sebagai salah satu sumber gen dan disilangkan dengan beberapa varietas kedelai berdaya hasil tinggi, sehingga berpeluang untuk mendapatkan galur berdaya hasil tinggi dan mengandung isoflavon tinggi (Muchlish, 2006).

Pada tahun 2005 balitkabi melakukan persilangan galur IAC 100 dengan beberapa varietas yang diantaranya yaitu varietas Baluran, Kawi, Argopuro, G100H, dan SHR/W-60. Galur G100H sendiri merupakan hasil persilangan antara galur IAC 100 dengan varietas Himeshirazu. Setiap galur ditanam dalam satu baris sepanjang 4,5 m. jarak tanam 40 cm x 15 cm, 2 tanaman per rumpun (Krisnawati, 2009). Galur IAC-100/K-1061 merupakan hasil persilangan dari galur IAC 100 dengan varietas Kawi yang dimana 1061 menunjukkan nomer tanam galur tersebut, K/IAC-100/1039 dan K/IAC-100/1030 merupakan hasil persilangan dari varietas Kawi dengan galur IAC 100 dinamakan nomer di belakang menunjukkan nomer urut tanam galur tersebut.

2.11 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).

Sampel yang telah diekstrak selanjutnya akan diidentifikasi dengan menggunakan kromatografi kolom. Sebagai standar penentuan kadar isoflavon, digunakan standar genistein dengan kisaran konsentrasi 0 – 0,01 mg/ml.

Pada pengisian bagian bawah kolom dimasukkan sedikit kapas, wol kaca dan pasir laut kemudian dimasukkan bubuk silica gel 70-230 mesh sambil diaduk agar tidak terdapat rongga udara di tengah-tengah kolom. Timbunan bubuk silica gel dalam kolom mencapai tiga perempat tinggi kolom.

Pemisahan komponen dengan menggunakan kromatografi kolom, Diambil 10 ml supernatan kemudian dimasukkan dalam kolom kromatografi yang berisi alumina dan Na sulfat. Kemudian ditambah dengan 25 ml asetonitril yang di dalamnya berisi asam asetat 0,1 % sebagai fase gerak.

Tampung eluat yang didapat kemudian dilarutkan dengan asetonitril. Amati absorbansi pada panjang gelombang 365 nm. Kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan campuran beberapa senyawa yang diperoleh dari isolasi tumbuhan. Dengan menggunakan fasa padat dan fasa cair maka fraksi-fraksi senyawa akan menghasilkan kemurnian yang cukup tinggi (Lenny, 2006).

Menurut Adnan (1997) pengisian kolom harus dikerjakan dengan seragam. Setelah adsorben dimasukkan dapat diseragamkan kepadatannya dalam kolom dengan menggunakan vibrator atau dengan plunger (pemadat). Selain itu dapat juga dikerjakan dengan memasukkan adsorben dalam bentuk larutan (*slurry*) dan partikelnya dibiarkan mengendap. Pengisian kolom yang tidak seragam akan menghasilkan rongga-rongga di tengah-tengah kolom. Cara untuk mengatasi masalah ini adalah dengan mengadakan back fushing, sehingga terjadi pengadukan, yang seterusnya dibiarkan lagi mengendap. Pada bagian bawah (dasar) dan atas dari isian kolom diberi wol kaca (glass wool) atau sintered glass disc untuk menyangga isian. Bila kolom telah diberi bahan isian, permukaan

cairan tidak boleh dibiarkan turun dibawah permukaan bahan isian bagian atas, karena akan memberikan peluang masuknya gelembung udara masuk ke kolom.

2.12 Manfaat Isoflavon

Jenis senyawa isoflavon sangat bervariasi, diantaranya telah berhasil diidentifikasi struktur kimianya dan diketahui fungsi fisiologisnya, serta telah dapat dimanfaatkan untuk obat-obatan. Berbagai potensi isoflavon untuk keperluan kesehatan antara lain (Hernawati, 2005):

a. Anti kolesterol

Isoflavon yang terdiri atas genistein, daidzein dan glicitein, protein kedelai dapat menurunkan resiko penyakit kardiovaskulas dengan cara mengikatkan profile lemak darah. Protein kedelai menyebabkan penurunan yang nyata dalam kolesterol total. Kolesterol LDH dan trisliserida dan meningkatkan kolesterol HDL. Karena estrogen telah terbukti menurunkan kolesterol LDL, peranan isoflavon dapat diduga mirip estrogen (estrogen like), menghasilkan efek yang sama.

b. Anti kanker

Kemampuan lain dari isoflavon adalah dapat menutupi atau memblokir efek potensial yang merugikan akibat produksi estrogen yang berlebihan dalam tubuh. Isoflavon dapat berfungsi sebagai estrogen selektif dalam pengobatan, menghasilkan efek menguntungkan (sebagai anti kanker dan menghambat atherosklerosis) tetapi tidak menimbulkan resiko (meningkatkan resiko kanker payudara dan endometrial) yang biasa

dihubungkan dengan terapi pengganti hormon yang biasa dilakukan. Mekanisme yang banyak diketahui sebagai anti kanker dari isoflavon adalah aktivitas anti estrogen, menghambat aktivitas enzim penyebab kanker, aktivitas anti oksidan dan meningkatkan fungsi kekebalan sel.

c. Anti kanker prostat

Pengobatan yang dilakukan adalah pengurangan hormon laki-laki yaitu endrogen dan menghambat efek hormon potensial dari hormon wanita yaitu estrogen, yang juga terdapat pada laki-laki. Diduga bahwa kedelai yang kaya akan isoflavon mampu untuk menggunakan sifatnya sebagai estrogen lemah untuk memblokir reseptor estrogen dalam prostat terhadap estrogen. Jika estrogen yang kuat ini sampai menstimulasi reseptor dalam prostat, dapat menyebabkan pembesaran prostat.

d. Penyakit kardiovaskuler

Isoflavon pada tempe yang aktif sebagai antioksidan, yaitu 6,7,4-trihidroksi isoflavon (faktor II), terbukti berpotensi sebagai anti koagulasi pembuluh darah dan juga berpotensi menghambat pembentukan LDL (low density lipoprotein). Dengan demikian isoflavon dapat menghambat arterosclerosis pada pembuluh darah.

2.13 Tumbuhan Sebagai Obat Dalam Perspektif Islam

Alquran adalah kitab suci yang diturunkan Allah SWT sebagai kitab suci terahir, Alquran bagaikan miniature alam raya yang memuat segala disiplin ilmu, Alquran merupakan karya Allah SWT yang agung dan bacaan mulia serta dapat dituntut kebenarannya oleh siapa saja, sekalipun akan menghadapi tantangan kemajuan ilmu pengetahuan yang semakin canggih. Allah berfirman dalam Q.S Ibrahim ayat 52:

هَذَا بَلَّغٌ لِلنَّاسِ وَلِيُنذَرُوا بِهِ ۚ وَلِيَعْلَمُوا أَنَّمَا هُوَ إِلَهٌُ وَاحِدٌ وَلِيَذَّكَّرَ أُولُو الْأَلْبَابِ

Artinya: (Al Quran) ini adalah penjelasan yang sempurna bagi manusia, dan supaya mereka diberi peringatan dengan-Nya, dan supaya mereka mengetahui bahwasanya Dia adalah Tuhan yang Maha Esa dan agar orang-orang yang berakal mengambil pelajaran.

Ayat di atas menjelaskan bahwa turunnya Alquran supaya member peringatan kepada siapapun yang memahami dan mempercayainya, dan supaya memberitahukan kepada mereka yang belum percaya bahwa Dia yang maha kuasa yang wujudnya diakui oleh fitrah yang suci adalah tuhan yang maha Esa (Shihab, 2005)

Tumbuhan merupakan sumber kekayaan alam yang banyak dijumpai di lingkungan sekitar kita. Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang baik untuk manusia agar manusia selalu bersyukur atas segala

nikmat dan memanfaatkan segala pemberian-Nya, tercantum dalam Q.S As-Syuara: 7

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? (Q.S As-Syuara: 7)

Alquran 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 diseluruh jagad raya. Allah SWT telah menciptakan segala macam yang ada di bumi ini 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 نَبَاتٍ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالزُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩١﴾

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'aam: 99).

Firman Allah SWT dalam surat Al-An'aam 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'aam 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'am ayat 99 bahwasannya hanya Allah semata yang menumbuhkan setiap tumbuhan hijau dalam air hujan dan mengeluarkan setiap yang tertanam. Kemudian mengeluarkan 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, kekuasaannya-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).

Anggur termasuk buah-buahan 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, dalam hadits Rosulullah SAW beliau 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).

d. 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 karena merupakan bahan pangan, bahan sandang, papan dan bahan obat – obatan. 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. Ketika manusia mulai berpikir tidak hanya menggunakan akal, akan tetapi juga dengan hati mereka, maka mereka akan sampai pada pemahaman bahwa seluruh alam semesta ini adalah bukti keberadaan dan kekuasaan Allah SWT.

