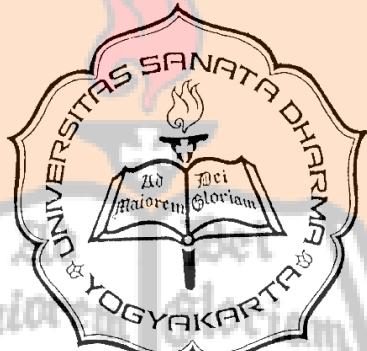


PENGARUH UKURAN PARTIKEL SIMPLISIA TERHADAP KADAR
GENISTEIN PADA EKSTRAKSI TEMPE

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi Farmasi



Oleh:

Petrus Damiani Tosan Aji

NIM : 148114111

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SANATA DHARMA

YOGYAKARTA

2018

PENGARUH UKURAN PARTIKEL SIMPLISIA TERHADAP KADAR
GENISTEIN PADA EKSTRAKSI TEMPE

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi Farmasi

Oleh:

Petrus Damiani Tosan Aji

NIM : 148114111

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SANATA DHARMA

YOGYAKARTA

2018

PERSETUJUAN PEMBIMBING

**PENGARUH UKURAN PARTIKEL SIMPLISIA TERHADAP KADAR
GENISTEIN PADA EKSTRAKSI TEMPE**

Skripsi yang diajukan oleh:

Petrus Damiani Tosan Aji

NIM : 148114111



telah disetujui oleh :



Pembimbing Utama



Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt.

tanggal ...12... Februari ...2018.....

PENGESAHAN SKRIPSI BERJUDUL

**PENGARUH UKURAN PARTIKEL SIMPLISIA TERHADAP KADAR
GENISTEIN PADA EKSTRAKSI TEMPE**

Oleh :

Petrus Damiani Tosan Aji

NIM : 148114111

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi

Universitas Sanata Dharma

pada tanggal: 1 Maret 2018

Mengetahui

Fakultas Farmasi

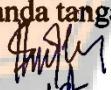
Universitas Sanata Dharma

Dekan



Aris Widayati, M.Si., Ph.D., Apt.

Panitia Penguji :

- | | |
|--|---|
| 1. Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt. | () |
| 2. Florentinus Dika Octa Riswanto M.Sc. | () |
| 3. Damiana Sapta Candrasari S.Si., M.Sc. | () |

Tanda tangan

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini tidak memuat karya atau bagian karya orang lain, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka, dengan mengikuti sebagaimana layaknya karya ilmiah.

Apabila dikemudian hari ditemukan indikasi plagiarisme dalam naskah ini, maka saya bersedia menanggung segala sanksi sesuai peraturan perundangan yang berlaku.

Yogyakarta, 12 Februari 2018

Penulis,

Petrus Damiani Tosan Aji

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya mahasiswa Universitas Sanata Dharma :

Nama : Petrus Damiani Tosan Aji
Nomor Mahasiswa : 148114111

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma karya ilmiah saya yang berjudul :

**PENGARUH UKURAN PARTIKEL SIMPLISIA TERHADAP KADAR
GENISTEIN PADA EKSTRAKSI TEMPE**

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan demikian saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma hak untuk menyimpan, mengalihkan dalam bentuk media lain, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data, mendistribusikan secara terbatas, dan mempublikasikannya di Internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya maupun memberikan royalti kepada saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Yogyakarta

Pada tanggal : 13 April 2018

Yang menyatakan

(Petrus Damiani Tosan Aji)

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan keselamatan melimpah yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyempurnakan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ukuran Partikel Simplisia terhadap Kadar Genistein pada Ekstraksi Tempe” hingga terselesaikan. Skripsi ini sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.), Program Studi Farmasi. Skripsi ini merupakan bagian dari penelitian Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt. yang berjudul “Pengembangan Sediaan Penyembuh Luka Bagi Penderita Diabetes dengan Bahan Aktif Ekstrak Tempe” berdasarkan SK no. : 075/penel.LPPM USD/IV/2017.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak terlepas dari campur tangan berbagai pihak. Melalui kesempatan ini, penulis ingin mengungkapkan rasa terima kasih kepada :

1. Ibu Aris Widayati, M.Si., Ph.D., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
2. Ibu Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi, pembimbing dan DPA yang selalu menuntun dan memberikan saran selama penelitian, penyusunan skripsi, dan membimbing selama di perkuliahan.
3. Ibu Dr. Dewi Setyaningsih, M.Sc., Apt., selaku Kepala Laboratorium Fakultas Farmasi yang telah memberikan ijin dalam penggunaan fasilitas laboratorium untuk kepentingan penelitian.
4. Bapak Florentinus Dika Octa Riswanto M.Sc. selaku dosen penguji yang bersedia memberikan kritik dan saran bagi penelitian ini hingga skripsi ini tersusun.
5. Ibu Damiana Sapta Candrasari S.Si., M.Sc. selaku dosen penguji yang bersedia memberikan kritik dan saran bagi penelitian ini hingga skripsi ini tersusun.
6. Bapak Michael Raharja Gani atas segala saran membangun yang sangat bermanfaat bagi penelitian ini

7. Bapak Yohanes Wagiran, Bapak Musrifin, Mas Agung, dan Mas Aditya Bimo selaku laboran Laboratorium Fakultas Farmasi USD yang juga membantu dalam penyelesaian penelitian
8. Keluarga penulis, Papa, Mama, dan Tika yang senantiasa mendukung, memberi semangat dan mendoakan kelancaran skripsi.
9. Rekan sepenelitian “*Ekstrak Tempe*”, Fransisca Revana Restiana dan Arini Safti Sandrapitaloka, yang selalu menyertai dan sabar membimbing penulis menyelesaikan tugasnya.
10. Teman-teman seperjuangan FARMASI 2014
11. Serta pihak-pihak lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu

Penulis berharap penelitian ini dapat menjadi sumber pengetahuan pada bidang farmasi fitokimia, yang selalu berkembang tidak akan pernah berhenti. Penulis juga menyadari bahwa masih terdapat kekurangan di dalam skripsi ini. Oleh karena itu dengan terbuka dan senang hati penulis menerima kritik dan saran yang membangun dari para pembaca. Akhir kata, penulis ucapan terimakasih, semoga penelitian dapat bermanfaat.

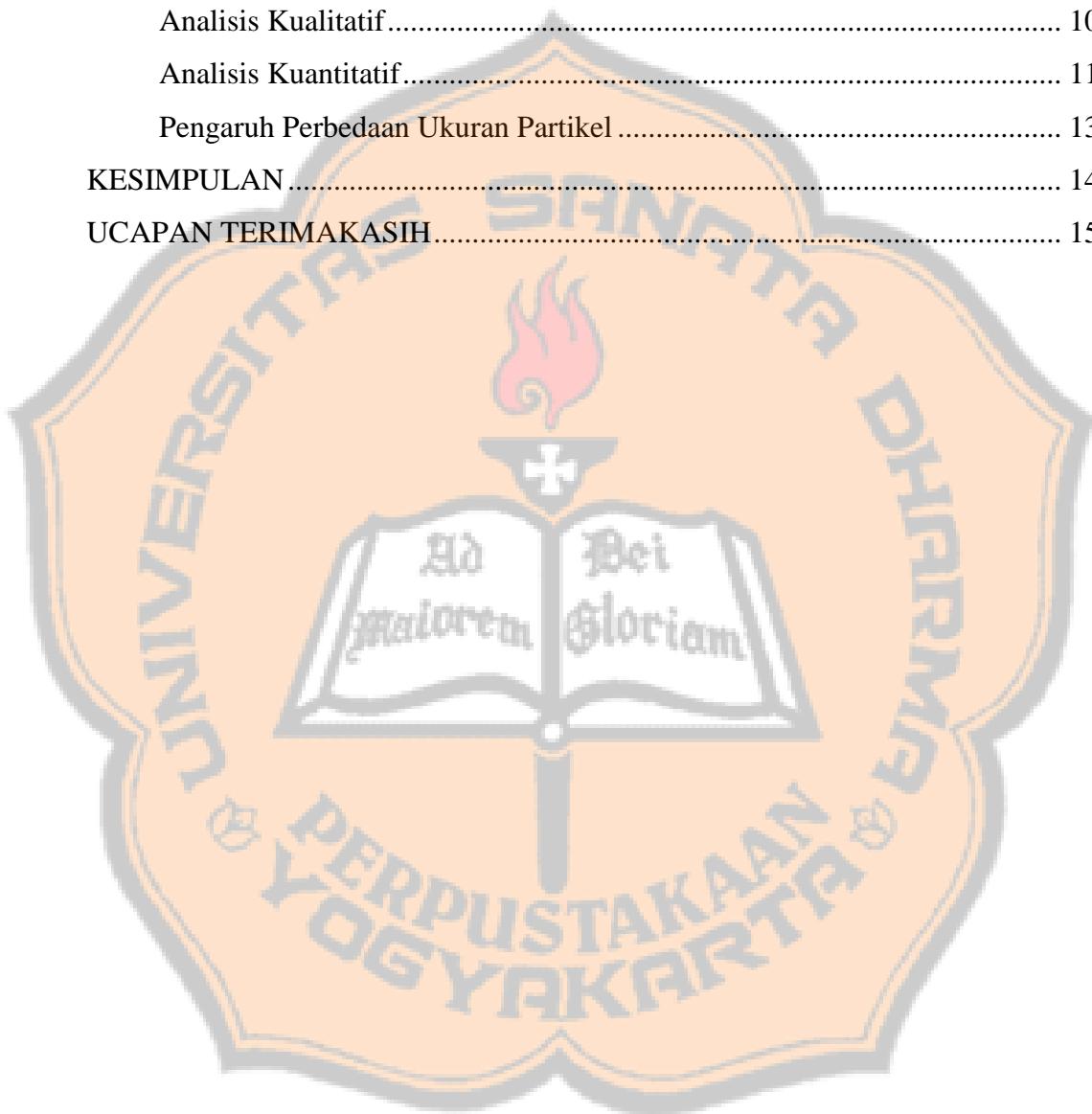
Yogyakarta, 12 Februari 2018

Petrus Damirani Tosan Aji

DAFTAR ISI

COVER.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA.....	v
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vi
PRAKATA.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRAK.....	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xv
PENDAHULUAN	1
METODE PENELITIAN.....	2
Alat	3
Bahan	3
Sampel	3
Desain Perlakuan	4
Preparasi Simplisia	4
Pra-Ekstraksi (Defatisasi)	4
Ekstraksi	5
Fraksinasi Etil Asetat-Air	5
Preparasi Fase Gerak	5
Pembuatan Larutan Baku Stok Genistein	6
Pembuatan Larutan Baku Intermediet Genistein.....	6
Pembuatan Larutan Seri Baku Genistein	6
Preparasi Sampel Injeksi KCKT	6
Tata Cara Analisis Hasil	6

HASIL DAN PEMBAHASAN.....	8
Preparasi Simplisia	8
Pra-Ekstraksi (Defatisasi) dan Ekstraksi	8
Hasil Esktrak Tempe.....	9
Analisis Kualitatif.....	10
Analisis Kuantitatif.....	11
Pengaruh Perbedaan Ukuran Partikel	13
KESIMPULAN	14
UCAPAN TERIMAKASIH.....	15



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Desain perlakuan ukuran partikel pada sampel	4
Tabel 2. Hasil ekstraksi 50 gram serbuk tempe.....	9
Tabel 3. Perhitungan Bobot Serbuk 12 mesh	23
Tabel 4. Perhitungan Bobot Serbuk 14 mesh	23
Tabel 5. Perhitungan Bobot Serbuk 16 mesh	23
Tabel 6. Perhitungan Bobot Serbuk 20 mesh	24
Tabel 7. Perhitungan Bobot Serbuk 30 mesh	24
Tabel 8. Akurasi dan Presisi Interday	28
Tabel 9. Akurasi dan Presisi <i>Intraday</i> (replikasi 2).....	29
Tabel 10. Penetapan kadar genistein serbuk 12 mesh	35
Tabel 11. Penetapan kadar genistein serbuk 14 mesh	35
Tabel 12. Penetapan kadar genistein serbuk 16 mesh	35
Tabel 13. Penetapan kadar genistein serbuk 20 mesh	36
Tabel 14. Penetapan kadar genistein serbuk 30 mesh	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Representatif kromatogram standar baku genistein (a) dan sampel ekstrak tempe (b). Kolom : Phenomenex® C18 No 00G-4252-EO (250 x 4,6 mm). Fase gerak : metanol-akuabides (60:40). Flowrate : 0,8 mL/menit. Deteksi pada panjang gelombang 261 nm	11
Gambar 2. Kurva perbandingan ukuran partikel (mesh) terhadap kadar genistein pada tempe kering	12
Gambar 3. Tempe “Muchlar”	21
Gambar 4. Ekstrak tempe	21
Gambar 5. Hasil fraksinasi ekstrak tempe	21
Gambar 6. Fraksinasi ekstrak tempe	22
Gambar 7. Preparasi sampel injek KCKT	22
Gambar 8. Kurva seri baku genistein	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Certificate of Analysis working standart genistein.....</i>	20
Lampiran 2. Dokumentasi Ekstraksi Tempe	21
Lampiran 3. Data Perhitungan Bobot.....	23
Lampiran 4. Perhitungan Seri Konsentrasi Kurva Baku	25
Lampiran 5. Contoh Perhitungan Data Akurasi dan Presisi Metode	27
Lampiran 6. Kromatogram Akurasi dan Presisi Metode.....	30
Lampiran 7. Perhitungan LOD dan LOQ.....	34
Lampiran 8. Data Penetapan Kadar.....	35
Lampiran 9. Data Uji Statistik.....	37

ABSTRAK

Genistein termasuk dalam senyawa isoflavon kelas aglikon yang banyak ditemukan pada kedelai terutama pada produk makanan kedelai yang telah melalui proses fermentasi. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ukuran partikel dalam ekstraksi tempe terhadap kadar genistein yang didapat. Diketahui bahwa ukuran partikel berhubungan dengan luas permukaan sehingga mempengaruhi kontak sampel dengan penyari sehingga ukuran partikel yang tepat akan berpengaruh pada banyaknya analit yang tersari. Pada penelitian ini digunakan variasi ukuran partikel 1,68 mm; 1,41 mm; 1,19 mm; 0,841 mm; dan 0,595 mm. Jenis penelitian yang digunakan merupakan eksperimental dengan metode ekstraksi yang digunakan berupa maserasi. Petroleum eter digunakan sebagai pelarut senyawa lemak dalam proses defatisasi. Penyari genistein yang digunakan adalah etanol karena diketahui bahwa genistein larut dengan baik pada etanol. Penetapan kadar dilakukan dengan metode KCKT yang kemudian dilanjutkan uji statistik ANAVA satu jalur untuk melihat korelasi antara variabel bebas dan variabel tergantung. Hasil penelitian menyatakan pemberian perlakuan berupa perbedaan ukuran partikel pada simplisia tempe tidak memberikan pengaruh yang berbanding lurus terhadap kadar genistein yang didapatkan dari proses ekstraksi sebab ukuran partikel simplisia tempe yang semakin kecil tidak menentukan semakin banyaknya kadar genistein yang didapatkan.

Kata kunci : genistein, isoflavon, tempe, ukuran partikel, KCKT

ABSTRACT

Genistein mostly found in soybean and fermented foods made of soybean. Genistein belongs to isoflavone compound of aglycon class. The aim of this research was to know the influence of the particle size due to the extraction process of tempeh with gained genistein content. It was known that the relationship between particle size and surface area influenced sample contact with the solvent, which affects the amount of extracted analyte compounds. The varieties of particle size used in the research were 1.68 mm; 1.41 mm; 0.841 mm; and 0.595 mm. This was an experimental research using macerated extraction methods. Petroleum ether used as the solvent in defatting process and ethanol used as the solvent in genistein extraction process was proofed to dissolve genistein well. The determination of genistein measure level was done by applying HPLC method then analyzed by using one way ANOVA to check the correlation between independent and dependent variable. The result showed that the intervention of different particle size of tempeh simplicia didn't give an effect which was directly proportional to the level of genistein obtained from the extraction process because the smaller particle size of tempeh simplicia did not determine the amount of genistein content obtained.

Keywords: genistein, isoflavone, tempeh, particle size, HPLC

PENDAHULUAN

Tempe dikenal sebagai sumber isoflavon yang baik dengan ditemukannya 12 senyawa isoflavon di dalamnya. Genistein atau 4',5,7-trihydroxyisoflavon adalah isoflavon terbanyak yang ditemukan melimpah pada produk berbasis kedelai diikuti oleh daidzein (Pavese *et al.*, 2010; Gilbert and Liu, 2013). Tempe mengandung genistein dengan konsentrasi tertinggi dibandingkan dengan produk makanan olahan kedelai lain seperti tahu (Yuliani *et al.*, 2016). Senyawa genistein yang terkandung pada tempe \pm 36,15 mg/100g sedangkan pada kedelai \pm 22,57 mg/100 g dan pada tahu \pm 18,43 mg/100g berat tempe kering (Bhagwat *et al.*, 2008). Proses fermentasi menyebabkan adanya aktivitas β -Glucosidase yang meningkatkan kandungan aglikon (daidzein, genistein, dan glisitein) melalui mekanisme hidrolisis ikatan glikosida pada asetylglukosida dan malonilglukosida menjadi aglikon (Hati *et al.*, 2014).

Ekstraksi adalah pemisahan zat aktif jaringan tanaman atau hewan dari komponen inaktif atau inert dengan menggunakan pelarut yang selektif sesuai dengan prosedur standar (Kostova *et al.*, 2008). Ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ukuran partikel, konsentrasi pelarut, rasio perbandingan bahan dengan larutan penyari, dan lama waktu ekstraksi (Zhu *et al.*, 2011). Untuk menghasilkan ekstrak yang optimal, maka dalam proses ekstraksi perlu diperhatikan derajat kehalusan (ukuran partikel) simplisia, ukuran partikel simplisia penting untuk mengupayakan agar penarikan senyawa dapat berlangsung semaksimal mungkin, ukuran partikel berhubungan dengan luas permukaan yang akan berkontak dengan pelarut untuk ekstraksi (Sapri *et al.*, 2014). Pada proses ekstraksi terjadi dua fase yaitu fase pembilasan dan fase ekstraksi. Fase pembilasan adalah fase saat sel-sel yang rusak atau tidak utuh lagi dari simplisia bersentuhan langsung dengan pelarut sehingga komponen di dalam sel semakin mudah berpindah ke dalam pelarut, semakin halus serbuk simplisia semakin optimal proses pembilasannya, sedangkan fase ekstraksi merupakan fase saat cairan pelarut menembus membran sel yang masih utuh sehingga terjadi pembengkakan pada sel dan disolusi komponen sel ke cairan pelarut yang berhasil masuk, dengan adanya

perbedaan konsentrasi antara pelarut di dalam sel dan di luar sel maka akan terjadi difusi (Maulida dan Guntarti, 2015).

Penelitian Zhu *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa perbedaan ukuran partikel berpengaruh pada kadar isoflavon yang didapat, dalam penelitian tersebut digunakan lima ukuran partikel berbeda yaitu 0,841 mm; 0,420 mm; 0,25 mm; 0,177 mm dan 0,149 mm. Hasil penelitian tersebut menyatakan ukuran partikel paling optimal adalah 0,177 mm dengan menghasilkan kadar genistein tertinggi tetapi tidak memberikan perbedaan yang signifikan. Pada penelitian lain, Baldosano *et al.*, (2015) mengatakan bahwa ekstraksi dengan ukuran partikel yang lebih kecil dapat menghasilkan produk yang lebih tinggi, hanya saja ukuran partikel terkecil yang digunakan dalam penelitian tersebut (0,297 mm) tidak menghasilkan konsentrasi produk tertinggi. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah metode yang hampir digunakan secara universal dan hanya sedikit sampel yang tidak bisa dianalisis oleh KCKT serta memberikan hasil yang presisi ($\pm 0,5\%$ atau lebih baik) (Snyder *et al.*, 2010). Penggunaan metode KCKT UV fase terbalik untuk analisis kuantitatif senyawa genistein telah banyak digunakan seperti pada penelitian Yuliani *et al.*, (2016) dan Hutabarat *et al.*, (2000).

Setiawati *et al.*, (2014) dan Yuliani *et al.*, (2016) menggunakan metode ekstraksi maserasi (kondisi : pelarut etanol 96%, kecepatan putaran 150 rpm dan lama waktu 12 jam) melihat kadar isoflavon, terutamanya genistein dalam tempe dan analisis kuantitatif secara sederhana menggunakan KCKT fase terbalik, tetapi belum dilakukan uji yang lebih spesifik berupa perlakuan terhadap ukuran partikel bahan simplisia yang diekstrak. Maka penelitian ini dilakukan untuk melihat bagaimana pengaruh perbedaan ukuran partikel simplisia pada ekstraksi tempe terhadap kadar genistein yang didapat.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimental murni untuk mencari hubungan sebab akibat dari perbedaan ukuran partikel serbuk simplisia pada ekstraksi tempe terhadap kadar genistein yang didapat. Intervensi berupa lima ukuran partikel yang berbeda (1,68 mm; 1,41 mm; 1,19 mm; 0,841

mm; dan 0,595 mm) pada serbuk simplisia kering yang akan diekstrak dan kemudian diukur kadar kandungan genisteinnya dengan metode KCKT.

Alat

Alat yang digunakan untuk preparasi simplisia sampai dengan fraksinasi yaitu oven (*Memmert*), timbangan analitik (*Mettler Toledo AB204* : max 210 g, min 10 mg), *shaker* (*Innova 2100*), labu evaporator (*Buchi*), *rotary evaporator* (*Buchi*), *heating bath B-491*, *rotavapor R-210*, *vacuum pump V-700*, *vacuum controller V-850*, *blender Cosmos CB-180 F*, ayakan dengan nomor mesh 12, 14, 16, 20, dan 30, alat-alat gelas, erlenmeyer, gelas beker, pipet tetes, cawan porselen, batang pengaduk kaca, sendok, *plastic wrap*, aluminium foil, timbangan *ultramicro* (*RADWAG UYA 2.3 Y*: max 2,1 g, min 0,08 mg), corong pisah.

Alat yang digunakan untuk uji penetapan kadar labu ukur 10 mL, flakon, *microtube, blue tip* (1000 μ L), *yellow tip* (100 μ L), *micropipet* 1-100 μ l dan 100-1000 (*Socorex*), syringe, millipore 45 mm, filter Whatman dengan ukuran pori 0,45 μ m; vial KCKT; KCKT (*Shimadzu LC-2010*), *water purificator* (*EASYPure RF*), ultrasonikator.

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu petroleum eter, etanol 96%, etil asetat, dan metanol *pro analysis* (*Merck*). Akuades dan akuabides yang diperoleh dari Laboratorium Fakultas Farmasi USD, serta baku genistein yang diproduksi oleh Sigma Aldrich.

Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah tempe segar dengan merk “Tempe Muchlar” yang didapatkan dari produsen Tempe Murni Muchlar, Bener, Tegalrejo, Yogyakarta. Tempe Muchlar dibuat dari bahan baku jenis kedelai putih import USA *Soybeans Gold Quality* dengan lama fermentasi selama tiga hari.

Desain Perlakuan

Tabel 1. Desain perlakuan ukuran partikel pada sampel

Sampel (kelompok perlakuan)	Nomor Mesh Ayakan	Ukuran Partikel (mm)
A	12	1,68
B	14	1,41
C	16	1,19
D	20	0,841
E	30	0,595

*Konversi ukuran partikel dalam tabel menyesuaikan tabel konversi ukuran partikel Sigma-Aldrich (2003).

Pembuatan desain perlakuan terhadap ukuran partikel serbuk mengacu penelitian Zhu *et al.*, (2011). Penelitian tersebut menggunakan lima ukuran partikel berbeda. Desain penelitian ini juga menggunakan lima ukuran partikel berbeda dengan menyesuaikan ketersediaan alat di laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, dibuat tiga replikasi untuk tiap perlakuan. Desain penelitian bisa dilihat pada Tabel 1.

Preparasi Simplisia

Preparasi simplisia dilakukan dengan memotong tipis-tipis (± 5 mm) tempe lalu dikeringkan dengan oven selama 24 jam pada suhu 50°C untuk menghilangkan kadar air kemudian ditimbang bobot penyusutan. Lalu tempe dihaluskan dengan blender sebelum diayak dengan ayakan menjadi lima kelompok ukuran partikel serbuk. Setelah itu tempe diayak menggunakan lima jenis ayakan dengan nomor *mesh* berbeda yaitu 12, 14, 16, 20, dan 30 untuk menghasilkan ukuran partikel pada Tabel 1.

Pra-Ekstraksi (Defatisasi)

Sebanyak 50 gram simplisia tempe pada tiap perlakuan ditambahkan petroleum eter (PE) sebanyak 100,0 mL dengan perbandingan antara simplisia dan PE adalah 1:2 yang kemudian dilakukan maserasi menggunakan *shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm (Setiawati *et al.*, 2014). PE diusahakan tidak menguap dan larutan terhindar dari sinar matahari langsung selama proses ini. Lalu PE diuapkan menggunakan oven selama 24 jam pada suhu 50°C. Setelah itu simplisia yang telah didefatisasi ditimbang dan dicatat bobotnya.

Ekstraksi

Hasil Pra-Ekstraksi ditambahkan larutan penyari berupa etanol 96% : akuades (70:30 v/v) dengan perbandingan sampel dan penyari, 1:3 (Setiawati *et al.*, 2014). Kemudian dilakukan maserasi menggunakan *shaker* selama 4 jam 30 menit dengan kecepatan 150 rpm, mengacu penelitian yang sedang dilakukan Restiana (2018). Usahakan larutan penyari tidak menguap dan larutan terhindar dari sinar matahari langsung selama proses ini. Hasil maserasi akan didapatkan padatan dan larutan berwarna kuning, diambil larutan kuning dan pisahkan dari padatan.

Larutan kuning yang telah dipisahkan, dipekatkan dan dilakukan pemisahan larutan penyari menggunakan alat *rotary evaporator* selama 5-10 menit hingga didapat ekstrak kental tempe ($\pm 10\%$ dari volume larutan sebelum dirotary) dengan pengaturan alat sebagai berikut : suhu penangas air (*waterbath*) 50°C ; pompa vakum disesuaikan untuk ke tekanan *water* (72 mbar); dan kecepatan putaran rotor pada angka 2-3. Lalu ekstrak diletakkan pada cawan porselen dan dimasukkan dalam oven bersuhu 50°C untuk dilakukan penimbangan hingga bobot ekstrak mencapai bobot tetap.

Fraksinasi Etil Asetat-Air

Diambil 1 g ekstrak kental pada tiap sampel, dilarutkan dengan 15 mL akuades dan 15 mL etil asetat teknis lalu larutan tersebut digojog hingga homogen dengan corong pisah kemudian didiamkan hingga terlihat pemisahan fraksi. Dilakukan dua kali pembilasan dengan menambahkan kembali 15 mL etil asetat ke dalam corong pisah, lakukan penggojogan ulang. Fraksi etil asetat dikumpulkan kemudian dimasukkan dalam oven bersuhu 50°C hingga didapat bobot tetap (berat fraksi tidak berkurang/berubah lebih dari 0,5 mg dari bobot penimbangan sebelumnya).

Preparasi Fase Gerak

Fase gerak dibuat dengan diambil masing-masing 500 mL metanol p.a dan akuabides. Metanol disaring dengan menggunakan penyaring organik membran filter Whatman ukuran $0,45 \mu\text{m}$ dengan diameter 47 mm, sedangkan akuabides disaring dengan menggunakan penyaring anorganik membran filter Whatman ukuran $0,45 \mu\text{m}$ dengan diameter 47 mm, penyaringan dilakukan dua kali dengan

alat pompa vakum dan labu hisap. Tujuan penyaringan untuk memisahkan fase gerak dari pengotor yang dapat mengganggu proses dan hasil analisis. Metanol dan akuabides yang sudah disaring kemudian dipindahkan ke botol fase gerak, kemudian dilakukan degasifikasi selama 10 menit untuk menghilangkan gelembung udara yang terdapat di dalamnya.

Pembuatan Larutan Baku Stok Genistein

Ditimbang saksama baku genistein sebanyak 0,2 mg menggunakan timbangan *ultramicro*, dilarutkan dalam metanol p.a sebanyak 0,5 mL.

Pembuatan Larutan Baku Intermediet Genistein

Dibuat larutan baku intermediet dengan mengambil larutan baku stok sebanyak 0,25 mL dan ditambahkan metanol p.a hingga 1 mL ke dalam *microtube*.

Pembuatan Larutan Seri Baku Genistein

Dibuat seri kadar 4; 6; 8; 10; 14; 18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dari larutan intermediet baku dengan mengambil sebanyak 40, 60, 80, 100, 140, 180 μL larutan intermediet baku, lalu masing-masing ditambahkan metanol hingga 1 mL ke dalam *microtube*. Saring larutan tersebut dengan millipore 0,45 μm dan didegasifikasi selama 10 menit. Larutan seri baku genistein siap untuk diinjeksikan.

Preparasi Sampel Injeksi KCKT

Hasil fraksi etil asetat yang telah mencapai bobot tetap dilarutkan menggunakan metanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan hingga batas tanda (sebagai stok sampel). Diambil sebanyak 50 μL dari larutan tersebut, dimasukkan ke dalam mikrotube dan ditambahkan metanol p.a hingga volume larutan mencapai 1,0 mL lalu digojog agar homogen. Sampel kemudian disaring menggunakan millipore dengan pori 0,45 μm lalu dipindahkan ke vial dan dilakukan degasing selama 10 menit untuk memastikan tidak ada gelembung. Sampel siap di analisis dengan KCKT (Yuliani *et al.*, 2016).

Tata Cara Analisis Hasil

Metode KCKT yang digunakan adalah KCKT fase terbalik dengan pengaturan kondisi alat sebagai berikut : detektor UV dengan panjang gelombang 261 nm, kolom Phenomenex C18 No 00G-4252-EO (250 x 4,6 mm), fase gerak

metanol-akuabides (60:40), kecepatan alir 0,8 mL/menit dan volume injeksi sampel 10 μL . Metode yang digunakan dalam penelitian ini telah memenuhi kriteria penerimaan untuk akurasi berdasarkan persen *recovery* yaitu 80%-110% untuk kadar analit 1-10 ppm dimana nilai persen *recovery*, sedangkan kriteria penerimaan untuk presisi berdasarkan nilai RSD yaitu $\leq 7,3\%$ untuk kadar analit 10 ppm (Gonzalez and Herrador, 2007). Dari hasil penelitian, didapatkan linearitas metode dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9984 dengan persamaan kurva baku $y = 86486x - 61405$. Metode analisis dikatakan linear apabila memenuhi nilai koefisien korelasi (r) $\geq 0,998$ (Kazakevich and LoBruto, 2007). Selektivitas yang diperoleh dari metode ini memiliki nilai (R_s) $\geq 1,5$ sehingga dikatakan metode ini sudah dapat memisahkan senyawa genistein dengan senyawa lain dalam matriks secara selektif, dimana kriteria selektivitas terpenuhi apabila didapatkan nilai resolusi yaitu $\geq 1,5$ (Snyder *et al.* 2010). Penentuan *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ) metode mengacu pada Miller & Miller (2010), Nilai LOD dan LOQ yang diperoleh diperoleh dari penelitian ini yaitu LOD 0,7337 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan LOQ 2,4455 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Analisis kualitatif Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan *retention time* (t_R) standar baku genistein terhadap *retention time* (t_R) sampel yang ditampilkan pada kromatogram yang didapat dari data output *analysis report*.

Analisis kuantitatif Analisis kuantitatif berupa penetapan kadar genistein menggunakan persamaan kurva baku ($y = bx + a$). Perhitungan dilakukan dengan memasukkan nilai AUC (*Area Under Curve*) yang didapat dari data output *analysis report* sebagai (y) ke dalam persamaan tersebut sehingga akan didapatkan nilai (x) $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang merupakan kadar dalam sampel injeksi KCKT. Kemudian untuk mendapatkan kadar dalam tempe kering, digunakan perhitungan :

$$\text{Kadar dalam sampel injeksi KCKT} \times \text{fp} \times \text{volume sampel} \times \text{rendemen} = x \text{ mg \%}$$

Keterangan :

- fp : faktor pengenceran (20x)
- volume sampel : volume larutan fraksi etil asetat yang telah mencapai bobot tetap dengan pelarut metaol p.a (10 mL)
- rendemen : $\frac{\text{jumlah ekstrak yang dihasilkan dan mencapai bobot tetap}}{\text{jumlah bahan sebelum diolah (ekstraksi)}} \times 100\% = y \%$

Kadar genistein dalam ekstrak tempe dinyatakan dalam satuan mg%. Hasil penetapan kadar yang didapat dari masing-masing ekstrak kemudian dihitung standar deviasi (SD) lalu data dianalisis uji statistik ANAVA satu jalur menggunakan *software R x64 3.4.3* untuk melihat kebermaknaan diantara variabel-variabel penelitian (Supardi, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Simplisia

Bahan sampel yang digunakan merupakan tempe segar dengan merk “Tempe Muchlar” yang dibuat dari bahan baku jenis kedelai putih import USA Soybeans Gold Quality dengan lama fermentasi selama tiga hari. Penggunaan tempe yang telah melalui fermentasi tiga hari (72 jam) menunjukkan hasil uji aktivitas antioksidan isoflavon yang lebih besar dibanding tempe yang difermentasi selama 48 jam yaitu $85,15\% \pm 1,19\%$ dibanding $82,86\% \pm 0,89\%$ (Ariani dan Hastuti, 2009). Fermentasi umumnya terjadi pada saat inkubasi dengan kondisi suhu 25^0 - 37^0 C dan lama waktu 20-80 jam (Rahayu *et al.*, 2015).

Tempe kemudian dikeringkan selama 24 jam, lalu dibuat serbuk simplisia yang terbagi dalam lima ukuran partikel berbeda (1,68 mm; 1,41 mm; 1,19 mm; 0,841 mm; dan 0,595 mm). Pengeringan tempe dilakukan karena hasil penelitian Haron *et al.*, (2009) menunjukkan kandungan isoflavon dalam 100 gram tempe berdasarkan berat kering lebih banyak dibandingkan isoflavon yang terkandung dalam 100 gram tempe berdasarkan berat basah.

Pra-Ekstraksi (Defatisasi) dan Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam tahap pra-ekstraksi dan ekstraksi adalah maserasi, dimana serbuk kasar diletakkan dalam sebuah wadah bersama dengan pelarut/penyari dan didiamkan dalam suhu ruang selama periode waktu tertentu hingga senyawa tertentu yang ingin diambil terlarut dalam pelarut tersebut melalui proses pengocokan atau pengadukan, campuran kemudian disaring untuk memisahkan padatan dan larutan (Kostova *et al.*, 2008). Pemilihan metode maserasi mengacu pada penelitian Setiawati *et al.* (2014) dan mempertimbangkan keuntungan metode yang lebih hemat biaya dan cukup sederhana.

Tempe merupakan makanan yang mengandung banyak zat gizi dimana salah satunya adalah lemak (BSN 2012). Defatisasi adalah menghilangkan fase lemak dan senyawa non polar lain yang terkandung dalam tempe (Setiawati *et al.*, 2014). Baddi *and* Howell (2006), menyatakan proses penghilangan lemak (*defattting*) cocok digunakan pada sumber bahan baku yang mengandung lemak. Petroleum eter digunakan sebagai pelarut senyawa lemak dalam proses defatisasi supaya didapatkan ekstrak yang kering sempurna. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% sebab merupakan pelarut yang paling optimal dibanding etanol murni atau etanol 96% dalam mendapatkan kadar genistein yang tinggi (Agrawal *et al.*, 2015). Berikut urutan pelarut dari yang paling mudah hingga sukar melarutkan genistein : metanol \approx etanol > propan-2-ol > 1-buthanol > air Wu *et al.*, (2010). Dosis toksik minimum metanol adalah 100 mg/kg sedangkan dosis toksik minimum etanol adalah 700 mg/kg (Olson, 2012). Sehingga dilihat dari sisi ekonomis dan toksitasnya, penggunaan etanol 70% lebih direkomendasikan sebagai pelarut untuk tahap ekstraksi yang membutuhkan banyak volume pelarut. Dosis toksik minimum metanol adalah 100 mg/kg sedangkan dosis toksik minimum etanol adalah 700 mg/kg (Olson, 2012). Perlakuan selama proses ekstraksi dilakukan pada suhu tidak lebih dari 60°C untuk menghindari rusaknya senyawa genistein pada sampel, perbandingan serbuk simplisia : pelarut (1:3) (Setiawati *et al.*, 2014).

Hasil Esktrak Tempe

Tabel 2. Hasil ekstraksi 50 gram serbuk tempe

Sampel	Ukuran Serbuk (mm)	\bar{x} Bobot Sampel* (gram)	\bar{x} Bobot Ekstrak (gram)	\bar{x} Rendemen \pm SD (%)
A	1,68	49,7133	2,4040	4,84 \pm 0,36
B	1,41	48,7800	2,1967	4,50 \pm 0,78
C	1,19	49,5533	2,5115	5,07 \pm 0,27
D	0,841	42,9267	2,7362	6,37 \pm 0,36
E	0,595	48,9967	3,6346	7,42 \pm 2,13

*Sampel setelah melalui proses defatisasi

Berdasarkan hasil penelitian, terlihat bahwa rata-rata rendemen ekstrak paling besar dimiliki oleh sampel E (serbuk 30 mesh) yaitu $7,42 \pm 2,36$ % sedangkan rata-rata rendemen ekstrak paling kecil dimiliki oleh sampel B (serbuk

14 mesh) yaitu $4,50 \pm 3,86\%$. Urutan nilai rata-rata rendemen ekstrak dari yang terbesar sampai yang terkecil sebagai berikut : sampel E > sampel D > sampel C > sampel A > sampel B. Hal ini dikarenakan semakin kecil ukuran serbuk/partikel (semakin besar nomor mesh) maka serbuk akan makin halus sehingga semakin besar luas permukaan serbuk yang akan mengalami kontak dengan larutan penyari sehingga penyari akan semakin mudah menarik senyawa aktif, dimana begitu juga sebaliknya apabila semakin besar ukuran serbuk (semakin kecil nomor mesh) sehingga permukaan yang mengalami kontak dengan larutan penyari akan semakin kecil sehingga senyawa aktif di dalam sel yang tertarik akan semakin sedikit. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi yang menerapkan prinsip kesetimbangan konsentrasi antara konsentrasi penyari dengan konsentrasi sel, sehingga apabila sudah mencapai kesetimbangan tetap (konstan) maka proses ekstraksi akan berhenti.

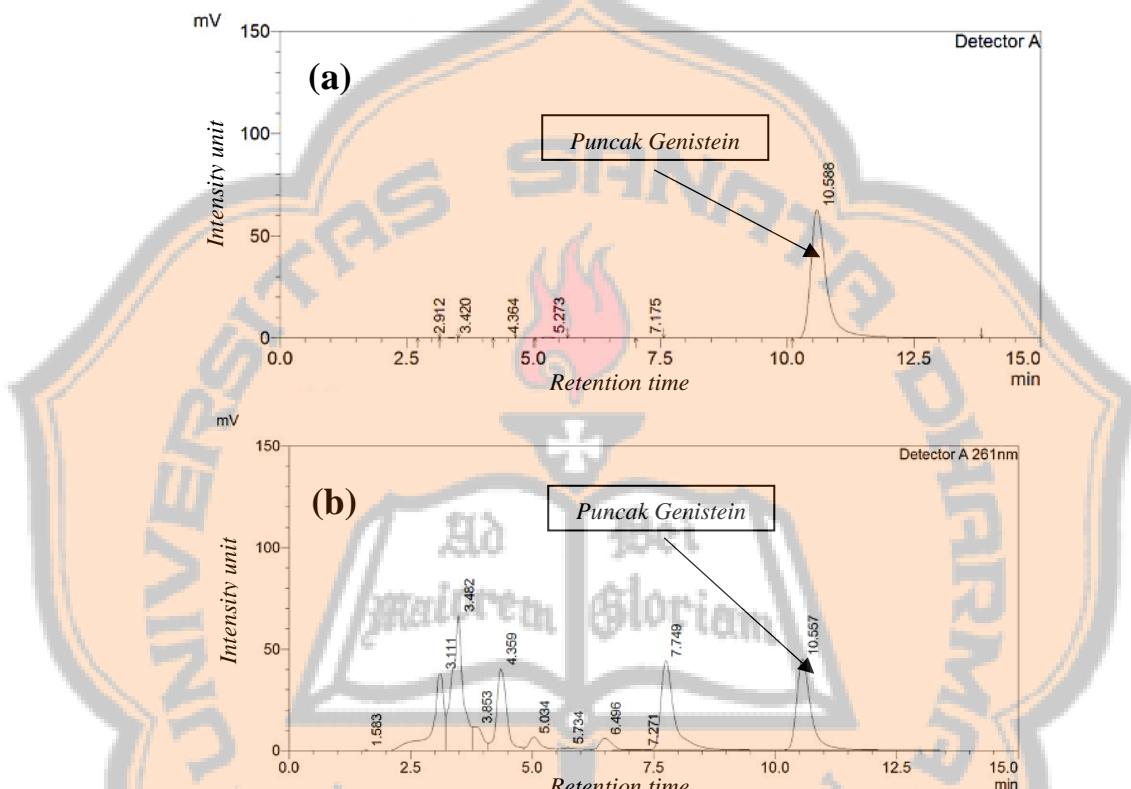
Fraksinasi

Ekstrak yang didapatkan merupakan campuran dari berbagai senyawa dan senyawa-senyawa tersebut sulit dipisahkan dengan teknik pemisahan secara tunggal, sehingga fraksinasi dalam tahap ini bertujuan untuk memisahkan berbagai senyawa tersebut ke dalam fraksi dengan polaritas yang sama (Sarker *et al.*, 2012). Metode yang digunakan adalah ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*, LLE) yang berguna sebagai cara praperlakuan sampel atau *clean-up* sampel untuk memisahkan analit-analit dari komponen-komponen matriks yang mungkin mengganggu saat analisa kuantifikasi atau deteksi analit, metode ini juga digunakan untuk memekatkan analit dalam sampel dengan jumlah kecil serta umumnya prosedur ini menggunakan ekstraksi analit dari fase air ke dalam pelarut organik bersifat non polar atau semi polar (Rohman dan Gandjar, 2007). Ekstrak yang didapat kemudian difraksinasi menggunakan pelarut air (polar) dan pelarut etil asetat (non polar).

Analisis Kualitatif

Hasil analisis kualitatif menunjukkan adanya kandungan genistein pada sampel ekstrak tempe dengan mengamati dan membandingkan *retention time* (*tR*) pada kromatogram baku genistein dengan kromatogram sampel ekstrak. Pada

representatif kromatogram baku menunjukkan t_R pada menit ke 10,709 dan pada representatif kromatogram sampel menunjukkan t_R pada menit ke 10,614. Menurut *Council Directive of European Community* (2002) rentang jarak *retention time* (t_R) yang disarankan untuk metode *liquid chromatographic* (LC) adalah $\leq 2,5\%$ dari *retention time* (t_R) standar baku .



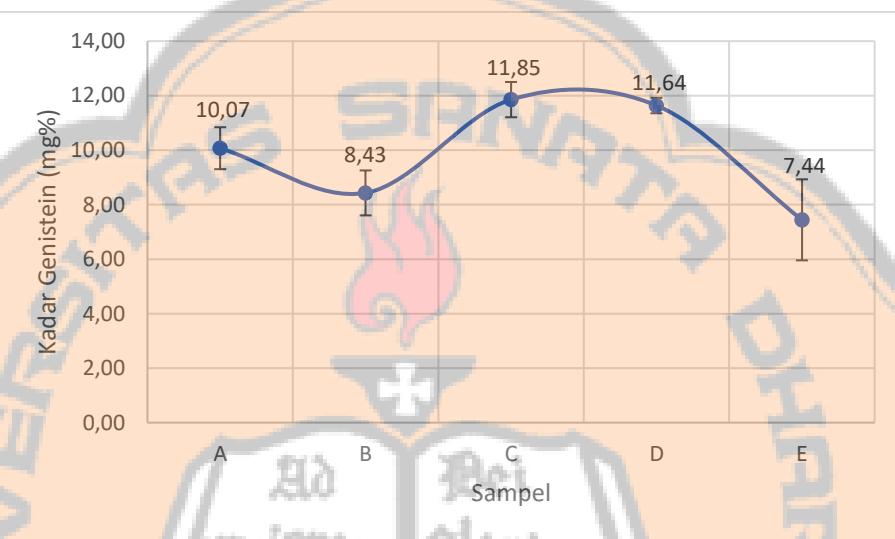
Gambar 1. Representatif kromatogram standar baku genistein (a) dan sampel ekstrak tempe (b). Kolom : Phenomenex® C18 No 00G-4252-EO (250 x 4,6 mm). Fase gerak : metanol-akuabides (60:40). Flowrate : 0,8 mL/menit. Deteksi pada panjang gelombang 261 nm

Analisis Kuantitatif

Kondisi KCKT menggunakan metode dengan komposisi fase gerak metanol : akuabides (60:40), *flowrate* 0,8 mL/menit, dan volume larutan injeksi 10 μ L. Digunakannya kondisi KCKT tersebut karena menghasilkan nilai resolusi atau pemisahan antara dua puncak sebesar 6,324 dimana telah memenuhi kriteria nilai resolusi yang ditetapkan yaitu $\geq 1,5$ (Snyder *et al.*, 2010).

Penetapan kadar kandungan senyawa genistein pada sampel menggunakan persamaan regresi linear $y = 86486x - 61405$ dengan koefisien korelasi $R = 0,9984$

yang didapatkan dari tujuh seri kadar baku genistein yaitu 4,150; 6,225; 8,300; 10,375; 12,450; 14,525; 16,600 $\mu\text{g/mL}$. Hasil menunjukkan penetapan kadar genistein dalam tempe kering sampel A = $10,07 \pm 0,77 \text{ mg\%}$; sampel B = $8,43 \pm 0,82 \text{ mg\%}$; sampel C = $11,85 \pm 0,65 \text{ mg\%}$; sampel D = $11,64 \pm 0,28 \text{ mg\%}$; dan sampel E = $7,44 \pm 1,49 \text{ mg\%}$. Profil kadar genistein antar sampel dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Kurva perbandingan ukuran partikel (mesh) terhadap kadar genistein pada tempe kering

Selanjutnya dilakukan uji normalitas untuk mengetahui normal tidaknya suatu distribusi data sebagai persyaratan uji analisis untuk menentukan uji statistik parametrik atau non parametrik (Supardi, 2013). Uji normalitas yang digunakan adalah uji normalitas *Pearson chi-aquare*, hasil menunjukkan data kadar genistein sampel A dan sampel B berdistribusi normal dimana $p\text{-value} > 0,05$, $p\text{-value} = 0,06$; dan data kadar genistein sampel C, D dan E berdistribusi,normal $p\text{-value} > 0,05$, $p\text{-value} = 0,32$. Kemudian dilakukan uji homogenitas untuk menguji kesamaan varian setiap kelompok data, uji ini perlu dilakukan untuk melakukan analisis inferensial dalam uji komparasi (Supardi, 2013). Uji homogenitas menghasilkan nilai $p\text{-value}$ di bawah “ $\text{Pr}(>\text{F})$ ”, $\text{Pr}(>\text{F}) = 0,152$, artinya pada taraf kepercayaan 95% varian homogen ($p\text{-value} \geq 0,05$). Setelah itu analisis dilanjutkan ke ANAVA satu jalur.

Hipotesis yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 9. Data Uji Statistik pada bagian sub bab nomor 4. Uji ANAVA satu jalur. Uji ANAVA satu jalur

menghasilkan $p\text{-value} = 0,00039$, karena $p\text{-value} < 0,05$ maka pada taraf kepercayaan 95% (nilai signifikansi $\alpha = 0,05$), H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan setidaknya satu rata-rata kadar genistein yang didapat pada salah satu sampel terhadap sampel lainnya yang berbeda ukuran partikel.

Kemudian uji statistik dilanjutkan dengan uji *post hoc* untuk melihat data pada sampel mana yang menunjukkan perbedaan. Apabila nilai *Adjusted p-value* (p_{adj}) \leq nilai signifikansi ($0,05/2$) artinya pada taraf kepercayaan 95% keduanya berbeda secara statistik, tetapi apabila nilai $p_{adj} \geq$ nilai signifikansi ($0,05/2$) artinya pada taraf kepercayaan 95% keduanya tidak berbeda secara statistik. Dari hasil analisis *post hoc* didapatkan bahwa rerata kadar genistein pada sampel E dan B merupakan kelompok data yang berbeda terhadap kadar genistein sampel C dan D karena memiliki “ p_{adj} ” \geq nilai signifikansi. *Adjusted p-value* (p_{adj}) rerata kadar genistein pada sampel E dibandingkan sampel C adalah 0,0009 dan dibandingkan sampel D adalah 0,013. Sedangkan *adjusted p-value* (p_{adj}) rerata kadar genistein pada sampel B dibandingkan sampel C adalah 0,0059 dan dibandingkan sampel D adalah 0,0092. Tetapi rerata kadar genistein pada sampel E dan B tidak berbeda secara statistik karena memiliki nilai $p_{adj} \geq$ nilai signifikansi yaitu $p_{adj} = 0,6627$. Rerata kadar genistein pada sampel C, D, dan A tidak berbeda secara statistik karena memiliki nilai $p_{adj} \geq$ nilai signifikansi.

Pengaruh Perbedaan Ukuran Partikel

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar genistein tiap kelompok sampel memiliki nilai $p\text{-value} \leq 0,05$, sehingga dapat disimpulkan secara statistik bahwa setidaknya ada satu rata-rata kadar genistein pada salah satu sampel yang berbeda terhadap rata-rata kadar genistein pada sampel lainnya. Dari data tidak dapat ditentukan ukuran partikel yang menghasilkan kadar genistein paling optimal karena tidak ditemukan rerata kadar genistein pada salah satu sampel yang memiliki perbedaan signifikan terhadap seluruh rerata kadar genistein sampel lainnya. Pemberian perlakuan berupa perbedaan ukuran partikel simplisia tempe sebelum dilakukan proses ekstraksi memberikan perbedaan yang signifikan pada rerata kadar genistein beberapa sampel yaitu pada sampel B dan E terhadap sampel

C dan D. Tetapi kadar senyawa genistein yang didapat antar sampel B dan E tidak memberikan perbedaan yang signifikan maupun dengan sampel A, karena rerata kadar genistein sampel A nilai rerata kadar yang berbeda tidak signifikan dengan seluruh sampel. Melihat hasil rendemen ekstrak, nilai tertinggi dimiliki oleh sampel E yang memiliki ukuran serbuk simplisia terkecil yaitu 30 mesh atau 0,60 mm dan nilai rendemen secara berurutan semakin mengecil seiring bertambah besarnya ukuran partikel. Hal ini sesuai penelitian Handa *et al.*, (2008) bahwa semakin kecil ukuran partikel akan mengakibatkan semakin luasnya permukaan dari partikel tersebut sehingga meningkatkan besaran area yang mengalami kontak dengan penyari yang membuat transfer massa senyawa aktif dari material tanaman ke penyari semakin besar (Makanjulo *et al.*, 2017). Tetapi rendemen ekstrak tidak merepresentasikan kadar senyawa genistein, karena masih terdapat banyak senyawa aktif lain yang terkandung di dalamnya selain genistein. Tidak adanya pengaruh yang signifikan dari perbedaan ukuran partikel terhadap kadar genistein yang didapat bisa disebabkan oleh beberapa faktor. Penelitian Baldosano *et al.*, (2015) tentang ekstraksi tanin, menyatakan bahwa ukuran partikel yang semakin baik/kecil dapat menghasilkan kadar tanin yang tinggi selama tidak terjadi aglomerasi saat proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran partikel membuat luas permukaan partikel juga semakin besar tetapi semakin kecil ukuran partikel akan meningkatkan terjadinya aglomerasi dimana menyebabkan partikel menjadi semakin kompak sehingga menyebabkan penyari sulit untuk melewatiinya yang berujung pada penurunan efisiensi ekstraksi (Baldosano *et al.*, 2015). Ukuran partikel yang semakin kecil membuat partikel tersebut memiliki sifat untuk mengendap di dasar wadah saat proses ekstraksi sehingga penyari sulit menembus, beberapa partikel menjadi tidak terekstraksi secara optimal. Perlu diperhatikan juga apabila partikel dalam ukuran kecil akan memiliki sifat lengket sehingga akan mengganggu proses filtrasi pada estraksi (Vuong *et al.*, 2011).

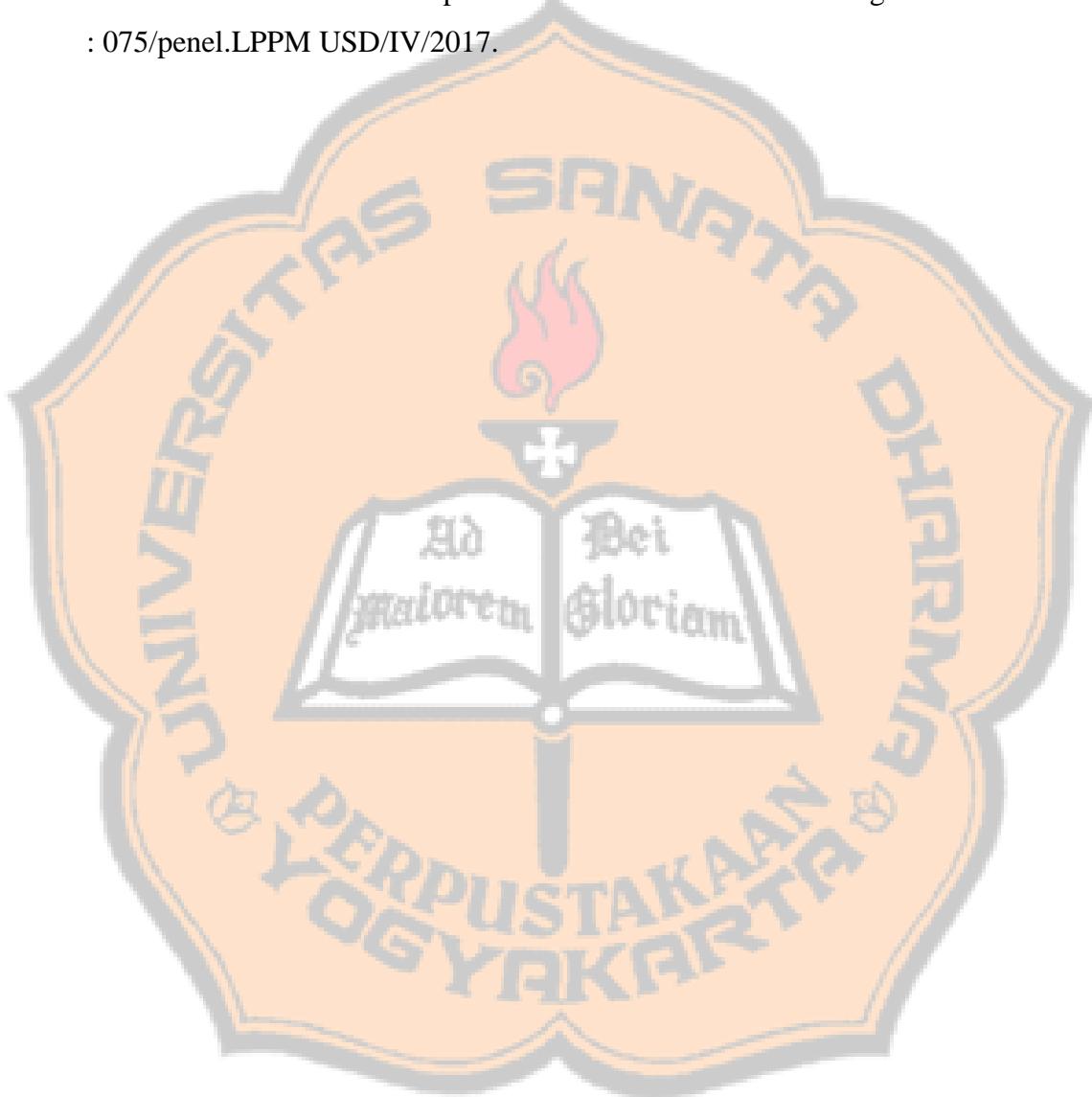
KESIMPULAN

Ukuran partikel simplisia tempe yang semakin kecil tidak menentukan semakin banyaknya kadar genistein yang didapatkan. Ukuran partikel hanya

memberikan pengaruh yang berbanding lurus pada rendemen ekstrak dimana semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar rendemen ekstrak yang didapat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai penelitian PTUPT Ristek Dikti dengan nomor kontrak : 075/penel.LPPM USD/IV/2017.



DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal J.S.S., Saxena S., Sharma A., 2015, Phytoestrogen “Genistein”: Its Extraction and Isolation from Soybean Seeds. *International Journal of Pharmcognosy and Phytochemical Research*, 7(6); 1121-1126.
- Ariani S.R.D., dan Hastuti W., 2009, Analisis Isoflavon dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Tempe dengan Variasi Lama Waktu Fermentasi dan Metode Ekstraksi, *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pend. Kimia*, Surakarta, hal.568-580
- Badan Standarisasi Nasional, 2012, Tempe : Persembahan Indonesia untuk Dunia, Pusat Informasi dan Dokumentasi (PUSIDO), Indonesia, Website : www.bsn.go.id
- Baddi F., Howell N.K., 2006. Fish Gelatin : Structure, Gelling Properties and Interaction with Egg Albumen Proteins. *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 20, 630-640.
- Baldosano H.Y., Castillo B.M.G., Elloran C.D.H., Bacani F.T., 2015, Effect of Particle Size, Solvent and Extraction Time on Tannin Extract from Spondias purpurea Bark Through Soxhlet Extraction. *Chemical Eng. Depart., De La Salle Univ., Manila*. 1-6
- Bhagwat, S., Haytowitz, D.B., and Holden, J.M., 2008, USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory, Home Page : <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata/isoflav>
- Council Directive of European Communities, 2002, *Commision Decision Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results*, The Commision of The European Communities, p.8
- Gandjar I.G., dan Rohman A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar : Yogyakarta,hal.46
- Gilbert, R.E., Liu D., 2013, Anti-diabetic functions of soy isoflavone genistein : mechanisms underlying its effects on pancreatic β -cell function, *Food Funct*,

4, 200

- Gonzalez, A.G. & Herrador, M.A., 2007. A Practical Guide to Analytical Method Validation, Including Measurement Uncertainty and Accuracy Profiles. *Trends in Analytical Chemistry*, 26(3), 227–238.
- Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., and Rakesh D.D., 2008, An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. *Trieste: ICS-UNIDO*.21–54
- Haron, H., Ismail, A., Azlan, A., Shahar, S. and Peng, L. S., 2009. Daidzein and Genestein Contents in Tempeh and Selected Soy Products. *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 115(4), 1350–1356.
- Hati S., Vij S., Singh B.P., and Mandal S., 2014, β -Glucosidase Activity and Bioconversion of Isoflavones during Fermentation of Soymilk. *J Sci Food Agric*, 95, 216-220.
- Kazakevich, Y. & LoBruto, R., 2007. *HPLC For Pharmaceutical Scientists*, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Kostova, I., Ojala, T., Lacy, A., O'Kennedy, R., Widelski, J., Melliou, E., Fokialakis, N., Magiatis, P., Glowniak, K., Chinou, I., Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E., Kellner, S., Matern, U., Mirunalini, S., Yadav, R., Agarwala, M., Jain, P., Joshi, H., Manrochem, Pauli, G. F., Pro, S. M., Friesen, J. B., Votano, J., Parham, M., Hall, L., Buss, A. D. and Butler, M. S., 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *Journal of natural products*, 5(8), 440.
- Makanjuola S.A., 2017, Influence of Particle Size and Extraction Solvent on Antioxidant Properties of Extracts of Tea, Ginger, and Tea-Ginger Blend. *Food Sci Nutr*.00:1-7
- Maulida R, Any Gutarti, 2015, Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) terhadap Rendemen Ekstrak dan Kandungan Total Antosianin, *Pharmaciana*, vol.5, No. 1, 2015: 9-16
- Miller, J.N. & Miller, J.C., 2010. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* Sixth Edit., Harlow, England: Pearson Education Limited.
- Olson, Kent R., 2012, *Poisoning and Drug Overdose*,6th edition, Mc Graw-Hill,

- United States. pp.204,278-282
- Pavese, J. M., Farmer, R. L. and Bergan, R. C., 2010. Inhibition of Cancer Cell Invasion and Metastasis by Genistein. *Cancer and Metastasis Reviews*, 29(3), 465–482.
- Rahayu W.P., Pambayun R., Santoso U., Nuraida L., dan Ardiansyah, 2015, Tinjauan Ilmiah Teknologi Pengolahan Tempe Kedelai, Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI), 1-34.
- Sapri, Fitriani, A. and Narulita, R., 2014. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dengan Metode Maserasi. 1–4.
- Sarker SD, Latif Z, and Gray AI. 2006. *Natural Products Isolation*. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. pp. 6-10, 18.
- Setiawati, A., Yuliani, S. H., Gani, M. R., Veronica, E. F., Putri, D. C. A., Putra, R. E., Putra, D. C., Kurniawan, A. M. and Istyastono, E. P., 2014. Analisis Kuantitatif Isoflavon Tempe Secara Cepat dan sederhana Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis- Densitometri. *Jfsk*, 11(1), 13–17.
- Sigma-Aldrich, 2003, *Particle Size Conversion Table*, viewed 16 Maret 2018, dari <https://www.sigmaaldrich.com/chemistry/stockroom-reagents/learning-center/technical-library/particle-size-conversion.html>
- Snyder, L.R., Kirkland, J.J. & Dolan, J.W., 2010. *Introduction to Modern Liquid Third Edition*, Third Edit., Hoboken, New Jersey: John Wiley&Sons, Inc.
- Supardi U.S., 2013, Aplikasi Statistika Dalam Penelitian Konsep Statistika Yang Lebih Komprehensif, Change Publication : Jakarta Selatan, Indonesia, 129-185.
- Vuong Q.V., Golding J.B., Stathopoulos C.E., Nguyen M.H., and Roach P.D., 2011, Optimising Conditions for The Extraction of Catechins from Green Tea Using Hot Water. *Journal of Separation Science*, 34,3099–3106.
- Wu, J., Ge, J., Zhang, Y., Yu, Y. and Zhang, X., 2010. Solubility of Genistein in Water, Metanol, Etanol, Propan-2-ol, 1-Butanol, and Ethyl Acetate from (280 to 333) K. *J. Chem*, 5286–5288.

Yuliani, S. H., Istyastono, E. P. and Riswanto, F. D. O., 2016. The Cytotoxic Activity on T47D Breast Cancer Cell of Genistein-Standardized Etanolic Extract of Tempeh - A Fermented Product of Soybean (*Glycine max*). *Oriental Journal of Chemistry*, 32(3), 1619–1624.

Zhu, X. Y., Lin, H. M., Xie, J., Chen, S. S. and Wang, P., 2011. Homogenate Extraction of Isoflavones from Soybean Meal by Orthogonal Design. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 70(6), 455–460.



Lampiran 1. Certificate of Analysis working standart genistein**SIGMA-ALDRICH®**

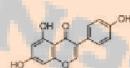
sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.comEmail USA: techserv@sial.comOutside USA: eurtchserv@sial.com**Certificate of Analysis**

Product Name:
Genistein - synthetic, ≥98% (HPLC), powder

Product Number: G6649
 Batch Number: SLBM3299V
 Brand: SIGMA
 CAS Number: 446-72-0
 MDL Number: MFCD00016952
 Formula: C15H10O5
 Formula Weight: 270.24 g/mol
 Storage Temperature: Store at -20 °C
 Quality Release Date: 21 JAN 2015



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Off-White to Yellow	Off-White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Faint Yellow to Light Yellow	Faint Yellow
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
10 mg/mL ,CHCl ₃ :MeOH (1:1)		
Origin	Synthetic	Synthetic
EmM	36.1 - 36.8	36.3
Lambda max 262 to 263 nm in EtOH	≥ 98 %	99 %
Purity (HPLC)		

Rodney Burbach

Rodney Burbach, Manager
 Analytical Services
 St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Lampiran 2. Dokumentasi Ekstraksi Tempe



Gambar 3. Tempe “Muchlar”



Gambar 4. Ekstrak tempe



Gambar 5. Hasil fraksinasi ekstrak tempe



Gambar 6. Fraksinasi ekstrak tempe



Gambar 7. Preparasi sampel injek KCKT

Lampiran 3. Data Perhitungan Bobot**Tabel 3.** Perhitungan Bobot Serbuk 12 mesh

Replikasi	Bobot simplisia tempe kering (g)	Bobot ekstrak tempe (g)	Bobot fraksi (g)
1	49,6200	2,2200	0,8457
2	49,7400	2,5806	0,4427
3	49,7800	2,4113	0,3984
Mean	49,7133	2,4040	0,5623
SD	0,0833	0,1804	0,2465

Tabel 4. Perhitungan Bobot Serbuk 14 mesh

Replikasi	Bobot simplisia tempe kering (g)	bobot ekstrak tempe (g)	bobot fraksi (g)
1	49,1000	2,6253	0,4631
2	48,8800	1,8567	0,3795
3	48,3600	2,1082	0,4253
Mean	48,7800	2,1967	0,4226
SD	0,3800	0,3919	0,0419

Tabel 5. Perhitungan Bobot Serbuk 16 mesh

Replikasi	Bobot simplisia tempe kering (g)	bobot ekstrak tempe (g)	bobot fraksi (g)
1	49,3500	2,4661	0,8497
2	49,3000	2,3841	0,4459
3	50,0100	2,6843	0,7625
Mean	49,5533	2,5115	0,6860
SD	0,3963	0,1552	0,2125

Tabel 6. Perhitungan Bobot Serbuk 20 mesh

Replikasi	Bobot simplisia tempe kering (g)	bobot ekstrak tempe (g)	bobot fraksi (g)
1	42,8100	2,5496	0,5819
2	42,8100	2,8280	0,6396
3	43,1600	2,8311	0,5572
Mean	42,9267	2,7362	0,5929
SD	0,2021	0,1616	0,0423

Tabel 7. Perhitungan Bobot Serbuk 30 mesh

Replikasi	Bobot simplisia tempe kering (g)	bobot ekstrak tempe (g)	bobot fraksi (g)
1	49,1000	4,8487	0,6588
2	48,7300	3,0861	0,5149
3	49,1600	2,9690	0,3890
Mean	48,9967	3,6346	0,5209
SD	0,2329	1,0531	0,1350

Lampiran 4. Perhitungan Seri Konsentrasi Kurva Baku

Penimbangan baku genistein 0,2077 mg

$$\text{Konsentrasi stok genistein} = \frac{0,2077 \text{ mg}}{0,5 \text{ mL}} = 0,415 \text{ mg/mL} = 415 \mu\text{g/mL}$$

Konsentrasi baku intermediet genistein

C1 .	V1	=	C2 .	V2
415 $\mu\text{g/mL}$.	250 μL	=	C2 .	1000 μL
		=	C2	103,75 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi seri Seri Baku 4 $\mu\text{g/mL}$

C1 .	V1	=	C2	V2
103,75 $\mu\text{g/mL}$.	40 μL	=	C2 .	1000 μL
		=	C2	4,150 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi seri Seri Baku 6 $\mu\text{g/mL}$

C1 .	V1	=	C2	V2
103,75 $\mu\text{g/mL}$.	60 μL	=	C2 .	1000 μL
		=	C2	6,225 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi seri Seri Baku 8 $\mu\text{g/mL}$

C1 .	V1	=	C2	V2
103,75 $\mu\text{g/mL}$.	80 μL	=	C2 .	1000 μL
		=	C2	8,300 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi seri Seri Baku 10 $\mu\text{g/mL}$

C1 .	V1	=	C2	V2
103,75 $\mu\text{g/mL}$.	100 μL	=	C2 .	1000 μL
		=	C2	10,375 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi seri Seri Baku 12 $\mu\text{g/mL}$

C1 .	V1	=	C2	V2
103,75 $\mu\text{g/mL}$.	120 μL	=	C2 .	1000 μL
		=	C2	12,450 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi seri Seri Baku 14 $\mu\text{g/mL}$

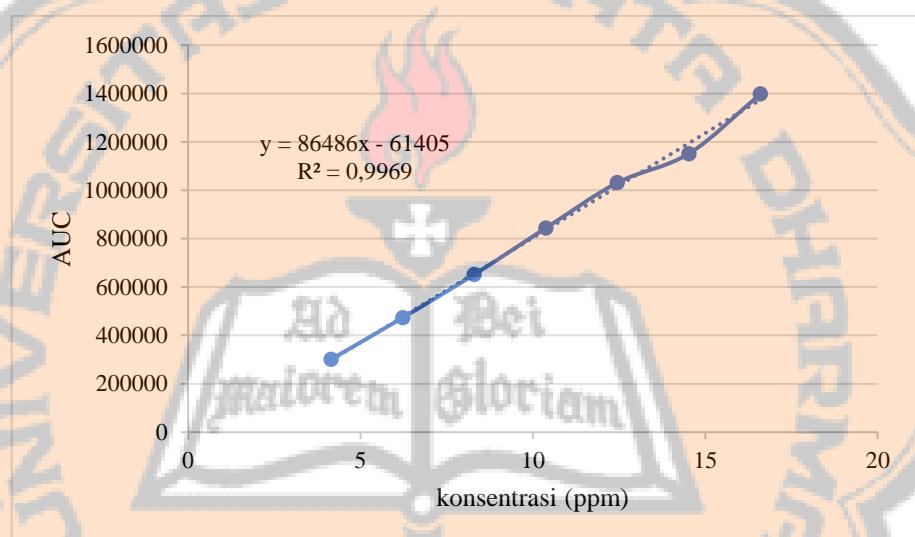
C1 .	V1	=	C2	V2
103,75 $\mu\text{g/mL}$.	140 μL	=	C2 .	1000 μL
		=	C2	14,525 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi seri Seri Baku 16 $\mu\text{g/mL}$

C1 .	V1	=	C2	V2
103,75 $\mu\text{g/mL}$.	160 μL	=	C2 .	1000 μL
		=	C2	16,600 $\mu\text{g/mL}$

Tabel 8. Seri kurva baku genistein

Konsentrasi (ppm)	AUC
4,150	301523
6,225	473205
8,300	652004
10,375	843811
12,450	1031313
14,525	1151572
16,600	1397790



Gambar 8. Kurva seri baku genistein

Lampiran 5. Contoh Perhitungan Data Akurasi dan Presisi Metode

1. Contoh perhitungan konsentrasi teoritis

Penimbangan baku genistein = 0,2273 mg

$$\text{Konsentrasi stok genistein} = \frac{0,2273 \text{ mg}}{1,0 \text{ mL}} = 0,2273 \text{ mg/mL} = 227,3 \mu\text{g/mL}$$

Konsentrasi larutan seri 8 µg/mL

$$\begin{array}{llll} \text{C1 .} & \text{V1} & = & \text{C2} \\ 227,3 \mu\text{g/mL} . & 35 \mu\text{L} & = & \text{C2} . \\ & & & 1000 \mu\text{L} \\ & & \text{C2} & = \\ & & & 7,9555 \mu\text{g/mL} \end{array}$$

Konsentrasi larutan seri 16 µg/mL

$$\begin{array}{llll} \text{C1 .} & \text{V1} & = & \text{C2} \\ 227,3 \mu\text{g/mL} . & 70 \mu\text{L} & = & \text{C2} . \\ & & & 1000 \mu\text{L} \\ & & \text{C2} & = \\ & & & 15,911 \mu\text{g/mL} \end{array}$$

Konsentrasi larutan seri 24 µg/mL

$$\begin{array}{llll} \text{C1 .} & \text{V1} & = & \text{C2} \\ 227,3 \mu\text{g/mL} . & 105 \mu\text{L} & = & \text{C2} . \\ & & & 1000 \mu\text{L} \\ & & \text{C2} & = \\ & & & 23,8655 \mu\text{g/mL} \end{array}$$

2. Contoh perhitungan konsentrasi sebenarnya (*intraday replikasi 2*)

$$8 \mu\text{g/mL} \rightarrow y = 37689x - 67213$$

$$785375 = 37689x - 67213$$

$$x = 22,6217 \mu\text{g/mL}$$

$$16 \mu\text{g/mL} \rightarrow y = 37689x - 67213$$

$$854558 = 37689x - 67213$$

$$x = 24,4573 \mu\text{g/mL}$$

$$24 \mu\text{g/mL} \rightarrow y = 37689x - 67213$$

$$1059075 = 37689x - 67213$$

$$x = 29,8837 \mu\text{g/mL}$$

3. Contoh perhitungan persen *recovery* (*intraday replikasi 2*)

% Recovery Total

$$= \frac{\text{konsentrasi sebenarnya}}{\text{rerata konsentrasi tanpa adisi} + \text{konsentrasi adisi}} \times 100\%$$

$$8 \mu\text{g/mL} \rightarrow \text{Recovery} = \frac{22,6217 \mu\text{g/mL}}{11,7752 \mu\text{g/mL} + 8 \mu\text{g/mL}} \times 100\%$$

$$= 114,3943 \%$$

$$16 \mu\text{g/mL} \rightarrow \text{Recovery} = \frac{24,4573 \mu\text{g/mL}}{11,7752 \mu\text{g/mL} + 16 \mu\text{g/mL}} \times 100\% \\ = 88,0545 \%$$

$$24 \mu\text{g/mL} \rightarrow \text{Recovery} = \frac{29,8837 \mu\text{g/mL}}{11,7752 \mu\text{g/mL} + 24 \mu\text{g/mL}} \times 100\% \\ = 83,5320 \%$$

4. Contoh perhitungan RSD (replikasi 2)

$$\text{RSD} = \frac{\text{Standar deviasi (SD)}}{\text{rata - rata kadar}} \times 100\% \\ 8 \mu\text{g/mL} \rightarrow \text{RSD} = \frac{1,81}{112,43} \times 100\% \\ = 1,61 \% \\ 16 \mu\text{g/mL} \rightarrow \text{RSD} = \frac{0,73}{87,22} \times 100\% \\ = 0,83 \% \\ 24 \mu\text{g/mL} \rightarrow \text{RSD} = \frac{2,33}{82,50} \times 100\% \\ = 2,82 \%$$

Tabel 8. Akurasi dan Presisi Interday

Addisi	Hari ke-	Akurasi	Presisi	
		Recovery (%)	SD	RSD (%)
Low	1	94,5811	1,98	2,09
	2	112,4227	1,81	1,61
	3	107,0515	5,76	5,39
	Rata-rata	104,6850	3,18	3,03
Medium	1	93,1264	1,41	1,52
	2	87,2159	0,73	0,83
	3	79,9932	0,64	0,80
	Rata-rata	86,7785	0,93	1,05
High	1	91,1350	0,36	0,40
	2	82,4956	2,33	2,82
	3	79,9932	0,64	0,80
	Rata-rata	84,5413	1,11	1,34

Tabel 9. Akurasi dan Presisi *Intraday* (replikasi 2)

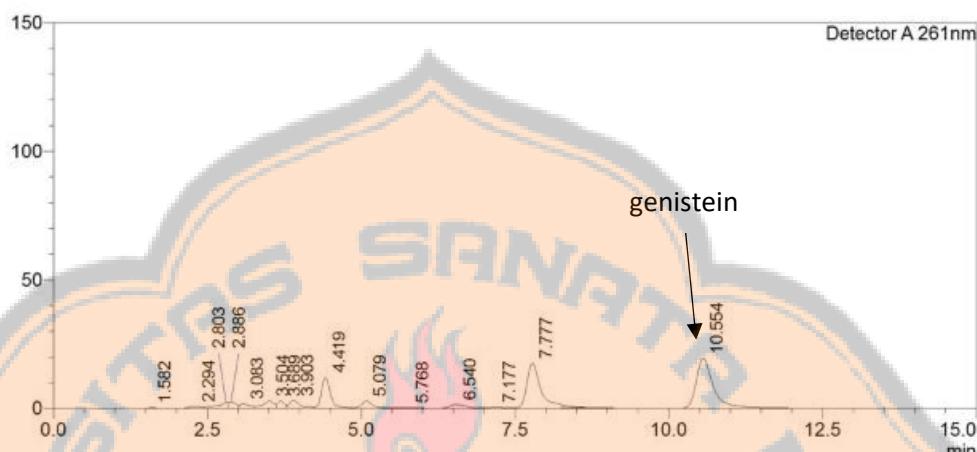
Addis	Akurasi	Presisi	
	Recovery (%)	SD	RSD (%)
Low	112,4227	1,81	1,61
Medium	87,2159	0,73	0,83
High	82,4956	2,33	2,82

Lampiran 6. Kromatogram Akurasi dan Presisi Metode

1. Kromatogram blank tanpa adisi baku

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

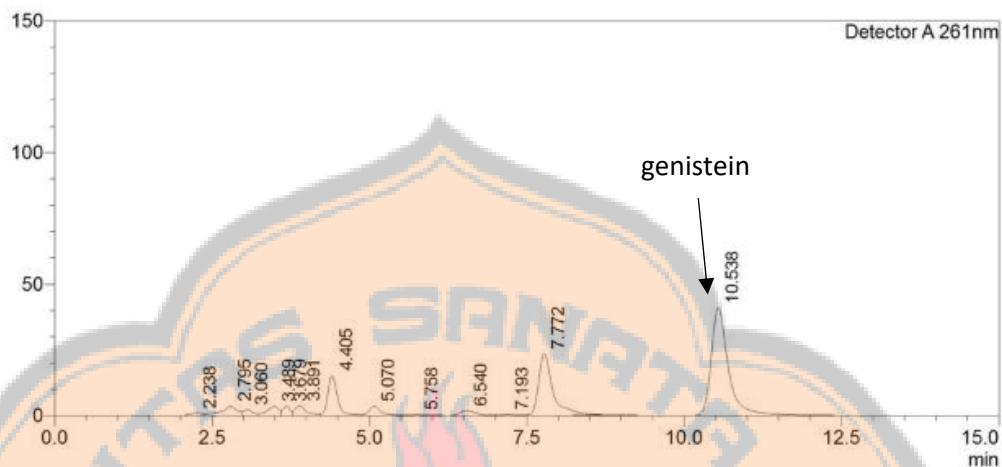
Detector A 261nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	1.582	3246	408	0.000			
2	2.294	10104	670	0.000			
3	2.803	27003	2335	0.000		V	
4	2.886	21076	2465	0.000		V	
5	3.083	19140	1760	0.000		V	
6	3.504	35253	2843	0.000		V	
7	3.689	21419	2800	0.000		V	
8	3.903	36202	3059	0.000		V	
9	4.419	122345	11953	0.000		V	
10	5.079	31918	2777	0.000		V	
11	5.768	2754	177	0.000		V	
12	6.540	21840	1315	0.000			
13	7.177	5211	262	0.000		V	
14	7.777	284776	17459	0.000		V	
15	10.554	378279	19421	0.000			
Total		1020566	69706				

2. Kromatogram adisi 8 µg/mL pada *intraday* (replikasi 2)

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

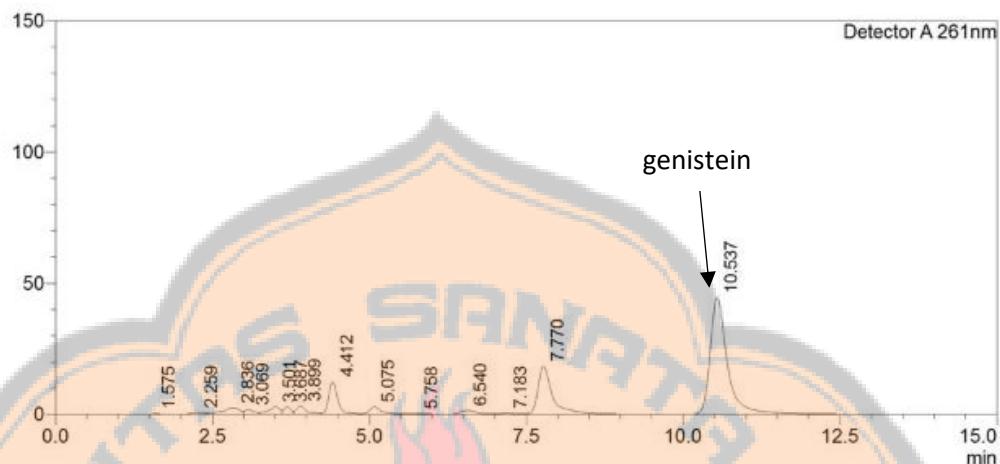
Detector A 261nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	2.238	14040	929	0.000			
2	2.795	64873	3654	0.000		V	
3	3.060	23706	2342	0.000		V	
4	3.489	47983	3572	0.000		V	
5	3.679	28886	3596	0.000		V	
6	3.891	46749	3817	0.000		V	
7	4.405	161372	15080	0.000		V	
8	5.070	45464	3552	0.000		V	
9	5.758	5897	282	0.000		V	
10	6.540	29958	1736	0.000		V	
11	7.193	5503	235	0.000		V	
12	7.772	374897	23349	0.000		V	
13	10.538	785375	40970	0.000			
Total		1634703	103114				

3. Kromatogram adisi 16 µg/mL pada *intraday* (replikasi 2)

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

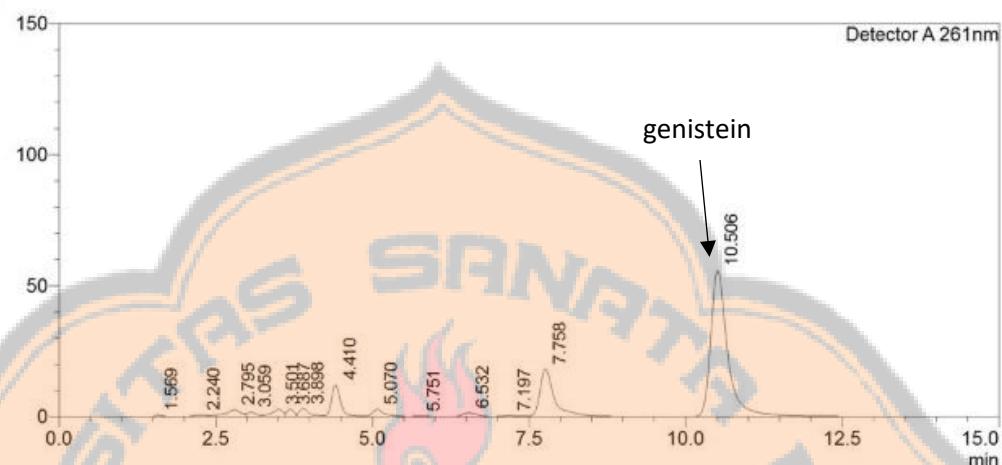
Detector A 261nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	1.575	3440	446	0.000			
2	2.259	10734	727	0.000			
3	2.836	49861	2496	0.000		V	
4	3.069	18449	1739	0.000		V	
5	3.501	36574	2880	0.000		V	
6	3.687	22573	2875	0.000		V	
7	3.899	36975	3129	0.000		V	
8	4.412	125864	12303	0.000		V	
9	5.075	36893	2855	0.000		V	
10	5.758	4612	234	0.000		V	
11	6.540	23545	1380	0.000		V	
12	7.183	6243	287	0.000		V	
13	7.770	291883	18200	0.000		V	
14	10.537	854557	44559	0.000			
Total		1522204	94110				

4. Kromatogram adisi 24 µg/mL pada *intraday* (replikasi 2)

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

Detector A 261nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	1.569	6326	801	0.000			
2	2.240	10985	736	0.000			
3	2.795	50134	2711	0.000		V	
4	3.059	19220	1788	0.000		V	
5	3.501	36698	2861	0.000		V	
6	3.687	22687	2874	0.000		V	
7	3.898	36525	3088	0.000		V	
8	4.410	124721	12127	0.000		V	
9	5.070	37936	2840	0.000		V	
10	5.751	4567	227	0.000		V	
11	6.532	23322	1375	0.000		V	
12	7.197	6926	308	0.000		V	
13	7.758	289950	18128	0.000		V	
14	10.506	1059075	55836	0.000			
Total		1729072	105701				

Lampiran 7. Perhitungan LOD dan LOQ

Konsentrasi analit	AUC (Y)	Y teoritis	Y- Y teoritis	(Y- Y teoritis) ²
4,1500	301523	297512,15	4010,85	16086921,73
6,2250	473205	476970,87	-3765,87	14181771,21
8,3000	652004	656429,59	-4425,59	19585838,00
10,3750	843811	835888,31	7922,69	62769036,64
12,4500	1031313	1015347,03	15965,97	254912245,94
14,5250	1151572	1194805,75	-43233,75	1869156987,74
16,6000	1397790	1374264,47	23525,53	553450655,88
		Σ		2236692801,26

$$A = -61405,29$$

$$B = 86486,13$$

$$r = 0,9984$$

$$\begin{aligned} S(y/x)^2 &= \frac{\sum (Y - Y \text{ teoritis})}{n-2} \\ &= \frac{2236692801,26}{5} \\ &= 447338560,25 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} S(y/x) &= \sqrt{447338560,25} \\ &= 21150,38 \end{aligned}$$

$$LOD = \frac{3 \times S(y/x)}{b} = \frac{3 \times 21150,38}{86486,13} = 0,7337 \mu\text{g/mL}$$

$$LOQ = \frac{10 \times S(y/x)}{b} = \frac{10 \times 21150,38}{86486,13} = 2,4455 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 8. Data Penetapan Kadar**Tabel 10.** Penetapan kadar genistein serbuk 12 mesh

Replikasi	AUC	Konsentrasi Genistein dalam Sampel Injek ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam ekstrak kental (μg)	Konsentrasi dalam tempe kering ($\mu\text{g } \%$)	Konsentrasi dalam tempe kering ($\text{mg } \%$)
1	1041473	11,3321	2266,4200	10959,6315	10,96
2	921592	9,9460	1989,1936	9619,0596	9,62
3	922953	9,9617	1992,3410	9634,2790	9,63
Rata-Rata			2082,6515	10070,9900	10,07
SD			159,1559	769,6237	0,77
CV			7,6420	7,6420	7,64

Tabel 11. Penetapan kadar genistein serbuk 14 mesh

Replikasi	AUC	Konsentrasi Genistein dalam Sampel Injek ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam ekstrak kental (μg)	Konsentrasi dalam tempe kering ($\mu\text{g } \%$)	Konsentrasi dalam tempe kering ($\text{mg } \%$)
1	911909	9,8340	1966,8016	8857,1926	8,86
2	921311	9,9427	1988,5438	8955,1055	8,96
3	779655	8,3048	1660,9625	7479,8926	7,48
Rata-Rata			1872,1026	8430,7302	8,43
SD			183,1756	824,9036	0,82
CV			9,7845	9,7845	9,78

Tabel 12. Penetapan kadar genistein serbuk 16 mesh

Replikasi	AUC	Konsentrasi Genistein dalam Sampel Injek ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam ekstrak kental (μg)	Konsentrasi dalam tempe kering ($\mu\text{g } \%$)	Konsentrasi dalam tempe kering ($\text{mg } \%$)
1	1072109	11,6863	2337,2661	11845,9113	11,85
2	1018002	11,0607	2212,1430	11211,7526	11,21
3	1128466	12,3380	2467,5924	12506,4410	12,51
Rata-Rata			2339,0005	11854,7017	11,85
SD			127,7335	647,3890	0,65
CV			5,4610	5,4610	5,46

Tabel 13. Penetapan kadar genistein serbuk 20 mesh

Replikasi	AUC	Konsentrasi Genistein dalam Sampel Injek ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam ekstrak kental (μg)	Konsentrasi dalam tempe kering ($\mu\text{g } \%$)	Konsentrasi dalam tempe kering (mg %)
1	856733	9,1960	1839,2063	11723,4766	11,72
2	829416	8,8802	1776,0354	11320,8122	11,32
3	866486	9,3088	1861,7603	11867,2400	11,87
Rata-Rata			1825,6674	11637,1763	11,64
SD			44,4372	283,2519	0,28
CV			2,4340	2,4340	2,43

Tabel 14. Penetapan kadar genistein serbuk 30 mesh

Replikasi	AUC	Konsentrasi Genistein dalam Sampel Injek ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam ekstrak kental (μg)	Konsentrasi dalam tempe kering ($\mu\text{g } \%$)	Konsentrasi dalam tempe kering (mg %)
1	400218	3,9175	783,5095	5812,1168	5,81
2	569983	5,8805	1176,0932	8724,3251	8,72
3	515614	5,2518	1050,3642	7791,6602	7,79
Rata-Rata			1003,3223	7442,7007	7,44
SD			200,4750	1487,1344	1,49
CV			19,9811	19,9811	19,98

Lampiran 9. Data Uji Statistik

1. Data Kadar Genistein

```
> kadar
   Replikasi sampel A sampel B sampel C sampel D sampel E
1          1    10,96    8,86   11,85   11,72    5,81
2          2     9,62    8,96   11,21   11,32    8,72
3          3     9,63    7,48   12,51   11,87    7,79
```

2. Uji Normalitas Pearson *chi-square*

Hipotesis :

- H_0 : Data kadar genistein sampel (i) berdistribusi normal
 - H_1 : Data kadar genistein sampel (i) tidak berdistribusi normal
- H_0 diterima, jika $p\text{-value} > 0,05$
 H_0 ditolak, jika $p\text{-value} < 0,05$

a. Data Sampel A

```
> tb.A = c(10.96, 9.62, 9.63)
> pearson.test(tb.A)

Pearson chi-square normality test

data: tb.A
P = 3.6667, p-value = 0.05551
```

b. Data Sampel B

```
> tb.B = c(8.86, 8.96, 7.48)
> pearson.test(tb.B)

Pearson chi-square normality test

data: tb.B
P = 3.6667, p-value = 0.05551
```

c. Data Sampel C

```
> tb.C = c(11.85, 11.21, 12.51)
> pearson.test(tb.C)

Pearson chi-square normality test

data: tb.C
P = 1, p-value = 0.3173
```

d. Data Sampel D

```
> tb.D = c(11.72, 11.32, 11.87)
> pearson.test(tb.D)

Pearson chi-square normality test

data: tb.D
P = 1, p-value = 0.3173
```

e. Data Sampel E

```
> tb.E = c(5.81, 8.72, 7.79)  
> pearson.test(tb.E)
```

```
Pearson chi-square normality test
```

```
data: tb.E  
P = 1, p-value = 0.3173
```

Kesimpulan

- Data kadar genistein sampel A berdistribusi normal
- Data kadar genistein sampel B berdistribusi normal
- Data kadar genistein sampel C berdistribusi normal
- Data kadar genistein sampel D berdistribusi normal
- Data kadar genistein sampel E berdistribusi normal

3. Uji Homogenitas

```
> kadar = edit(data.frame())
> kadar
  sampel A sampel B sampel C sampel D sampel E
1      10.96     8.86    11.85    11.72     5.81
2      9.62     8.96    11.21    11.32     8.72
3      9.63     7.48    12.51    11.87     7.79
> kadar_a=stack(kadar)
> kadar_a
  values      ind
1  10.96 sampel A
2   9.62 sampel A
3   9.63 sampel A
4   8.86 sampel B
5   8.96 sampel B
6   7.48 sampel B
7  11.85 sampel C
8  11.21 sampel C
9  12.51 sampel C
10 11.72 sampel D
11 11.32 sampel D
12 11.87 sampel D
13  5.81 sampel E
14  8.72 sampel E
15  7.79 sampel E
> leveneTest(values~ind,kadar_a,center=mean)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
  Df F value Pr(>F)
group  4 2.1265 0.152
      10
```

4. Uji ANAVA satu jalur

Hipotesis :

- H_0 : Rata-rata kadar genistein pada sampel A = rata-rata kadar genistein pada sampel B = kadar genistein pada sampel C = kadar genistein pada sampel D = kadar genistein pada sampel E
 - H_1 : Ada setidaknya satu rata-rata kadar genistein yang berbeda dari kelima kelompok sampel yang diuji
- H_0 diterima, jika $p\text{-value} > 0,05$
- H_0 ditolak, jika $p\text{-value} < 0,05$

$$p\text{-value} = \Pr(>F)$$

```
> summary(aov(values~ind,kadar_a))
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
ind       4  45.23  11.307   14.17 0.000399 ***
Residuals 10   7.98   0.798
---
Signif. codes:  0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '*' 0.1 ' ' 1
```

5. Uji post-hoc

```
> TukeyHSD(aov(values~ind,kadar_a))
Tukey multiple comparisons of means
 95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = values ~ ind, data = kadar_a)
```

\$ind	diff	lwr	upr	p adj
sampel B-sampel A	-1.6366667	-4.0372775	0.7639441	0.2396191
sampel C-sampel A	1.7866667	-0.6139441	4.1872775	0.1791140
sampel D-sampel A	1.5666667	-0.8339441	3.9672775	0.2731244
sampel E-sampel A	-2.6300000	-5.0306108	-0.2293892	0.0306863
sampel C-sampel B	3.4233333	1.0227225	5.8239441	0.0059151
sampel D-sampel B	3.2033333	0.8027225	5.6039441	0.0092413
sampel E-sampel B	-0.9933333	-3.3939441	1.4072775	0.6627028
sampel D-sampel C	-0.2200000	-2.6206108	2.1806108	0.9978789
sampel E-sampel C	-4.4166667	-6.8172775	-2.0160559	0.0009004
sampel E-sampel D	-4.1966667	-6.5972775	-1.7960559	0.0013398

Keterangan :

Apabila nilai *Adjusted p-values* (*p adj*) \leq nilai signifikansi ($\alpha = 0,05/2$) maka data sampel tersebut dianggap berbeda signifikan terhadap sampel pembandingnya. Apabila nilai *Adjusted p-values* (*p adj*) \geq nilai signifikansi ($\alpha = 0,05/2$) maka data sampel tersebut dianggap tidak berbeda signifikan terhadap sampel pembandingnya.



Biodata Penulis

Penulis skripsi dengan judul “Pengaruh Ukuran Partikel Simplisia terhadap Kadar Genistein Pada Ekstraksi Tempe” memiliki nama lengkap Petrus Damiani Tosan Aji, merupakan anak pertama dari dua bersaudara pasangan Constantius Purwantoro Sila Aji dan Fransiska Karini. Penulis dilahirkan di Jakarta, 21 Februari 1996. Pendidikan formal yang telah ditempuh yakni T.K. Katolik Bunda Hati Kudus Grogol (2000-2002), tingkat Sekolah Dasar di SD Kanisius Ngapak (2002-2008), tingkat Sekolah Menengah Pertama di SMP Pangudi Luhur Moyudan (2008-2011) dan tingkat Sekolah Menengah Atas di SMA Kolese De Britto Yogyakarta (2011-2014). Penulis kemudian melanjutkan pendidikan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma pada tahun 2014. Semasa menempuh kuliah, penulis aktif berorganisasi. Penulis pernah menjadi Anggota Divisi Organisasi BEMF Farmasi (2014/2015), Koordinator Divisi Organisasi BEMF Farmasi (2015/2016), dan Gubernur BEMF Farmasi (2016/2017). Selain berorganisasi, penulis aktif dalam berbagai kepanitiaan. Penulis pernah menjadi Koordinator SIE Dokumentasi dan Dekorasi Pelepasan Wisuda I 2015 dan Penanggung Jawab Kegiatan Pharmacy Performance 2016. Penulis juga pernah mendapatkan Juara 1 Kompetisi Video PRESCRIPTION yang diselenggarakan oleh Univ. Hassanudin Makasar (2017).