

## AKTIVITAS PENANGKAL RADIKAL BEBAS DAN PENSTABIL OKSIGEN SINGLET DARI EKSTRAK DAUN KUNYIT (*Curcuma Domestica* Val.)

Edi Suryanto<sup>1</sup> dan Dewa Gede Katja<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Sam Ratulangi, Manado

Diterima 09-10-2009; Diterima setelah direvisi 21-10-2009; Disetujui 26-10-2009

### ABSTRACT

**Suryanto, E. and D. G. Katja**, 2009. Free Radical Scavenging and Singlet Oxygen Quenching Activity from Curcuma Leaf Extract (*Curcuma domestica* Val.)

The objectives of study was to determine free radical scavenging and singlet oxygen quenching (SOQ) activity in turmeric leaves extract. Analyses of phytochemicals were based on total phenolic, flavonoid and condensed tannins. The radical scavenging activities of extracts were determined by 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay. Turmeric leaves powder was extracted with methanol 80%, ethanol 80% dan acetone 80% at room temperature for 24 hours, respectively. Singlet oxygen quenching (SOQ) activity of each turmeric leaves extracts at 500-1500 ppm level. SOQ activity test was conducted using linoleic acid as substrates each containing 5 ppm erythrosine as a photosensitizer. The highest total phenolic flavonoid content was detected in methanol extract, followed by acetone extract and ethanol extract. Contrary, ethanol extract contained higher contents of condensed tannins than methanol extract and acetone extract. The addition of methanol extracts of turmeric leaf in the reaction mixture showed the highest scavenging activity in DPPH free radical followed by acetone extract and ethanol extract. The singlet oxygen quenching activities of turmeric extracts were greatly different in different solvents. The methanol extract exhibited the highest singlet oxygen quenching activities followed by acetone extract and ethanol extract under fluorescent light for up to 5 hours. These result suggested that phenolic extract of turmeric leaves had free radical scavenging and singlet oxygen quenching activities.

**Keywords** : turmeric leaves, phenolic extract, free radical scavenging, singlet oxygen quenching

### PENDAHULUAN

Fakta-fakta yang terkumpul menunjukkan bahwa *reactive oxygen species* (ROS) terlibat dalam patogenesis dari penyakit tertentu pada manusia seperti inflamasi, kanker, penuaan dini, dan *atherosclerosis*. ROS termasuk radikal hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ), radikal anion superoksida ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan oksigen singlet ( $^1\text{O}_2$ ). Diantara ROS tersebut, oksigen singlet memberikan banyak ketertarikan sebagai suatu pengoksidasi biologi dan memperlihatkan sifat pengoksidasi yang unik serta reaktivitasnya sangat tinggi terhadap komponen biologi seperti protein, lipida, vitamin dan DNA (Foote, 1970; Jung *et al.*, 1998; King dan Min, 2002; Choe dan Min, 2005).

Oksigen singlet adalah suatu jenis ROS yang non radikal elektrofilik (Min dan Boff, 2002; Choe dan Min, 2005). Oleh karena itu, oksigen singlet bisa mempengaruhi suatu proses oksidasi yang khas melalui penyerangan secara langsung kepada senyawa yang kaya elektron tanpa keterlibatan radikal bebas. Oksidasi komponen biologi yang terinduksi oleh oksigen singlet bisa

dihubungkan dengan berbagai jenis peristiwa patologis seperti pigmentasi, katarak, penuaan kulit dan kanker (Davies dan Goldberg, 1987; Shahidi, 1997; Haliwell dan Gutteridge, 2001).

Penelitian tentang peran buah-buahan, sayuran, rempah-rempah dan herbal sebagai penangkap radikal hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ), radikal anion superoksida ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) telah banyak dilakukan (Yen dan Chen, 1995; Zhishen *et al.*, 1999; Prior dan Cao, 2000; Wettasinghe dan Shahidi, 2000; Lai *et al.*, 2001; Dragland *et al.*, 2003; Agbor *et al.*, 2005; Shan *et al.*, 2005; Madhujith dan Shahidi, 2005). Namun demikian, belum banyak data yang tersedia untuk mengungkapkan tentang studi aktivitas penstabil oksigen singlet dari daun kunyit. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan fitokimia (fenolik, flavonoid dan tanin) dan pengujian aktivitas penstabil oksigen singlet pada ekstrak daun kunyit.

Korespondensi dialamatkan kepada yang bersangkutan :

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado  
Jl. Kampus Kleak UNSRAT, Manado 95115. Phone : 081356269647, E-mail : edisuryanto@yahoo.com

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kunyit, diperoleh dari dipekarangan penduduk di Kecamatan Malalayang. Jenis tanaman yang telah dipilih dibersihkan dan disimpan pada suhu kamar sebelum diperlakukan. Beberapa bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah berkualifikasi pro analisis: etanol, natrium nitrit, natrium hidroksida, vanilin, asam klorida, natrium karbonat, aluminium klorida, eritrosin, vitamin E (VE) dan reagen *Folin-Ciocalteu* diperoleh dari Merck (Darmstadt, Germany), diperoleh dari pasar lokal dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Katekin, asam galat dan kuersetin diperoleh Sigma Chemical Co. (St. Lois, MO). Alat-alat yang digunakan adalah kotak cahaya (70 x 50 x 60 cm) dengan 4 buah lampu fluoresen 15 wat (Silvania), Pengukur intensitas cahaya (Extect, Cole-Palmer Instrument, Co.), gelas Erlenmeyer, timbangan analitis digital dan spektrofotometer UV-Vis (Milton Roy UV-Vis 501).

### Ekstraksi daun kunyit

Lima belas gram serbuk daun kunyit diekstraksi dengan masing-masing 100 mL metanol 80%, etanol 80% dan aseton 80% selama 24 jam. Kemudian disaring dengan kertas Whatman No. 1. Filtrat yang diperoleh pekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40 °C sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ketiga ekstrak yang diperoleh disimpan pada -10 °C sebelum digunakan untuk analisis fitokimia dan pengujian aktivitas penstabil oksigen singlet.

### Penentuan kandungan total fenol

Total fenol dalam sampel ditentukan dengan metode Jeong *et al.* (2005). Sampel ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (50%) dalam tabung reaksi dan kemudian campuran ini digojog selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, 1 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2% ditambahkan. Selanjutnya campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi ekstrak dibaca dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  750 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan asam galat sebagai standar.

### Penentuan kandungan total flavonoid

Prosedur penentuan kandungan flavonoid menggunakan metode Meda *et al.* (2005). Lima mililiter ekstrak daun kunyit ditambahkan dengan 5 mL aluminium klorida 2% yang telah dilarutkan dalam metanol, kemudian divortek dan ditera pada  $\lambda$  415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan kuersetin sebagai standar.

### Penentuan tanin terkondensasi

Kandungan tanin terkondensasi sampel ditentukan menurut metode Julkunen-Tinto (1985). Sebanyak 0,1 mL ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi yang dibungkus aluminium foil, lalu ditambahkan 3 mL larutan vanilin 4% (b/v) dalam metanol dan digojog. Segera sesudah ditambahkan 1,5 mL HCl pekat dan digojog lagi. Absorbansi dibaca pada  $\lambda$  500 nm setelah campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Hasilnya diplotkan terhadap kurva standar katekin yang dipersiapkan dengan cara yang sama. Kandungan tanin terkondensasi dinyatakan sebagai mg/kg ekstrak.

### Penentuan penangkap radikal bebas DPPH

Penentuan aktivitas penangkapan (*scavenger*) radikal bebas dari ekstrak bawang merah diukur dengan metode Burda and Oleszek (2001) yang dimodifikasi. Sebanyak 0,1 mM larutan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dalam etanol dipersiapkan kemudian 2 mL dari larutan ini ditambahkan 0,5 mL sampel ekstrak tanaman. Tingkat berkurangnya warna dari larutan menunjukkan efesiensi penangkapan radikal. Lima menit terakhir dari beberapa menit, absorbansi diukur pada  $\lambda$  517 nm. Persentase aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas penangkap radikal bebas} = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

### Penentuan aktivitas ekstrak daun kunyit terhadap fotooksidasi asam linoleat

Penentuan kemampuan penstabil oksigen singlet (SOQ) dari ekstrak daun kunyit terhadap asam linoleat menggunakan metode Lee *et al.* (1997) dengan sedikit dimodifikasi. Pengaruh

ekstrak EM, EE dan EA terhadap oksidasi oksigen singlet dalam asam linoleat 0,03 M menggunakan konsentrasi 500-1500 ppm yang dipersiapkan dalam etanol dan mengandung eritrosin 5 ppm sebagai sensitiser. Sampel dari campuran tersebut sebanyak 10 mL diambil dan dimasukkan ke dalam botol serum yang berukuran 30 mL yang dilengkapi dengan penutup karet dan aluminium foil. Botol tersebut kemudian diletakkan dan disimpan di dalam kotak cahaya (70 x 50 x 60 cm) dengan intensitas cahaya fluoresen 4.000 lux selama 5 jam dengan pengamatan setiap 1 jam. Angka peroksida diukur dengan metoda AOCS (1990). Penelitian yang sama dilakukan pada kondisi tanpa cahaya.

### Penentuan aktivitas ekstrak daun kunyit terhadap fotooksidasi protein

Penentuan kemampuan SOQ dari ekstrak daun kunyit terhadap protein (bovine serum albumin, BSA) menggunakan metode Oh *et al.* (2006). Sebanyak 500  $\mu$ L ekstrak EM, EE dan EA (500-1500 ppm), 10 mg bovine serum albumin (BSA) dan eritrosin 5 ppm dan dilarutkan dengan 2 mL buffer fosfat 0,15 M (pH 7,4). Sampel dari campuran tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam botol serum yang berukuran 10 mL yang dilengkapi dengan penutup karet dan aluminium foil. Botol tersebut kemudian diletakkan dan disimpan di dalam kotak cahaya (70 x 50 x 60 cm) dengan intensitas cahaya *fluorescent* 4.000 lux selama 4 jam. Setelah 4 jam pencahayaan, 0,5 mL sampel ditambah dengan 2 mL 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) 2,5 M, divortex dan diinkubasi selama 45 menit dan divortex tiap 15 menit. Setelah itu, ditambahkan 2 mL TCA 20% dan disentrifus selama 5 menit, supernatan

dibuang dan endapan yang terjadi ditambahkan dengan TCA 10%, disentrifus selama 5 menit dan supernatan dibuang. Endapan yang terjadi ditambahkan 3 x 2 mL etanol-etil asetat (1:1) dan disentrifusi selama 5 menit dan supernatan dibuang. Selanjutnya endapan yang terjadi ditambahkan 3 mL urea 9 M yang telah dilarutkan dalam NaOH 0,4 M, divortex sampai homogen dan dibaca kandungan protein karbonil dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  390 nm. Penelitian yang sama dilakukan pada kondisi tanpa cahaya.

### Analisis data

Semua perlakuan dilakukan dengan dua ulangan dan dianalisis secara statistik dengan analisis varian (ANOVA) menggunakan software SPSS versi 13.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Skrening kandungan fitokimia

Skrening kandungan fitokimia dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan kandungan fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi dalam ekstrak metanol (EM), ekstrak etanol (EE) dan ekstrak aseton (EA) disajikan dalam tabel 1. Dari ketiga ekstrak kunyit yang diuji, semua ekstrak memiliki kandungan fenolik, flavonoid dan tanin yang signifikan. Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak kunyit yang diuji kaya dalam fitokimia fenolik, flavonoid dan tanin. Dari data secara kuantitatif menunjukkan bahwa kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin pada ekstrak kunyit kelihatan sangat berbeda diantara jenis pelarut yang digunakan (Tabel 1).

**Tabel 1.** Kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi dalam ketiga ekstrak kunyit

No.	Sampel	Fenolik* (mg/kg)	Flavonoid* (mg/kg)	Tanin Terkondensasi* (mg/kg)
1.	Ekstrak Metanol (EM)	139,08 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	16,89 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	35,94 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
2.	Ekstrak Etanol (EE)	96,67 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	13,80 $\pm$ 0,018 <sup>ab</sup>	54,72 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>
3.	Ekstrak Aseton (EA)	117,14 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	14,50 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	42,44 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>

Data dinyatakan dalam rata-rata dan standar deviasi (SD) dari dua ulangan. \*Data dengan *superscript* huruf yang sama dalam satu kolom berarti tidak berbeda nyata ( $\alpha < 0,05$ )

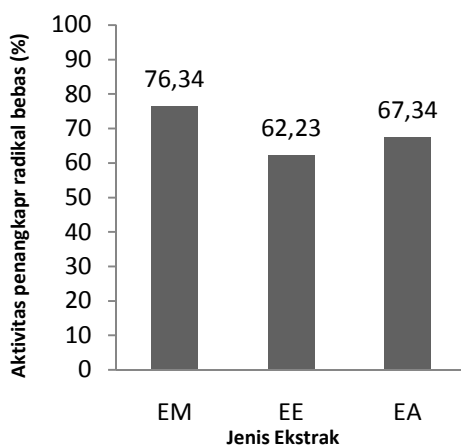
Dari tiga jenis pelarut yang dipilih paling tinggi, kandungan total fenolik ditemukan pada EM (139,08 $\pm$ 0,02 mg/kg) diikuti oleh EA

(117,14 $\pm$ 0,03 mg/kg) dan EE (96,67 $\pm$ 0,01 mg/kg). Untuk kandungan total flavonoid tertinggi ditemukan pada ekstrak EM dan EA diikuti oleh EE, kandungannya berturut-turut adalah

16,89±0,01; 14,50±0,01 dan 13,80±0,018. Sebaliknya, kandungan tanin terkondensasi tertinggi ditemukan pada ekstrak EE dan EA, kandungannya adalah 54,72±0,01 dan 42,44±0,08, selanjutnya yang terendah diperoleh pada EM sebesar 35,94±0,01 mg/kg. Daun kunyit yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kunyit yang sudah layak dipanen. Kandungan total fenolik dan flavonoid dari ekstrak EM dan EA yang dideteksi memiliki kandungan cukup tinggi dibandingkan EE sedangkan kandungan total terkondensasi tertinggi ditemukan pada ekstrak EE.

### Aktivitas ekstrak daun kunyit terhadap radikal bebas DPPH

Aktivitas penangkal (*scavenging*) radikal bebas dari ketiga ekstrak daun kunyit dievaluasi dengan pengujian radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Senyawa radikal DPPH biasanya digunakan sebagai substrat untuk mengevaluasi aktivitas antioksidatif dari antioksidan. Radikal DPPH adalah radikal bebas stabil dan menerima satu elektron atau hidrogen menjadi molekul yang stabil (Matthaus, 2002). Pengujian aktivitas penangkal radikal bebas DPPH secara spektrofotometer dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan larutan DPPH. Berkurangnya absorbansi dari larutan radikal bebas DPPH dan diikuti perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Hal ini dapat terjadi ketika radikal bebas DPPH ditangkal oleh antioksidan melalui donor hidrogen ke bentuk molekul DPPH yang stabil (Juntachote dan Berghofer, 2005).



**Gambar 1.** Aktifitas penangkalan radikal bebas DPPH ekstrak kunyit. (EM: ekstrak metanol; EE: ekstrak etanol; EA: ekstrak aseton).

Hasil uji aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dari ketiga jenis ekstrak daun kunyit. Ketiga jenis ekstrak mencapai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas di atas 50%, ekstrak metanol (EM), ekstrak etanol (EE) dan ekstrak aseton (EA) (Gambar 1). Dari gambar tersebut diperoleh bahwa ekstrak EM menunjukkan aktivitas paling tinggi dalam penangkal radikal bebas diikuti EA dan EE pada tingkat konsentrasi yang sama. Kemampuan penangkal radikal bebas dari EA berbeda nyata dengan EE ( $p < 0,05$ ). Adapun kemampuan menangkal radikal bebas DPPH dari EM, EE dan EA berturut-turut adalah 76,34; 67,34 dan 62,23%. Oleh karena itu, ketiga ekstrak tersebut memiliki kemampuan tinggi untuk melepaskan satu elektron atau atom hidrogen kepada radikal difenilpikrilhidrazil (violet) sehingga terbentuk

senyawa non radikal difenilpikrilhidrazilin yang berwarna kuning (Molyneux, 2004). Adapun urutan aktivitas penangkap radikal bebas yang terkuat adalah  $EM > EA > EE$ .

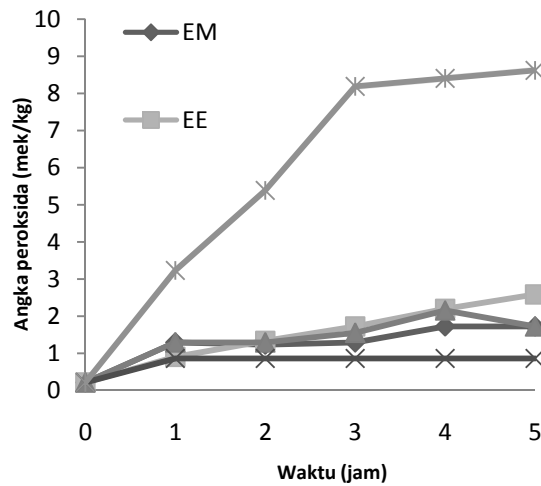
### Efek ekstrak daun kunyit terhadap fotooksidasi asam linoleat

Pengaruh 500 ppm dari ekstrak EM, EE dan EA terhadap angka peroksida asam linoleat yang diberikan cahaya sebesar 4000 lux dapat dilihat pada Gambar 2. Ekstrak EM dan EA mempunyai pengaruh yang paling kuat untuk penstabil (*quencher*) oksigen singlet yang diikuti oleh EE selama 5 jam penyinaran cahaya fluoresen ( $p < 0,05$ ). Eritrosin yang diberi cahaya (kontrol) menunjukkan perubahan angka peroksida yang terus meningkat selama penyinaran 5 jam.

Kemungkinan dapat dijelaskan bahwa eritrosin yang digunakan sebagai sensitiser dapat bertindak sebagai inisiator fotooksidasi asam linoleat dan ini dibuktikan dengan naiknya angka peroksida minyak selama penyinaran 5 jam. Asam linoleat yang diberikan eritrosin tanpa menggunakan cahaya (TC) tidak menunjukkan perubahan angka peroksida secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Hal ini dapat dijelaskan bahwa tanpa diberi cahaya walaupun diberikan eritrosin tak mampu menghasilkan oksigen singlet dari oksigen triplet.

Fotosensitiser seperti eritrosin (Sen) dapat menyerap cahaya dan mentransformasikan menjadi keadaan tereksitasi selanjutnya berubah menjadi sensitiser pada keadaan triplet ( $^3\text{Sen}^*$ ) yang kurang stabil. Sensitiser dapat memindahkan

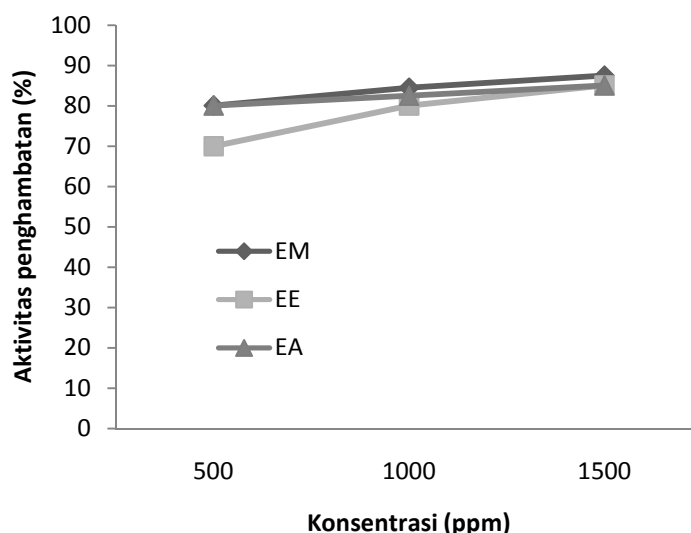
energinya ke oksigen pada keadaan triplet yang lebih stabil. Karena tingkat energi sensitiser sangat tinggi sehingga dapat mengubah oksigen triplet menjadi oksigen singlet. Selanjutnya oksigen singlet dapat menyerang ikatan rangkap yang terdapat dalam asam linoleat. Yang *et al.* (2002) melaporkan bahwa eritrosin dapat menurunkan *headspace* (oksigen triplet) dalam minyak kedele dengan meningkatnya konsentrasi (0, 5, 20, 100 dan 200 ppm) selama penyinaran 4 jam. Penelitian lain, menunjukkan bahwa pengaruh eritrosin terhadap metil linoleat bisa membentuk hidroperoksida, hidroperoksida ini merupakan produk utama akibat terjadinya fotooksidasi oleh sensitiser (Pan *et al.*, 2005).



**Gambar 2.** Aktivitas 500 ppm ekstrak daun kunyit terhadap fotooksidasi asam linoleat dengan waktu penyinaran cahaya fluoresen (4000 lux) pada suhu kamar (EM: ekstrak metanol; EE: ekstrak etanol; EA: ekstrak aseton; TC: tanpa cahaya).

Hasil uji fotooksidasi yang dilakukan terhadap asam linoleat menggunakan ekstrak daun kunyit pada beberapa konsentrasi dapat dilihat pada gambar 3. Pada gambar 3 menunjukkan

bahwa konsentrasi ekstrak daun kunyit serta pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sangat berpengaruh pada aktivitas penstabil oksigen singlet terhadap fotooksidasi asam linoleat.



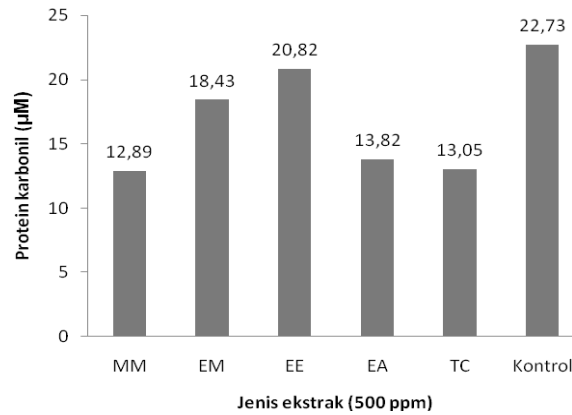
**Gambar 3.** Efek konsentrasi ekstrak daun kunyit terhadap fotooksidasi asam linoleat dengan waktu penyinaran cahaya fluoresen (4000 lux) pada suhu kamar (EM: ekstrak metanol; EE: ekstrak etanol; EA: ekstrak aseton; TC: Tanpa cahaya).

Pada ekstrak EM dan AE menunjukkan hasil yang sama, dimana semakin besar konsentrasi maka semakin besar persentase penghambatan oksigen singlet. Artinya bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula potensi ekstrak sebagai penstabil oksigen singlet. Sedangkan pada ekstrak EE, persentase penghambatan pada konsentrasi 1500 ppm menunjukkan angka yang lebih besar. Hal ini terjadi karena kemungkinan besar pada ekstrak EE terekstraksi komponen kimia yang bukan berperan sebagai penstabil oksigen singlet seperti klorofil, minyak atsiri, oleoresin dan lemak. Komponen kimia seperti klorofil mampu berperan aktif sebagai katalitik untuk menghasilkan oksigen singlet sehingga mendukung terbentuknya peroksida.

### Efek ekstrak daun kunyit terhadap fotooksidasi protein

Beberapa asam amino seperti metionin, histidin, triptopan, tirosin dan cystein dalam protein secara khusus rentan terhadap oksidasi

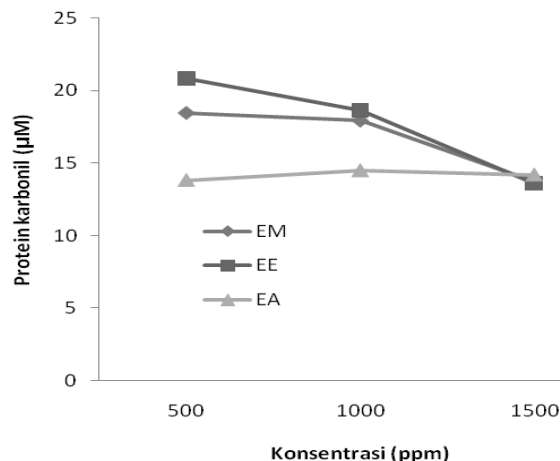
oleh oksigen singlet untuk menghasilkan karbonil (Jung *et al.*, 1998; Min dan Boff, 2002). Penelitian ini mempelajari efek fotooksidasi eritrosin dalam protein. Dalam penelitian ini, BSA digunakan sebagai sumber protein dan oksidasi protein ditentukan dengan mengukur kandungan protein karbonil. Setelah 4 jam disinari cahaya fluorescent dalam hadirnya eritrosin, protein karbonil meningkat dari 12,89  $\mu\text{M}$  menjadi 22,73  $\mu\text{M}$  (Gambar 4). Ini mengindikasikan bahwa ini benar-benar terjadi oksidasi protein selama disinari cahaya fluorescent. Akan tetapi, oksidasi ini tidak signifikan meningkat dalam kandungan protein karbonil yang teramati dalam sampel tanpa cahaya setelah 4 jam. Sampel yang diperlakukan dengan 500 ppm ekstrak kunyit dari EM, EE dan EA berturut-turut adalah 18,43; 20,82 dan 13,82  $\mu\text{M}$  mampu menurunkan kandungan protein karbonil. Dari data ini menunjukkan bahwa ekstrak EA lebih kuat menghambat oksidasi protein daripada EM dan EE setelah 4 jam disinari cahaya fluoresen.



**Gambar 4.** Efek 500 ppm ekstrak daun kunyit terhadap pembentukan protein karbonil dalam fotooksidasi bovin serum albumin (BSA) yang diinduksi oleh eritrosin selama 4 jam (MM: mula-mula, EM: ekstrak metanol; EE: ekstrak etanol; EA: ekstrak aseton dan TC: tanpa cahaya)

Dari gambar 4 menunjukkan efek ekstrak daun kunyit dengan beberapa konsentrasi yaitu 500, 1000 dan 1500 ppm terhadap pembentukan protein karbonil dalam fotooksidasi bovin serum albumin (BSA) yang diinduksi oleh eritrosin. Dari ketiga konsentrasi ekstrak EM dan EE cenderung menunjukkan kemampuan menurunkan kandungan protein karbonil. Hal ini membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi yang diberikan semakin kecil perubahan protein karbonil yang terbentuk. Akan tetapi, ekstrak EA tidak menunjukkan signifikan perubahan kandungan protein karbonil, ini berarti bahwa kenaikan konsentrasi EA relatif tidak mempengaruhi penghambatan oksidasi protein setelah 4 jam disinari cahaya fluoresent.

Dari gambar 5, konsentrasi 500, 1000 dan 1500 ppm EM menunjukkan persentase kenaikan



**Gambar 5.** Efek beberapa konsentrasi ekstrak daun kunyit terhadap pembentukan protein karbonil dalam fotooksidasi bovin serum albumin (BSA) yang diinduksi oleh eritrosin selama 4 jam (MM: mula-mula, EM: ekstrak metanol; EE: ekstrak etanol; EA: ekstrak aseton dan TC: tanpa cahaya)

penghambatan oksidasi protein berturut-turut adalah 18,92; 21,25 dan 39,73%, sedangkan EE berturut-turut adalah 8,40; 18,17 dan 40,17%. Hasil ini jelas menyimpulkan bahwa ketiga ekstrak daun kunyit mampu melindungi oksidasi protein yang diinduksi oleh cahaya dan eritrosin sebagai sensitiser. Ini menarik untuk dicatat bahwa pada konsentrasi 500 ppm ekstrak EA mampu menurunkan kandungan protein karbonil besar daripada EM dan EE, sebaliknya pada konsentrasi 1500 ppm EM dan EE menunjukkan lebih besar penurunan kandungan protein karbonil daripada EA. Akan tetapi, dari data ini memperlihatkan tidak signifikan berbeda dalam kandungan protein karbonil antara perlakuan EM dan EE pada konsentrasi 1500 ppm.

Hasil ini jelas menunjukkan bahwa ekstrak daun kunyit sangat efektif menstabilkan oksigen singlet pada perlakuan konsentrasi rendah. Ini telah dilaporkan bahwa oksigen singlet secara ekstrem reaktif dengan komponen biologi seperti protein, lipida dan DNA. Selain itu, hasil ini pula jelas menyarankan bahwa aktivitas perlindungan dari ekstrak daun kunyit melawan fotosensitasi eritrosin dan oksidasi protein adalah setidaknya tidaknya bagian yang disebabkan dari aktivitas penstabilan oksigen singlet dalam sistem.

Oksidasi protein yang menyebabkan modifikasi protein termasuk kehilangan fungsi protein, seperti aktivitas enzim, reseptor dan transport membrane serta bisa menghasilkan dalam disfungsi biologi (Davies dan Goldberg, 1987). Dalam studi ini aktivitas perlindungan dari ekstrak kunyit terhadap bahaya biologi yang disebabkan oksigen singlet tidak pernah dilaporkan sebelumnya. Ini diharapkan bahwa efek perlindungan dari ekstrak kunyit terhadap oksigen singlet yang menyebabkan bahaya biologi seperti yang disajikan dalam penelitian ini. Pada studi ini, bisa memberi kontribusi pada efek manfaatnya melawan oksigen singlet yang berdampak pada pathogenesis.

## KESIMPULAN

Daun kunyit yang diekstraksi dengan pelarut metanol 80%, etanol 80% dan aseton 80% mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi yang signifikan. Ekstrak metanol dan aseton dari daun kunyit memiliki kemampuan yang kuat sebagai penstabil oksigen singlet dan penangkal radikal bebas DPPH daripada ekstrak etanol. Ketiga ekstrak memiliki aktivitas penstabil oksigen singlet tergantung pada konsentrasi, semakin besar konsentrasi ketiga ekstrak menunjukkan aktivitas yang paling kuat.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pimpinan Proyek Peningkatan Penelitian Perguruan Tinggi: Penelitian Hibah Bersaing Tahun 2009, Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan, Departemen Pendidikan Nasional.

## DAFTAR PUSTAKA

Agbor, G.A., J. E. Oben, J.Y. Ngogang, C. Xinxing dan J.A. Vinson. 2005. Antioxidant Capacity of Some Herbs/Spices from Cameroon: A

Comparative Study of Two Methods. *J. Agric. Food Chem.* 53: 6819-6824.

- Burda, S., dan W. Oleszek. 2001. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2774-2779.
- Choe, E., R. Huang, D.B. Min. 2005. Chemical Reaction and Stability of Riboflavin in Foods. *J. Food Sci.* 70: 28-36
- Davis, K.J. dan A.I. Goldberg. 1987. Protein damaged by Oxygen radicals are Rapidly Degraded to Extracts of Red Blood Cells. *J. Biol. Chem.* 262: 8227-8234.
- Dragland, S., H. Senoo, K. Wake, K. Holte and R. Blomhoff. 2003. Several Culiner and Medicinal Herbs are Important Source of Dietary Antioxidant. *J. Nutrition.* 133: 1286-1290.
- Foot, C.S., Y.C. Chang dan R.W. Denny. 1970. Chemistry of Singlet Oxygen. X. Carotenoid Quenching Parallels Biological Protection. *J. Am. Chem. Soc.* 92: 5216-5218.
- Halliwel, B dan J.M.C. Gutteridge. 2001. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, London.
- Jeong, S.M., S.Y. Kim, D.R. Kim, S.C. Jo, K.C. Nam, D.U Ahn and S.C. Lee. 2004. "Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels". *J. Agric. Food Chem.* 52: 3389-3393.
- Julkunen-Tiitto, R. 1985. Phenolics Constituents in the Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 33: 213-217.
- Jung, M.L., K.H. Lee dan S.Y. Kim. 1998. Retinyl Palmirate Isomers in Skim Milk During light Storage as Affected by Ascorbic Acid. *J. Food. Sci.* 63: 597-600.
- Juntachote, J. dan E. Berghofer. 2005. Antioxidant Properties and Stability of Ethanol Extracts of Holy basil and Galangal. *Food Chemistry.* 92: 193-202.
- King, J.M. dan D.B. Min. 2002. Riboflavin-Photosensitized Singlet Oxygen Oxidation Product of Vitamin D<sub>2</sub>. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79: 983-987.
- Lai, L-S. S-T. Chou, W-W. dan Chao. 2001. Studies on the antioxidative Activities of Hsian-tsoo (*Mesona Procumbens Hems*) Leaf Gum. *J. Agric. Food Chem.* 49: 963-968
- Lee, K.H., M.Y. Jung dan S.Y. Kim. 1997. Quenching Mechanism and Kinetics of Ascorbyl Palmitate for the Reduction of the Photosensitized Oxidation of Oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74: 1053-1057.
- Madhujith, T. dan F. Shahidi, 2005. Antioxidant Potential of Pea Beans (Phaseolus vulgaris L.). *J. Food Sci.* 70: S85-S90.
- Matthaus, B. 2002. Antioxidant Activity of Extracts Obtained from Residues of Different Oilseeds. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3444-3452.



- Meda, A., C.E. Lamien, M. Romito, J. Miliogo dan O.G. Nacoulina. 2005. Determination of the Total Phenolic., Flavonoid, and Proline Contents in Burkina Fasan Money, as well as their Radical Scavenging Activity. *Food Chemistry*. 91:571-577.
- Min, D.B. dan J.M. Boff. 2002. Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods. *Food Science and Food Safety*. 1: 58-72.
- Pan, X., H. Ushio dan T. Ohshima. 2005. Effects of Molecular Configurations of Food Colorants on their Efficacies as Photosensitizers in Lipid Oxidation. *Food Chemistry*. 92:37-44.
- Prior, R.L. and G. Cao. 2000. Antioxidant Phytochemicals in Fruits and Vegetables: Diet and Health Implications. *Horticultural Science*. 34: 588-592.
- Shan, B., Y.Z. Cai, M. Sun dan H. Corke. 2005. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *J. Agric Food Chem*. 53: 7749-7759.
- Wettasinghe, M. dan F. Shahidi. 2000. Scavenging of Reactive-Oxygen Species and DPPH Free Radicals by Extracts of Borage and Evening Primrose Meals. *Food Chemistry*. 70: 17-26.
- Yen, G-C. dan H-Y. Chen, 1995. Antioxidants Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem*. 43: 383-386