

INTISARI

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) merupakan salah satu sumber isoflavon yang paling besar terutama daidzein dan genistein. Isoflavon aglikon berperan penting dan memberi manfaat bagi kesehatan. Penelitian ini bertujuan guna mengembangkan metode analisis HPLC isokratik beserta validasi metode dan aplikasinya untuk penetapan kadar daidzein dan genistein dalam berbagai varietas kedelai, serta mengembangkan metode analisis spektroskopi FTIR yang dikombinasikan dengan kemometrika kalibrasi multivariat. Kedelai diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi) Malang dengan berbagai varietas. Kandungan isoflavon dalam kedelai dapat digunakan sebagai data pendukung pada varietas unggul kedelai.

Berbagai varietas kedelai dilakukan penyarian analit, selanjutnya dianalisis menggunakan HPLC dan FTIR. RP-HPLC yang dikembangkan adalah memilih fase diam Sun FireTMC-18 (150 x 4,6 mm i.d, 5 μ m), *guard coloum* Waters SymmetryTMC18 (20 x 4,4 mm i.d, 5 μ m), fase gerak campuran metanol : air yang mengandung asam asetat 0,1% (53:47), secara isokratik dengan kecepatan alir 1,0 mL/menit, detektor PDA pada λ -254 nm. Sedangkan analisis FTIR dikerjakan dengan melakukan pemindaian spektra pada bilangan gelombang 600-4000 cm^{-1} , spektra yang dihasilkan kemudian dianalisis untuk menetapkan bilangan gelombang karakteristiknya. Perhitungan kemometrika dikerjakan secara *partial least square* (PLS) dan *principle component regression* (PCR) serta *principal component analysis* (PCA).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode HPLC yang dikembangkan dapat memenuhi parameter validasi yaitu spesifisitas, ketelitian, ketepatan, linieritas, batas deteksi dan batas kuantitasi. Hasil optimasi FTIR diperoleh bahwa derivatisasi pertama spektra pada bilangan gelombang 3600-2800 cm^{-1} dan 1500-780 cm^{-1} dapat dipilih untuk kuantifikasi daidzein, sedangkan derivatisasi pertama spektra pada bilangan gelombang 3000-2800 cm^{-1} dan 1500-780 cm^{-1} dipilih untuk kuantifikasi genistein. Selanjutnya dilakukan validasi untuk memperoleh model prediksi optimal untuk perhitungan kadar daidzein dan genistein secara PLS dan PCR. Diperoleh hasil bahwa PLS lebih baik untuk kuantitasi dibandingkan PCR, dengan nilai koefisien korelasi (r) kalibrasi dan validasi untuk kuantitasi daidzein adalah 0,9925 dan 0,9921 serta genistein adalah 0,9882 dan 0,9936.

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa metode HPLC dan FTIR dapat saling melengkapi dan dapat diterapkan secara bersamaan untuk membandingkan dan menganalisis daidzein dan genistein dalam kedelai.

Kata Kunci: FTIR, HPLC, kedelai, kemometrika, PCA, PLS

ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* (L.) Merr) is one of the biggest sources of isoflavones, especially daidzein and genistein. Aglycone isoflavones play an important role and provide health benefits. This study aims to develop an isocratic HPLC analysis method and its method validation and application for the determination of daidzein and genistein levels in various soybean varieties, as well as developing the FTIR spectroscopic analysis method combined with multivariate calibration chemometrics. Soybeans are obtained from *Indonesian Legumes and Tuber Crops Research Institute* (ILETRI) with various varieties. The isoflavone content in soybeans can be used as supporting data on superior soybean varieties.

Various soybean varieties were analyzed for analytes, then analyzed using HPLC and FTIR. RP-HPLC conditions consist the stationary phase of the Sun FireTMC-18 (150 x 4.6 mm id, 5 μ m), guard coloum Waters SymmetryTMC18 (20 x 4.4 mm id, 5 μ m), the mobile phase of the methanol mixture: water containing 0.1% acetic acid (53:47), isocratic with a flow rate of 1.0 mL/min, PDA detector at λ -254 nm. While the FTIR analysis is done by scanning the spectra at wave numbers from 600 to 4000 cm^{-1} , the resulting spectra are then analyzed to determine its characteristic wave number. Chemometrics calculations are done in partial least square (PLS) and principle component regression (PCR) and principal component analysis (PCA).

The results showed that the developed HPLC method could meet the validation parameters namely specificity, precision, accuracy, linearity, limit of detection and limit of quantitation. FTIR optimization results obtained that the first derivatization of spectra at wave numbers 3600-2800 cm^{-1} and 1500-780 cm^{-1} were selected for daidzein quantification, while the first derivatization of spectra at wave numbers 3000-2800 cm^{-1} and 1500-780 cm^{-1} selected for genistein quantification. Then validation is performed to obtain the optimal prediction model by PLS and PCR. The results show that PLS is better for quantitation than PCR, with the correlation coefficient (r) calibration and validation of daidzein respectively 0.9925 and 0.9921, of genistein 0.9882 and 0.9936. PCA analysis for grouping soybean varieties based on levels of daidzein and genistein can be done at wave number 1791.546-3996.748 cm^{-1} . The results of the calculation of daidzein and genistein levels by FTIR spectroscopy and the HPLC method did not have a significant difference based on the t-paired sample test.

It can be concluded that the HPLC and FTIR methods can complement each other and can be applied simultaneously to compare and analyze daidzein and genistein in soybean.

Keywords: chemometrics, FTIR, HPLC, PCA, PLS, soybean