

# Fotoproteksi Kurkumin terhadap -Karoten pada Berbagai Nisbah Molar serta Aktivitas Antioksidannya

Elly Natalina<sup>1)</sup>, Puji Rahayu<sup>2)</sup>, Sulistyowati<sup>1)</sup>, dan Leenawaty Limantara<sup>3\*)</sup>

<sup>1)</sup>Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga

<sup>2)</sup>Mochtar Riady Institute for Nanotechnology, Lippo Karawaci, Tangerang

<sup>3)</sup>Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments, Universitas Ma Chung,  
Villa Puncak Tidar N-01, Malang 65151

Diterima 27-04-2008

Disetujui 25-04-2009

## ABSTRACT

Curcumin and -carotene are two kinds of pigments serve as antitumor, anticancer and antioxidant agents. The antioxidant activity of curcumin is stronger and more stable as compared to -carotene, so it can protect -carotene degradation from light and oxygen. Therefore curcumin has higher antioxidant activity as well. The research was conducted by mixing curcumin and -carotene in several molarity ratios followed by irradiation using volpi lamp for 0, 10, 30, 60, and 90 minutes. The result shows that curcumin has photoprotection effect because it can protect photooxidation of -carotene. Mixing of curcumin and -carotene 1:1 was the most stable ratio for protecting -carotene.

**Keywords:** -carotene, curcumin, photooxidation, photostability

## PENDAHULUAN

Kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan tanaman dari famili zingiberaceae yang banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai rempah dan obat-obatan. Komposisi utama penyusun kunyit adalah minyak atsiri, turmerol, sineol, zingiberin, borneol, karvon dan kurkumin. Kurkumin yang merupakan pigmen alami berwarna kuning dapat diisolasi dari kunyit (Lin & Shuei 2001; Bong 2002), bersifat mudah terdegradasi oleh faktor pH (Wang *et al.*, 1997) dan pelarut organik, serta relatif stabil jika berada dalam tubuh manusia (Kim *et al.*, 2005). Kurkumin memiliki potensi sebagai antiinflammasi (Ireson *et al.*, 2002), antitumor (Huang *et al.*, 1992, 1994, 1995; Rao *et al.*, 1995), penghambat karsinogen-DNA (Conney *et al.*, 1991) dan antioksidan (Kunchandy & Rao, 1990; Subramanian *et al.*, 1994; Sreejayan, 1994).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi radikal bebas (Haila, 1999). Senyawa tersebut sangat berbahaya karena dapat merusak jaringan tubuh sehingga menimbulkan penyakit degeneratif seperti kanker, jantung dan katarak (Haila, 1999; Rao *et al.*, 1995; Shivashankara, 2004).

Selain kurkumin, pigmen lain yang juga berpotensi sebagai antioksidan adalah karotenoid. Karotenoid

merupakan pigmen alami pemberi warna kuning, terdistribusi pada sayuran dan buah yang berwarna hijau dan merah. Salah satu sumber pigmen karotenoid adalah spirulina. Ganggang berwarna biru hijau dan bersel satu ini dapat ditemukan di danau air asin ataupun perairan tawar. Spirulina sering disebut sebagai *superfood* karena kandungan proteinnya yang cukup tinggi, yaitu sebesar 60% dari bobot keringnya (Umesh, 1992; Henrikson, 2002; Babal, 2006) dan banyak dikonsumsi karena lebih dari 80% zat gizinya dapat diserap oleh tubuh. Kandungan karotenoid utama pada spirulina adalah -karoten. Pigmen tersebut sangat berpotensi sebagai antioksidan, meskipun sifatnya kurang stabil dan mudah terdegradasi apabila terkena cahaya ataupun oksigen sehingga mempengaruhi aktivitas antioksidannya. Kurkumin yang memiliki aktivitas antioksidan kuat dan sifatnya yang lebih stabil dibanding -karoten, diharapkan mampu melindungi degradasi -karoten dari cahaya dan oksigen sehingga menghasilkan aktivitas antioksidan yang semakin besar.

Sejauh ini penelitian mengenai kestabilan setiap pigmen tersebut telah banyak dilakukan oleh banyak ahli, namun penelitian mengenai kestabilan campuran pigmen -karoten dan kurkumin belum banyak dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, tujuan penelitian adalah menentukan efek fotoproteksi kurkumin

\*Telp/Faks: +628136360303

Email: leenawaty.limantara@machung.ac.id

terhadap fotooksidasi -karoten serta menentukan aktivitas antioksidan campuran kurkumin dan -karoten pada berbagai rasio mol.

## BAHAN DAN METODE

**Bahan.** Sampel yang digunakan adalah kunyit yang diperoleh dari pasar Salatiga, serta spirulina dari produk X. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah produk dari Merck diantaranya aseton, heksana, dietil eter, petroleum eter, metanol, etanol, kloroform,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat,  $\text{CaCO}_3$ , silika gel 60  $\text{F}_{254}$  dan larutan DPPH, serta pigmen standar.

**Metode. Ekstraksi Pigmen (Britton et al., 1982; Clearwae et al., 2004 yang dimodifikasi).** Spirulina diekstraksi menggunakan campuran pelarut aseton dan metanol (3:7 v/v) dengan nisbah sampel terhadap pelarut 1:10 (w/v). Kunyit diekstraksi dengan etanol dalam nisbah 1:5 (w/v). Sebagai penetrator ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  ke dalam ekstrak. Hasil ekstraksi disaring, kemudian filtrat dipartisi menggunakan dietil eter dengan nisbah sampel terhadap pelarut 1:1 (v/v). Lapisan eter diambil, kemudian ditambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat lalu disaring. Filtrat dipekatkan dengan penguap putar kemudian dikeringkan dengan gas  $\text{N}_2$ .

**Isolasi Pigmen.** -Karothen dan kurkumin masing-masing dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam dan fase gerak yang sesuai. Pada isolasi kurkumin, fase diam yang digunakan adalah silika gel 60  $\text{F}_{254}$  dan fase gerak kloroform 100% serta kloroform:metanol (95:5 v/v). Fase diam untuk isolasi -karoten adalah silika gel 60  $\text{F}_{254}$  dan fase gerak aseton:eter:heksana (2:3:6 v/v). Pita yang ditampung adalah pita kuning untuk isolasi -karoten, serta pita oranye pekat yang muncul pertama kali untuk isolasi kurkumin.

**Kromatografi Lapis Tipis (Wang et al., 1995; Clearwae et al., 2004 yang telah dimodifikasi).** Pigmen -karoten dan kurkumin masing-masing dilarutkan dalam aseton. Ekstrak kurkumin ditotolkan pada pelat KLT silika gel 60  $\text{F}_{254}$  kemudian dielusi dengan fase gerak kloroform:metanol (95:5 v/v), sedangkan ekstrak -karoten ditotolkan pada pelat KLT silika gel 60  $\text{F}_{254}$ , dielusi dengan fase gerak aseton:eter:heksana (2:3:6 v/v). Pola KLT tiap pigmen diamati, kemudian dihitung Rf-nya dan dibandingkan dengan pola KLT marker standar.

**Spektroskopi UV-Tampak (Jeffrey et al., 1997; Pill, 2000).** Ekstrak kering kurkumin dan -karoten masing-masing dilarutkan dalam aseton. Selanjutnya setiap pigmen dianalisis pola spektrumnya menggunakan spektroskopi berkas rangkap Varian Cary 50 pada panjang gelombang 350-800 nm. Pola spektrum kedua pigmen tersebut dibandingkan dengan pola spektrum marker standar.

**Penentuan Konsentrasi.** Kurkumin dan -karoten masing-masing dibuat larutan induk, kemudian diambil 1  $\mu\text{L}$  dan diencerkan sampai 3 mL. Konsentrasi kurkumin ditentukan berdasarkan hukum Lambert Beer pada } maksimum 420 nm ( $s = 52,22 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) dan konsentrasi -karoten pada } maksimal 453 nm ( $s = 139 \cdot 10^3 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

**Iridiasi Kurkumin dan -Karoten (Limantara et al., 2006).** Kurkumin dan -karoten masing-masing dilarutkan dalam aseton 100% kemudian dicampurkan dengan perbandingan mol 1 : 1, 3 : 1 dan 5 : 1. Larutan tersebut diaduk dengan pengaduk magnetik dan diiridiasi dengan lampu volpi (Intralux 610) menggunakan filter sinar matahari dengan intensitas cahaya  $3,26 \times 10^5$  lux. Waktu iridiasi yang diberikan adalah 0, 10, 30, 60, dan 90 menit. Pola spektrum sampel dianalisis sebelum dan sesudah iridiasi menggunakan spektroskopi berkas rangkap Varian Cary 50 pada panjang gelombang 350-800 nm. Untuk pengujian kemampuan recovery (pemulihan pola spektrum) pigmen, setelah iridiasi sampel didiamkan (dalam spektroskopi) sesuai dengan waktu penyinaran yaitu setiap 0, 10, 30, 60, dan 90 menit, kemudian dilakukan pengukuran absorbans dan pola spektrum sampel yang diukur pada panjang gelombang 350-800 nm.

**Uji Aktivitas Antioksidan (Banerjee et al., 2004).** Sebanyak 1 mL setiap pigmen ditambahkan pada 3 mL larutan DPPH (metanol 95%). Sampel diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap, kemudian diukur absorbansnya pada panjang gelombang 517 nm. Persentase aktivitas penghambatan dihitung berdasarkan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{A_0 - A_e}{A_0} \times 100\%$$

$A_0$  = Absorbans tanpa ekstrak

$A_e$  = Absorbans dengan ekstrak

**Analisa Data.** Data penelitian dianalisis secara statistik-deskriptif dengan tiga kali pengulangan.

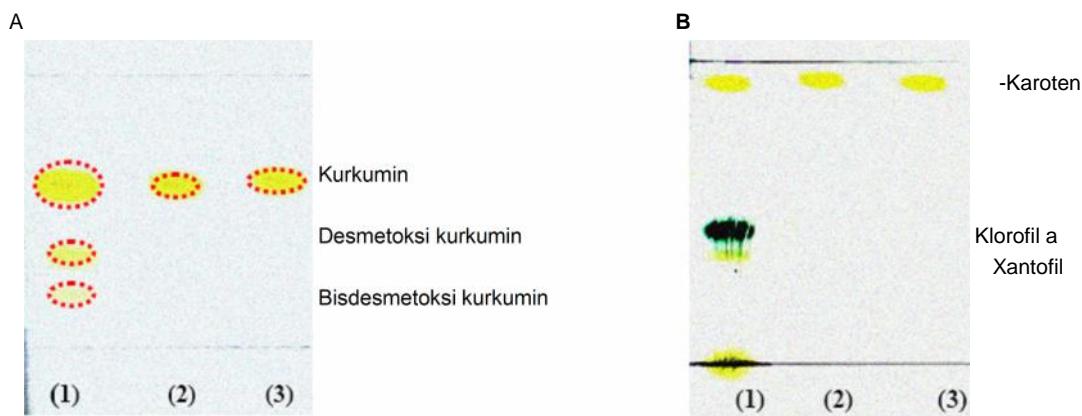
## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Identifikasi Kurkumin dan -Karoten.** Identifikasi kurkuminoid dan karotenoid dilakukan dengan KLT yang pola pemisahannya disajikan pada Gambar 1. Gambar 1A menunjukkan bahwa dalam ekstrak kasar kurkuminoid muncul tiga spot yang warnanya dari spot atas ke spot bawah adalah kuning tua, kuning, dan kuning muda. Kurkuminoid tersusun atas tiga komponen yaitu kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin (Sasaki dkk. 1998). Pada Gambar 1B ditunjukkan dalam ekstrak kasar spirulina terdapat tiga spot yang berwarna kuning, hijau-biru dan kuning. Henrikson (1998) menjelaskan bahwa spirulina mengandung pigmen -karoten, klorofil a, dan xantofil. Klorofil a berwarna hijau-biru sedangkan karotenoid berwarna jingga kemerahan sampai ungu tua (Gross, 1991).

Selain berdasarkan warna totol, identifikasi jenis pigmen juga dikaji berdasarkan nilai Rf (faktor retardasi). Pada penelitian Govindarajan & Stahl (1980) serta Tonnesen *et al.*, (1995) yang menggunakan fase diam dan fase gerak bersifat sama dengan penelitian ini,

menunjukkan bahwa nilai Rf kurkuminoid memiliki kecenderungan sama dengan yang penulis hasilkan (Tabel 1). Pigmen dengan warna kuning tua yang muncul pertama kali pada analisis kurkuminoid dalam penelitian ini merupakan kurkumin, sesuai dengan hasil perbandingannya dengan hasil KLT marker kurkumin murni, dilihat dari warna totol dan nilai Rfnya. Untuk spot kedua dan ketiga yang berwarna kuning teridentifikasi sebagai demetoksikurkumin dan besdemetoksikurkumin, dibuktikan dengan nilai Rf yang hampir sama antara hasil penelitian yang penulis lakukan dengan penelitian Govindarajan & Stahl (1980) pada Tabel 1.

Pada analisis karotenoid dan klorofil, nilai Rf yg dibentuk pada penelitian ini juga memiliki kecenderungan sama dengan penelitian Schiedt (1995) & Bacon (1965) (Tabel 1). Spot berwarna kuning yang muncul pertama kali pada pelat KLT diduga merupakan -karoten karena fase gerak yang digunakan lebih dominan bersifat nonpolar yang juga merupakan sifat dari -karoten. Hasil KLT ekstrak kasar spirulina apabila dibandingkan dengan marker -karoten dan isolat murni -karoten juga menunjukkan nilai Rf yang sama pada spot -karoten tersebut, yaitu 0,94. Pada spot kedua yang berwarna hijau biru teridentifikasi sebagai klorofil a dan spot ketiga berwarna kuning teridentifikasi sebagai



Gambar 1. Pola pemisahan pigmen (a) kurkuminoid dan (b) spirulina : (1) ekstrak kasar, (2) marker, dan (3) isolat murni

Tabel 1. Perbandingan nilai Rf pigmen hasil penelitian dan pustaka

Noda	Rf (cm)			Pustaka Acuan	Identifikasi Pigmen
		Hasi Penelitian	Literatur		
Kurkuminoid	1	0,37	0,35	Govindarajan & Stahl (1980); Tonnesen dkk. (1995)	Kurkumin
	2	0,20	0,15	Govindarajan & Stahl (1980); Tonnesen dkk. (1995)	Demetoksikurkumin
	3	0,11	0,10	Govindarajan & Stahl (1980); Tonnesen dkk. (1995)	Bisdemetoksikurkumin
Karotenoid	1	0,94	0,8-1,0	Schiedt (1995)	-Karoten
	2	0,5	0,54	Bacon (1965)	Klorofil a
	3	0,20	0,11-0,3	Schiedt (1995)	Xantofil

Keterangan: Fase gerak untuk kurkumin adalah kloroform : metanol (95 : 5 v/v)

Fase gerak untuk karotenoid adalah aseton : eter : heksana (2 : 3 : 6 v/v)

Tabel 2. Perbandingan serapan maksimum setiap fraksi pigmen hasil isolasi dan pustaka

Fraksi	Rf (cm)		Pustaka Acuan	Identifikasi Pigmen
	Hasil Penelitian	Literatur		
Kurkuminoid	1	426	427	Govindarajan & Stahl (1980); Tonnesen dkk. (1995)
	2	420	424	Govindarajan & Stahl (1980); Tonnesen dkk. (1995)
	3	415	418	Govindarajan & Stahl (1980); Tonnesen dkk. (1995)
Karotenoid	1	450,3	450	Foppen (1971)
	2	430,65; 662,4	430,3; 662,2	Jeffrey dkk. (1997)

xantofil sesuai dengan nilai Rf yang dihasilkan, yaitu hampir sama dengan penelitian Schiedt (1995) & Bacon (1965) (Tabel 1).

Selanjutnya identifikasi kurkuminoid, karotenoid dan klorofil dipertegas dengan analisis pola spektrum tiap fraksi pigmen hasil isolasi dalam pelarut yang sesuai. Identifikasi tersebut dilakukan dalam pelarut etanol untuk analisis kurkuminoid (Govindarajan & Stahl 1980; Tonnesen *et al.* 1995) dan dalam pelarut heksana untuk analisis karotenoid (Foppen 1971) serta dalam pelarut aseton untuk analisis klorofil (Jeffrey *et al.*, 1997). Serapan maksimum yang dibentuk oleh setiap fraksi pigmen disajikan dalam Tabel 2. Fakta menunjukkan bahwa setiap fraksi pigmen hasil penelitian memiliki serapan maksimum yang hampir sama dengan serapan maksimum pigmen menurut pustaka. Berdasarkan identifikasi tersebut dapat dikatakan bahwa pigmen penyusun kunyit adalah kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin, semantara pigmen penyusun spirulina produk X adalah -karoten, klorofil a, dan xantofil.

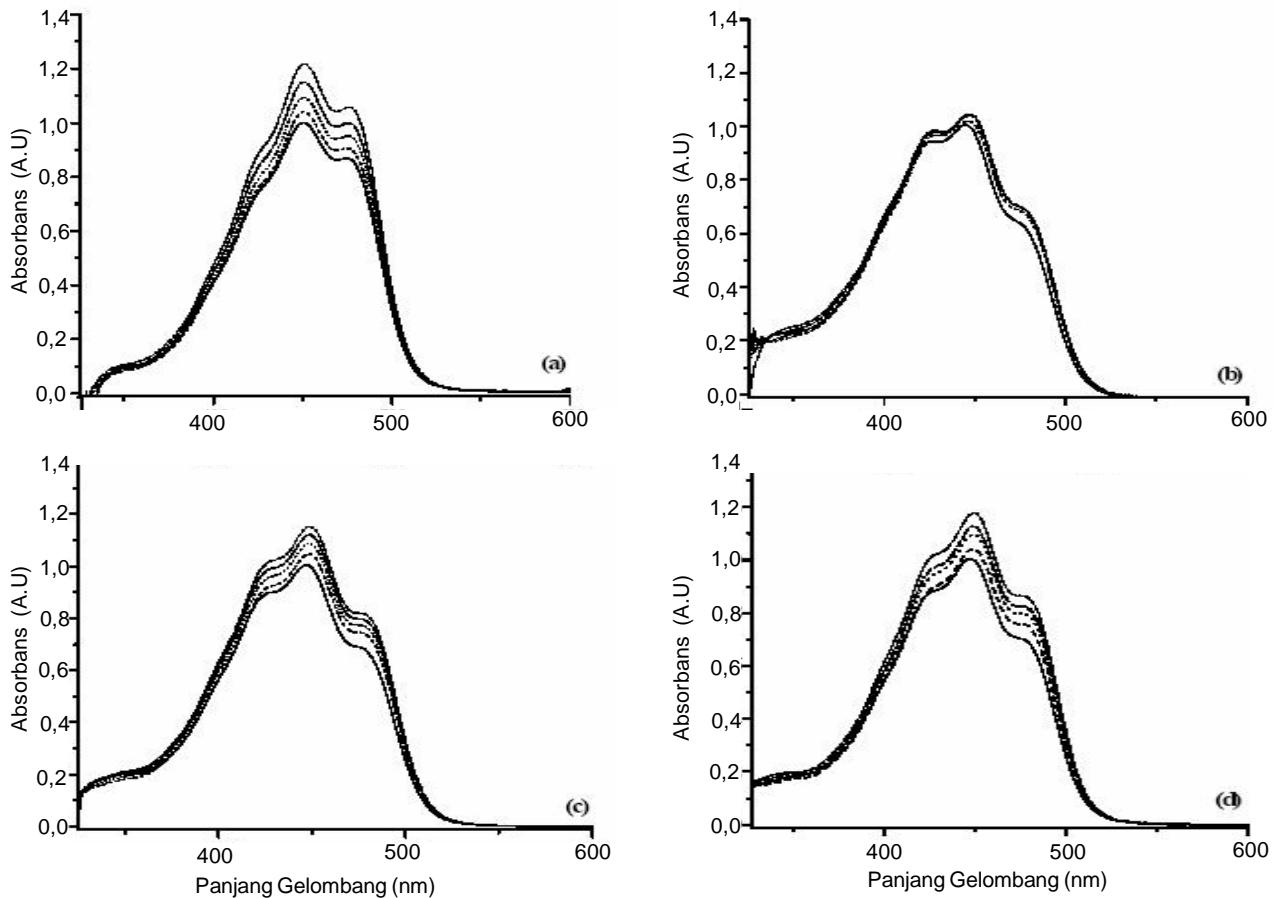
Spektra UV-tampak -karoten khas pada daerah  $\lambda$  400-500 nm, dengan puncak utama di sekitar 450 nm. Secara umum -karoten di alam lebih didominansi oleh isomer *trans*, yang sifatnya lebih stabil dan dapat berfungsi sebagai antena penangkap cahaya. Namun pada analisis laboratorium sering kali -karoten murni muncul dalam bentuk isomer *cis*. Perubahan isomer ini muncul sebagai mekanisme adaptasi -karoten untuk mempertahankan atau melindungi diri (fotoproteksi) dari faktor luar terutama cahaya (Gross 1991). Rodriguez-Amaya (2001) menyatakan bahwa perubahan isomer -karoten dari *trans* menjadi *cis* disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti cahaya, panas, enzim dan oksigen.

**Iridiasi Kurkumin dan -karoten.** Konsentrasi kurkumin dan -karoten untuk pembuatan larutan induk dapat ditentukan menggunakan hukum Lambert Beer. Konsentrasi -karoten dengan  $139 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  dan rapat optik (OD) 0,25 adalah  $1,79 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ . Maka dengan

konsentrasi yang sama, OD kurkumin dengan  $52,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  dapat ditentukan yaitu 0,093. Berdasarkan nilai OD -karoten (0,25) dan kurkumin (0,093) dapat ditentukan besarnya absorbans yang akan digunakan untuk nisbah mol campuran -karoten dan kurkumin.

Iridiasi cahaya terhadap suatu sampel pada umumnya dapat menyebabkan molekul senyawa pada sampel tersebut terdegradasi menjadi bentuk molekul yang lebih kecil dan mengalami penurunan absorbans dari molekul awalnya sebelum iridiasi. Pada penelitian ini diasumsikan -karoten ataupun campuran -karoten dan kurkumin setelah diiridiasi akan mengalami kerusakan atau terdegradasi yang ditandai dengan adanya penurunan absorbans sampel. Akan tetapi, pada kenyataannya sampel justru mengalami kenaikan absorbans setelah iridiasi. Adanya kenaikan absorbans pada sampel akibat radiasi cahaya tetap dapat disebut sebagai fotodegradasi karena sampel juga mengalami perubahan struktur molekul akibat penambahan oksigen (Fiedor *et al.*, 2001) ataupun transformasi *cis* menjadi *trans* selama iridiasi. Gross (1991) mengemukakan bahwa isomer *cis* memiliki intensitas lebih rendah dibandingkan isomer *trans*. Gambar 2 menyajikan pola fotodegradasi -karoten dan campuran -karoten : kurkumin dalam perbandingan mol 1 : 1, 3 : 1 dan 5 : 1 pada 300-600 nm karena serapan karotenoid berada dalam jangkauan tersebut (Gross, 1991).

Pola fotodegradasi -karoten ataupun campuran -karoten dan kurkumin pada Gambar 2 menunjukkan bahwa spektra mengalami kenaikan absorbans (hiperkromik), yang dapat terjadi karena adanya mekanisme pertahanan diri oleh -karoten dari radiasi cahaya dengan membentuk isomer *cis*. Selain mengalami kenaikan absorbans (hiperkromik), pada puncak utama yaitu 450 nm juga terjadi pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih besar, disebut sebagai pergeseran batokromik. Pergeseran ini diakibatkan karena adanya proses oksidasi yang berupa penempelan oksigen pada molekul -karoten sehingga terjadi pembentukan molekul yang lebih besar (Fiedor



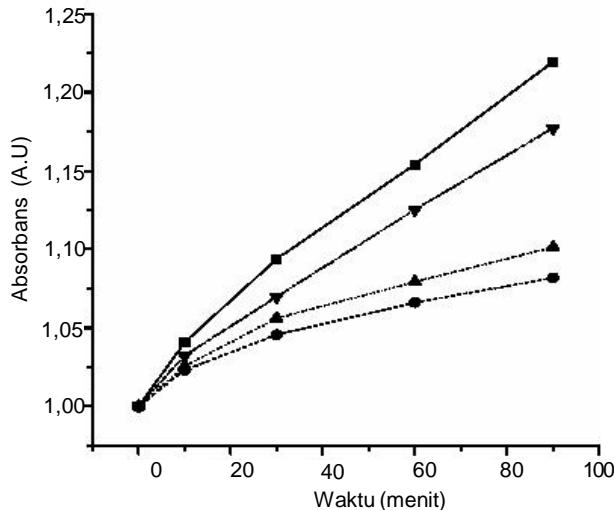
Gambar 2. Pola fotodegradasi -karoten (a) dan campuran -karoten:kurkumin dengan nisbah mol 1:1 (b); 3:1 (c); dan 5:1 (d) selama irradiasi 0, 10, 30, 60, dan 90 menit

*et al.*, 2001). Pergeseran panjang gelombang ke arah panjang gelombang yang lebih panjang atau pendek dapat dipengaruhi oleh pelarut dan adanya ikatan rangkap (Gross, 1991).

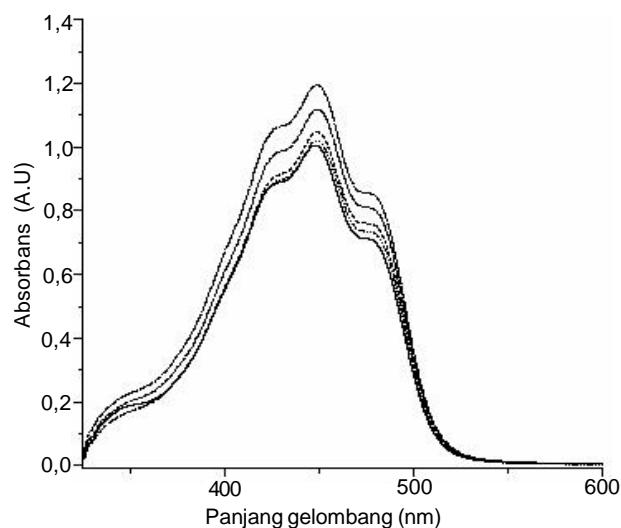
Pola fotodegradasi campuran -karoten dan kurkumin berbeda dengan pola fotodegradasi -karoten murni, yaitu pada puncak 429 dan 477 nm (Gambar 2a). Pada puncak di 429 nm, spektrum campuran -karoten dan kurkumin mengalami kenaikan absorbans, sedangkan pada 477 nm, puncak mengalami penurunan absorbans. Gross (1991) menyatakan bahwa semakin tinggi daerah penyerapan cahaya ( ) maksimum, semakin banyak ikatan konjugasi yang terbentuk. Oleh karena itu, daerah dengan panjang gelombang tinggi lebih rawan diserang cahaya daripada daerah dengan panjang gelombang lebih pendek. Akibatnya pada panjang gelombang 477 nm, -karoten terdegradasi lebih banyak, sedangkan pada panjang gelombang 429 nm, -karoten terdegradasi hanya sedikit dikarenakan kurkumin mampu menyerap cahaya dalam jangkauan panjang gelombang tersebut sehingga mampu melindungi -karoten. Pola fotodegradasi campuran -

karoten dan kurkumin (1 : 1) memperlihatkan kenaikan absorbans yang tidak terlalu besar (Gambar 2b) dibandingkan nisbah 3 : 1 dan 5 : 1. Kenyataan ini menunjukkan bahwa nisbah 1 : 1 merupakan campuran paling stabil karena kurkumin mampu memproteksi -karoten dari faktor cahaya sehingga kerusakan yang terjadi tidak terlalu besar.

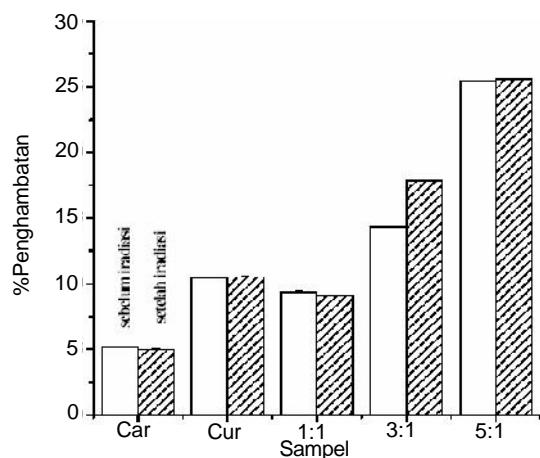
Diagram kurva pada Gambar 3 menunjukkan hubungan antara absorbans sampel terhadap waktu iradiasi. Terjadinya kenaikan absorbans pada sampel disebabkan oleh adanya oksigenasi pada molekul sampel yang mengakibatkan molekul tersebut memiliki volume yang lebih besar (Fiedor *et al.*, 2001). Fotodegradasi terbesar terjadi pada -karoten karena kenaikan absorbansnya paling tinggi dibandingkan sampel lain dalam penelitian ini. Tabel 3 menunjukkan bahwa persentase fotodegradasi -karoten lebih besar daripada fotodegradasi campuran -karoten dan kurkumin. Pada semua waktu iradiasi, urutan persen degradasi dari yang paling banyak terdegradasi secara berturut-turut adalah -karoten, campuran -karoten:kurkumin 5 : 1, 3 : 1, dan 1 : 1. Urutan tersebut



Gambar 3. Diagram kurva absorbans terhadap waktu: (?) -karoten, (●) -karoten:kurkumin (1:1), (?) -karoten kurkumin (3 : 1), dan (?) -karoten:kurkumin (5 : 1).



Gambar 4. Contoh pola recovery -karoten:kurkumin (3:1).



Gambar 5. Purata persen aktivitas antioksidan -karoten dancampuran -karoten-kurkumin dalam berbagai nisbah mol.

menunjukkan bahwa -karoten lebih cepat terdegradasi daripada campuran -karoten dan kurkumin. Asumsi tersebut didukung oleh pernyataan Gross (1991) yang menjelaskan -karoten mudah terdegradasi karena relatif peka terhadap cahaya. Meskipun kecil, kurkumin mampu menunjukkan potensi fotoaksidoproteksi yang dapat dibuktikan dengan besarnya persen fotodegradasi campuran -karoten dan kurkumin lebih kecil daripada -karoten (Tabel 3).

Seri waktu iradiasi yang dilakukan pada sampel adalah 0, 10, 30, 60, dan 90 menit. Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin lama waktu iradiasi, degradasi yang terjadi semakin besar sehingga persen fotodegradasinya juga semakin besar. Nisbah 1 : 1 menunjukkan persen fotodegradasi pada semua waktu iradiasi yang lebih stabil daripada -karoten, nisbah 3 : 1 dan 5 : 1. Kestabilan tersebut disebabkan oleh jumlah

mol kurkumin terhadap jumlah mol -karoten berada pada sistem keseimbangan. Pada rasio 3 : 1, banyaknya mol -karoten 3 kali dari jumlah mol kurkumin. Jumlah mol kurkumin yang kecil menyebabkan kurkumin tidak mampu melindungi semua -karoten yang ada (sebagian -karoten terdegradasi). Demikian pula dengan nisbah 5 : 1, jumlah mol -karoten 5 kali dari jumlah mol kurkumin. Semakin besar jumlah mol -karoten maka semakin banyak yang terdegradasi, sehingga semakin banyak membutuhkan kurkumin untuk memproteksinya. Dari penjelasan tersebut dapat disimpulkan bahwa jumlah mol kurkumin berpengaruh pada fotoaksidoproteksi -karoten.

*Recovery* merupakan kemampuan suatu senyawa untuk pemulihan diri atau kembali ke pola spektrum awal sebelum iradiasi (Limantara *et al.*, 2006) (Gambar 4). Proses *recovery* dilakukan dengan menginkubasi sampel yang telah diiradiasi dalam ruang gelap. Tabel 4 menunjukkan besarnya persen *recovery* yang ditentukan dari besarnya kenaikan absorbans sampel. Angka-angka yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel yang telah diirradiasi masih mampu melakukan *recovery*. Persen *recovery* lebih kecil dibandingkan dengan persen fotodegradasi, yang dapat terjadi karena sampel banyak mengalami kerusakan baik oleh faktor cahaya (saat iradiasi), oksigen (teroksidasi) ataupun suhu penyimpanan (inkubasi) sehingga sampel tidak mampu kembali ke keadaan semula.

**Aktivitas Antioksidan.** Metode yang digunakan untuk pengukuran antioksidan adalah metode DPPH (Molyneux, 2004). Besarnya persen aktivitas antioksidan dari -karoten, kurkumin serta campuran

Tabel 3. Purata persen fotodegradasi -karoten dan campuran -karoten : kurkumin dalam aseton.

Waktu iradiasi (menit)	-karoten	Fotodegradasi (%)		
		-karoten:kurkumin 1:1	-karoten:kurkumin 3:1	-karoten:kurkumin 5:1
0	0	0	0	0
10	4,11	2,29	3,59	3,61
30	9,49	4,41	6,15	7,37
60	15,38	5,50	8,51	12,98
90	21,99	6,28	10,36	17,99

Tabel 4. Purata persen Recovery -karoten dan campuran -karoten : kurkumin dalam berbagai nisbah mol.

Waktu iradiasi (menit)	-karoten	Recovery (%)		
		-karoten:kurkumin 1:1	-karoten:kurkumin 3:1	-karoten:kurkumin 5:1
0	0	0	0	0
10	1,63	2,32	1,64	2,89
30	2,17	1,87	0,74	0,24
60	4,02	2,88	0,57	1,04
90	2,70	3,67	0,06	0,28

Tabel 5. Purata persen aktivitas antioksidan -karoten dan campuran -karoten-kurkumin dengan nisbah mol 1:1, 3:1, dan 5:1

Iridiasi	-karoten	Kurkumin	Aktivitas Antioksidan		
			-karoten:kurkumin 1:1	-karoten:kurkumin 3:1	-karoten:kurkumin 5:1
Sebelum	5,14 ± 0,049	10,46 ± 0,043	9,37 ± 0,065	14,29 ± 0,065	25,39 ± 0,025
Sesudah	4,98 ± 0,042	10,51 ± 0,021	9,08 ± 0,039	17,82 ± 0,049	25,61 ± 0,029

-karoten dan kurkumin dalam berbagai nisbah mol disajikan dalam Gambar 5. Gambar tersebut menunjukkan bahwa sebelum iridiasi, kurkumin memiliki persen penghambatan jauh lebih besar dibandingkan -karoten. Persen penghambatan kurkumin pada saat iridiasi tidak mengalami penurunan yang signifikan, tetapi justru naik walaupun hanya sedikit. Kenyataan ini membuktikan bahwa kurkumin memang memiliki aktivitas antioksidan yang besar dan cukup stabil terhadap cahaya (Kim *et al.*, 2005). Sementara itu, persen penghambatan -karoten cenderung stabil baik sebelum ataupun setelah iridiasi sehingga dapat dikatakan bahwa -karoten juga memiliki aktivitas antioksidan. Kestabilan ini disebabkan oleh peranan -karoten yang dapat berfungsi sebagai fotoprotektor, yaitu mencegah kerusakan akibat fotoaksidasi (Koyama, 1991).

Campuran -karoten dan kurkumin ternyata menghasilkan persen aktivitas antioksidan campuran yang lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan -karoten atau kurkumin murni, khususnya pada nisbah 3 : 1 dan 5 : 1 (Tabel 5). Kenyataan dapat diartikan bahwa kurkumin dan -karoten dapat bekerja secara sinergis sehingga ketika keduanya dicampurkan menghasilkan aktivitas antioksidan yang semakin besar. Persen aktivitas antioksidan campuran -karoten dan kurkumin 5 : 1 lebih besar daripada campuran 3 : 1, sedangkan campuran 1 : 1 memiliki aktivitas antioksidan paling kecil.

## KESIMPULAN

Kurkumin menunjukkan efek sebagai fotoprotektor karena mampu memproteksi -karoten dari

fotoaksidasi. Pengaruh kurkumin sebagai fotoprotektor -karoten yang paling stabil adalah nisbah mol 1 : 1. Penambahan -karoten sangat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan campuran. Aktivitas antioksidan campuran ideal adalah nisbah mol 5 : 1.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Leenawaty Limantara mengucapkan terima kasih atas dukungan pengadaan laboratorium Biopigmen Universitas Ma Chung oleh Bapak Soegeng Hendarto dan dana penelitian Kementerian Negara Riset dan Teknologi (No: 27/RD/Insentif/PPK/II/2008).

## DAFTAR PUSTAKA

- Babal, K. 2006. Supercharged Spirulina. Evenone, Ireland: New Town Business Park.
- Bacon, M.F. 1965. Separation of chlorophylls *a* and *b* and related compounds by thin-layer chromatography on cellulose. Chromatography **17**: 322-326.
- Banerjee, A., Dagusgupta, N. & De, B. 2004. In vitro study of antioxidant activity of *syzygium cumini* fruit. Food Chemistry **90**: 727-733.
- Bong, P. 2002. Spectral and photophysical behaviors of curcumin and curcuminoids. Korean Chem. SOC **21**: 81-86
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S. & Pfander, H. 1982. Carotenoid Isolation and Analysis. Boston: Birkhauser Verlog Basel.
- Clearwae, W., Anucharpreeda, S., Nandigama, K., Ambdukar, S.V. & Limtrakul, P. 2004. Biochemical mechanism of modulation of human P-glycoprotein (ABCB1) by curcumin I, II, and II purified from tumeric powder. Biochemical Pharmacology **68**: 2043-2052.
- Conney, A.H., Lysz, T., Ferraro, T., Abidi, T.F., Manchand, P.S., Laskin, J.D. & Huang, M.T. 1991. Inhibitory effect of curcumin and some related dietary compounds on tumor promotion and arachidonic acid metabolism in mouse skin. Enzyme Regul. **31**: 385-389.
- Fiedor, J., Fiedor, L., Winkler, J., Scherz, A., & Scheer, H. 2001. Photodynamics of the bacteriochlorophyll-carotenoid system, 1: Bacteriochlorophyll-photosensitized oxygenation of -carotene in acetone. Photochem. Photobiol. **74**: 64-71.
- Foppen, F.H. 1971. Tables for identification of carotenoid pigments. J. of Chromatogr. Rev. **14**: 133-298.

- Govindarajan, V.S. & Stahl, W.H.** 1980. Turmeric-chemistry, technology and quality. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition **12**: 199-301.
- Gross, J.** 1991. Pigments in Vegetables, Chlorophylls and Carotenoid. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Haila, K.** 1999. Effects of Carotenoids and Carotenoid-Tocopherol Interaction on Lipid Oxidation In Vitro. Dissertation Graduate School, Department of Applied Chemistry and Microbiology. Finland: University of Helsinki.
- Henrikson, R.** 1998. Spirulina : Health Discoveries from the Source of Life. <http://www.energi.lipi.go.id/utama.cgi?artikel&1152963090&1>. 1 September 1998.
- Henrikson, R.** 2002. A Nutrient Rich Super Food for Super Health. <http://www.spirulinasource.com/earthfoodch2c.html>. 1 April 2004.
- Huang, M.T., Lou, Y.R., Ma, W., Newmark, H.L., Reuhl, K.R., & Conney, H.** 1994. Inhibitory effects of dietary curcumin on forestomach, duodenal and colon carcinogenesis in mice. *Cancer Res.* **54**: 5841-5847.
- Huang, M.T., Ma, W., Lu, Y.P., Chang, R.L., Fischer, C., Manchand, P.S., Newmark, H.L., & Conney, A.H.** 1995. Effect of curcumin, demethoxy-curcumin, bisdemethoxy-curcumin and tetrahydrocurcumin on TPA-induced tumor promotion. *Carcinogenesis* **16**: 2493-2497.
- Huang, M.T., Wang, Z.Y., Georgiadis, C.A., Laskin, J.D., & Conney, A.H.** 1992. Inhibitory effect curcumin on tumor initiation by benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Carcinogenesis* **13**: 947-954.
- Ireson, C.R., Donald, J., Jones, L., Samantha, O., Michael, W.H.C., David, J.B., Marion, L.W., Peter, B.F., William, P.S., & Andreas, J.G.** 2002. Metabolism of the cancer chemopreventive agent curcumin in human and rat intestine. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **11**: 105-111.
- Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., & Wright, S.W.** 1997. Phytoplankton Pigments in Oceanography : Guidelines to Modern Method. Paris: UNESCO Publishing.
- Kim, Y.J., Kim, H.W., & Chung, M.S.** 2005. Optimum packaging conditions for maintaining curcumin stability. *Food Engineering Progress* **9**: 268-275.
- Koyama, Y.** 1991. Structures and functions of carotenoids in photosynthetic system. *J. Photochem. Photobiol. B : Biol.* **265**-280.
- Kunchandy, E. & Rao, M.N.A.** 1990. Oxygen radical scavenging activity of curcumin. *Int'l. J. Pharm.* **38**: 239-240.
- Limantara L., Koehler, P., Wilhelm, B., Porra, R.J., & Scheer, H.** 2006. Photostability of bacteriochlorophyll a and derivatives: Potential sensitizer for photodynamic tumor therapy. *Photochemistry and Photobiology* **82**: 770-780.
- Lin, Jen-Kun & Shoei-Yn Lin-Shiau.** 2001. Mechanisms of cancer chemoprevention by curcumin. (Invited Review Paper). *Proc. Natl. Sci. Counc. Repub China B.* **25**: 59-66.
- Molyneux, P.** 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrilhidrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanarin J. Sci. Technol.* **26**: 211-219.
- Pill, H.B.** 2000. Spectral & photophysical behaviors of curcumin and curcuminoids bull. *Korean Chem. Soc.* **21**: 81-86.
- Rao, C.V., Riven, A., Simi, B., & Reddy, B.S.** 1995. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary curcumin, a naturally occurring plant phenolic compound. *Cancer Res.* **55**: 259-266.
- Rodriguez A.** 2001. A Guide to Carotenoid Analysis In Foods. Brasil: Departamento de Ciencia de Alimentos.
- Sasaki, S., Shihoh, K.S., Masami, A., Sugimoto, N., & Maitani, T.** 1998. Components of turmeric oleoresin preparations and photo-stability of curcumin. Division of Food Additives, National Institute of Health Sciences. *Jpn. J. Food Chem.* **5**
- Schiedt, K.** 1995. Chromatography. Di dalam: Britton, G., Jensen, S.L., Pfander, H. (ed.). *Carotenoids. Volume 1A: Isolation and Analysis*. Basel: Birkhauser Verlag.
- Shivashankara, S.K.** 2004. Fruit antioxidant activity, ascorbic acid, total phenol, quercetin, and carotene of Irwin mango fruits stored at low temperature after high electric field pretreatment. *J. Agric. Food Chem.* **52**: 1181-1186.
- Sreejayan, R.M.N.A.** 1994. Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation. *J. Pharm. Pharmacol.* **46**: 1013-1016.
- Subramanian, M., Sreejayan, R.M.N.A., Devasagayam, T.P.A., & Singh, B.B.** 1994. Diminution of singlet oxygen-induced DNA-damage by curcumin and related antioxidant. *Mutat. Res.* **311**: 249-255.
- Tonneisen, H.H., Arrieta, A.F., & D. Lerner.** 1995. Studies on curcumin and curcuminoids. *Pharmazie* **50**: 689-694.
- Umesh, B.V.** 1992. Spirulina: What it can do for you and your country. [http://umesh\\_1.tripod.com/Spirulina.htm#Spirulina](http://umesh_1.tripod.com/Spirulina.htm#Spirulina). 1 Februari 1997.
- Wang, B., Yu, Z., & Hwang, S.L.** 1995. Quantitative analyses of chlorophylls and their derivates by thin layer chromatography. *J. Chinese Agric. Chem. Soc.* **35**: 550-560.
- Wang, Y.J., Pan, M.H., Chang, A.L., Hsieh, C.Y., & Lin, J.K.** 1997. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* **15**: 1867-1876.