

Spektrum dan Kinetika Keadaan Eksitasi Singlet Karotenoid Neurosporene diukur dengan Spektroskopi Serap Pisah Waktu

Ferdy S. Rondonuwu*

Program Studi Fisika, Fakultas Sains dan Matematika dan Program Pasca Sarjana Magister Biologi
Universitas Kristen Satya Wacana, Jl. Diponegoro 52-60 Salatiga, Indonesia

Intisari

Spektrum serap karotenoid neurosporene dengan 9 ikatan rangkap karbon berturutan diukur menggunakan spektroskopi serap pisah waktu. Spektrum diukur menggunakan pasangan laser pulsa ultra cepat masing-masing selebar 120 femtodetik. Didapati bahwa spektrum serap berevolusi sebanyak 3 kali. Kurva kinetik yang dianalisa pada riak gelombang 512 nm menunjukkan bahwa spektrum serap tersebut turun secara eksponensial dengan 3 konstanta kelajuan yang berbeda. Hasil ini menunjukkan bahwa energi eksitasi karotenoid mengalami deaktivasi melalui kaskade konversi internal dari keadaan $1B_u^+$ ke keadaan dasar $1A_g^-$ (*ground state*) setelah melewati dua tingkat tenaga intermediet. Hasil ini cocok dengan dugaan bahwa terdapat paling tidak dua tingkat tenaga singlet di antara keadaan dasar dan keadaan eksitasi $1B_u^+$.

KATA KUNCI: karotenoid, spektroskopi serap pisah waktu

I. PENDAHULUAN

Karotenoid *All-trans* pada kompleks pikmen-protein (antena) dari bakteri fotosintesis memiliki fungsi utama yaitu penangkap cahaya. Pada kompleks antenna, karotenod terkoordinasi secara unik dengan (*bakterio*) klorofil membentuk cincin [1]. Konfigurasi cincin karotenoid-bakterioklorofil pada kompleks antenna menghasilkan serapan maksimum cahaya matahari pada kisaran riak gelombang 350 - 900 nm. Kisaran tersebut merupakan optimasi sinergi dari serapan karotenoid pada riak gelombang 420 - 550 nm dan serapan bakterioklorofil yang memiliki pita serapan sekitar riak gelombang 400, 590 dan 850 nm [2]. Cahaya yang diserap oleh karotenoid-bakterioklorofil digunakan untuk eksitasi molekul-molekul tersebut dan dikonversi menjadi energi kimia melalui proses fotosintesis.

Sebagai pikmen, karotenoid bertanggung jawab terhadap warna pada daun, buah dan bunga serta beberapa hewan tertentu. Karotenoid beta karoten, misalnya, memberi warna oranye pada jeruk sedangkan karotenoid lycopene memberi warna merah pada tomat. Pakan ternak memanfaatkan karotenoid sebagai sumber nutrisi untuk memberi warna pada daging dan telur. Warna oranye pada daging ikan salmon diberikan oleh karotenoid spirilloxanthin. Warna kuning pada telur ayam dapat diatur dengan jumlah karotenoid beta karoten yang dicampurkan pada pakan. Ditemukan pula bahwa karotenoid dapat mencegah terbentuknya radikal bebas pada tanaman, hewan dan manusia. Untuk memahami, kemampuan luar biasa molekul karotenoid tersebut maka pengetahuan tentang struktur tenaga karotenoid mutlak diperlukan.

Karotenoid adalah rantai karbon yang memiliki dua atau lebih simetri independen keadaan elektronik. Berdasarkan simetri C_{2h} keadaan elektronik yang dimaksud adalah tingkat aktif optis $1B_u^+$ dan tingkat terlarang optis $2A_g^-$ [3, 4]. Tavan dan Schulten [5] menghitung, dengan pendekatan Pariser-Parr-Pople (PPP), bahwa untuk rantai karbon pendek memiliki keadaan-keadaan tenaga singlet $1B_u^+$, $1B_u^-$, $3A_g^-$ dan $2A_g^-$ dan $1A_g^-$. Transisi terjadi terjadi di antara sepasang keadaan elektronik yang memiliki tanda Pariser, A, B, g, u, - dan +, berbeda. Konversi internal antara sepasang keadaan elektronik yang memiliki tanda Pariser sama diperbolehkan sedangkan transisi optiknya dilarang. Baru-baru ini Sashima dan kelompoknya [6] melaporkan bahwa terdapat tingkat tenaga dengan karakter $1B_u^-$ di antara tingkat-tingkat tenaga $1B_u^+$ dan $2A_g^-$. Tingkat-tingkat tenaga ini didapati dengan cara mengukur Profil-Eksitasi-Raman-Resonansi (RREPs). Untuk karotenoid dengan 9 ikatan rangkap karbon berturutan, tingkat tenaga singlet adalah: $1B_u^+ > 1B_u^- > 2A_g^- > 1A_g^-$. Dengan demikian diduga bahwa deaktivasi energi eksitasi $1B_u^+$ terjadi melalui konversi internal $1B_u^+ \rightarrow 1B_u^- \rightarrow 2A_g^- \rightarrow 1A_g^-$.

Pada penelitian ini, spektroskopi serapan ultra cepat pisah waktu digunakan untuk mendeteksi bentuk spektrum serap tingkat-tingkat eksitasi $1B_u^+$, $1B_u^-$ dan $2A_g^-$. Spektroskopi ultra cepat dipilih karena waktu hidup tingkat-tingkat eksitasi energi singlet karotenoid berada pada rentang waktu kurang dari 100 ps. Dengan mengukur spektrum serap keadaan eksitasi pada rentang waktu tersebut, diperoleh kurva kinetik dan waktu hidup masing-masing keadaan eksitasi yang dimaksud. Tujuan utama penelitian ini adalah membangun gambaran menyeluruh dan rinci tentang skema tingkat-tingkat tenaga singlet karotenoid dan dinamika eksitasinya.

*E-MAIL: ferdy_sr@yahoo.com

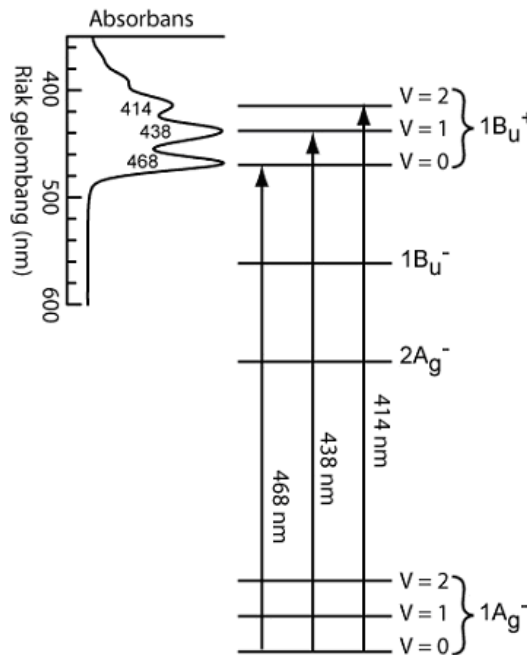
II. EKSPERIMENTAL

All-trans neurosporene diekstrak dari bakteri fotosintesis Rhodobacter sphaeroides G1C dengan cara seperti yang dijelaskan oleh Fujii dan kelompoknya [7]. Ekstrak tersebut kemudian dilarutkan pada pelarut n-hexane dengan konsentrasi 4×10^{-5} M dan disirkulasikan melalui campuran air-es dan sel sampel yang memiliki ketebalan setara dengan panjang lintasan optis 1 mm. Sampel kemudian dieksitasikan dengan laser yang ditala pada riak gelombang 468 nm.

Spektrum serap pisah waktu dengan resolusi mencapai sub-pikodetik direkam dengan cara sebagai berikut: Sebuah penguat regeneratif (Spitfire, Spectra Physics) yang menghasilkan laser pulsa 120 fs (800 nm, 1 Khz, 1 mJ pulsa-ke-pulsa) dipecah menjadi dua berkas. Berkas pertama dengan dengan daya yang relatif besar digunakan untuk penguat parametrik optis (OPA-800, Spectra Physics) untuk menghasilkan pulsa laser pemompa dengan riak gelombang 468 nm. Berkas ini diatur sehingga tenaganya mencapai ~ 0.4 mJ atau bersesuaian dengan kerapatan foton pada sel sampel sebesar $\sim 1,2 \times 10^{14}$ foton cm^{-2} . Berkas kedua dengan daya yang relatif rendah difokuskan pada lempeng safir setebal 5 mm untuk menghasilkan cahaya putih supermalar. Berkas cahaya putih supermalar ini selanjutnya digunakan sebagai berkas ukur. Korelasi silang antara berkas pompa dan berkas ukur pulsa-pulsa tersebut didapat sebesar 130 fs yang diukur dengan teknik resonansi signal Kerr [8]. Data spectrum direkam dengan teknik pump-probe yaitu pulsa pemompa ditembakkan ke sampel kemudian spektrum serap diukur menggunakan pulsa cahaya putih supermalar pada kisaran riak gelombang 400 - 650 nm. Waktu tunda antara pulsa pemompa dan pulsa pengukur diubah mulai dari -0.5 pikodetik sampai 50 pikodetik dengan interval 33 femtodetik. Spektrum yang diperoleh selalu disubtraksikan dengan spektrum serap keadaan dasar karotenoid yang diukur pada waktu yang bersamaan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bentuk serapan karotenoid neurosporene pada keadaan dasar ditunjukkan pada Gambar 1. Serapan keadaan dasar ini memiliki struktur vibrasi keadaan $1B_u^+$ dengan puncak-puncak terletak pada riak gelombang 468 nm yang bersesuaian dengan transisi $1B_u^+ (v = 0) \leftarrow 1A_g^- (v = 0)$, 438 nm yang bersesuaian dengan transisi $1B_u^+ (v = 1) \leftarrow 1A_g^- (v = 0)$, 414 nm yang bersesuaian dengan transisi $1B_u^+ (v = 2) \leftarrow 1A_g^- (v = 0)$ dan seterusnya. Pada percobaan ini karotenoid dipompa dengan laser pada riak gelombang 468 nm untuk eksitasi $1B_u^+ (v = 0) \leftarrow 1A_g^- (v = 0)$. Spektrum serap direkam pada kisaran riak gelombang 400-650 nm dengan waktu tunda (-0.5) - 50 pikodetik. Ketika karotenoid dipompa dari keadaan dasar ke keadaan eksitasi $1B_u^+$, populasi pada keadaan dasar berkurang secara drastis. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya spektrum negatif pada kisaran riak gelombang 400-480 nm. Serapan negatif ini secara perlahan-lahan pulih seiring dengan kembalinya molekul pada keadaan dasar. Hampir bersamaan dengan serapan negatif tadi, muncul serapan positif yang menandakan bahwa serapan transien dari keadaan-

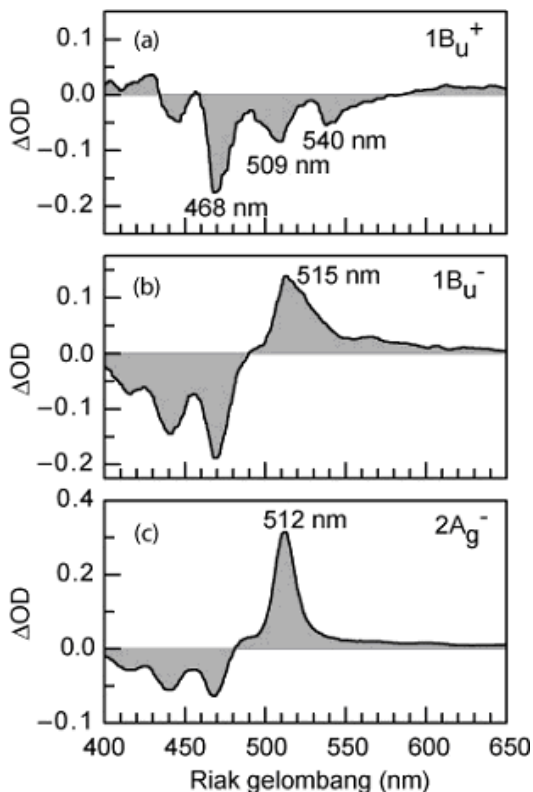


Gambar 1: Tingkat-tingkat tenaga singlet karotenoid neurosporene. Tingkat-tingkat vibrasi ditunjukkan untuk keadaan dasar $1A_g^-$ dan keadaan eksitasi $1B_u^+$. Spektrum serap transisi $1B_u^+ \leftarrow 1A_g^-$ beserta struktur vibrasi elektronik ditampilkan. Garis panah vertikal menunjukkan transisi yang terlibat.

keadaan eksitasi mulai terjadi. Serapan positif ini memiliki puncak yang paling tinggi pada riak gelombang 512 nm. Ketinggian puncak tersebut kemudian turun secara eksponensial. Serapan positif dari tingkat-tingkat transien nampak selalu disertai dengan serapan negatif pada keadaan dasar.

Gambar 2 menunjukkan tiga spektrum khas yaitu pada waktu tunda 0,00, 0,50 dan 7,0 pikodetik. Sesaat setelah molekul dipompa dari keadaan dasar ke keadaan eksitasi, puncak serapan negatif muncul pada riak gelombang 468, 509 dan 540 nm (Gambar 2a). Puncak negative pada riak gelombang 468 nm bersesuaian dengan transisi $1B_u^+ (v = 0) \rightarrow 1A_g^- (v = 0)$. Serapan negatif pada riak gelombang 509 dan 540 nm tidak dapat dikorelasikan dengan transisi dari tingkat vibrasi pada $1B_u^+ (v = 1, v = 2)$ ke keadaan dasar $1A_g^- (v = 0)$ karena transisi ini membutuhkan energi yang relatif besar sehingga puncak-puncaknya harus terletak di sebelah kiri dari puncak serapan transisi $1B_u^+ (v = 0) \rightarrow 1A_g^- (v = 0)$. Dengan demikian puncak-puncak tajam pada riak gelombang 509 dan 540 nm yang muncul sesaat setelah eksitasi diperkirakan terjadi akibat emisi rangsangan yang disebabkan oleh cahaya putih supermalar. Emisi rangsangan ini berhubungan dengan transisi $1B_u^+ (v = 0) \rightarrow 1A_g^- (v = 1)$ untuk riak gelombang 509 nm dan $1B_u^+ (v = 0) \rightarrow 1A_g^- (v = 2)$ untuk riak gelombang 540 nm.

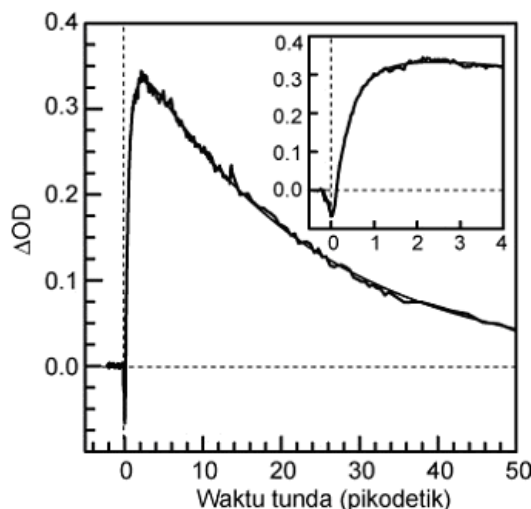
Gambar 2b menunjukkan spektrum khas pada waktu tunda 0.50 pikodetik. Terdapat serapan negatif pada riak gelombang kurang dari 480 nm. Serapan negatif ini bersesuaian dengan bleaching keadaan dasar. Pada rentang riak gelombang lebih besar dari 480 nm terdapat serapan positif dengan pun-



Gambar 2: Spektrum serap khas yang diambil pada waktu tunda (a) 0,00 pikodetik yang bersesuaian dengan tingkat $1B_u^+$, (b) 0,50 pikodetik yang bersesuaian dengan tingkat $1B_u^-$ dan (c) 0,70 pikodetik yang bersesuaian dengan tingkat $2A_g^-$.

cak terletak pada riak gelombang 515 nm. Puncak ini melebar dengan adanya punggung di sebelah kanan. Dari skema tingkat-tingkat tenaga dan urutan kemunculan proses konversi internal, spektrum ini tidak lain adalah serapan khas keadaan $1B_u^-$. Gambar 2c menunjukkan spektrum khas yang lain yang berbeda dengan dua spektrum sebelumnya. Spektrum negatif muncul akibat bleaching keadaan dasar yang selalu menyertai spektrum serap positif, sedangkan spektrum serap dengan puncak terletak pada riak gelombang 512 nm tidak lain adalah spektrum serap dari keadaan $2A_g^-$. Dengan demikian proses deaktivasi keadaan eksitasi $1B_u^+$ terjadi melalui proses internal konversi 3 langkah yaitu $1B_u^+ \rightarrow 1B_u^- \rightarrow 2A_g^- \rightarrow 1A_g^-$. Radiasi rangsangan juga didapatkan muncul dari keadaan aktif optis $1B_u^+$ menuju ke keadaan dasar $1A_g^-$.

Gambar 3 menunjukkan kurva kinetik yang diplot pada riak gelombang 512 nm. Meskipun riak gelombang ini bersesuaian dengan puncak serapan $2A_g^-$, namun demikian serapan tingkat-tingkat $1B_u^+$ dan $2A_g^-$ juga masih dicakup pada daerah riak gelombang ini (lihat Gambar 2). Kurva kinetik tersebut kemudian difit dengan multi eksponen menggunakan fungsi respons instrumen Gauss selebar 65 femtodetik (setengah lebar pada setengah maksimum, hwhm). Jumlah eksponensial yang cocok untuk kurva tersebut didapatkan sebanyak 3 dengan konstanta waktu peluruhan yang muncul secara berurutan masing-masing sebagai berikut: 0,18 pikodetik, 0,52 pikode-



Gambar 3: Kurva kinetik yang diplot pada riak gelombang 512 nm. Kurva fit yang dioptimasi dengan 3 eksponensial ditunjukkan dengan garis mulus. Inset menunjukkan kurva kinetik pada 4 pikodetik pertama.

tik dan 23 pikodetik. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konstanta waktu peluruhan 0,18 pikodetik berhubungan dengan waktu hidup untuk tingkat tenaga $1B_u^+$, 0,52 pikodetik untuk tingkat tenaga $1B_u^-$ dan 23 pikodetik untuk tingkat tenaga $2A_g^-$.

IV. SIMPULAN

Pada karotenoid neurosporene dengan 9 ikatan rangkap karbon berturut-turut didapatkan memiliki struktur tenaga singlet dengan urutan $1B_u^+ > 1B_u^- > 2A_g^- > 1A_g^-$. Hal ini terlihat dari munculnya tiga macam spektrum serap transien dan tiga nilai konstanta waktu peluruhan yang berbeda. Molekul yang dieksitasikan pada tingkat $1B_u^+$ kembali ke keadaan dasar $1A_g^-$ melalui proses konversi internal dengan konstanta waktu peluruhan masing-masing 0,18 pikodetik untuk $1B_u^+$, 0,52 pikodetik untuk $1B_u^-$ dan 23 pikodetik untuk $2A_g^-$. Hasil ini cocok dengan dugaan bahwa terdapat paling tidak dua keadaan singlet di antara keadaan dasar dan keadaan eksitasi $1B_u^+$ seperti yang diprediksi secara teoritis oleh Tavan dan Schulten melalui metode perhitungan Pariser-Parr-Pople (*Multi-Reference-Double-excitation Configuration-Interaction* (PPP-MRD-CI)).

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini sebagian dilakukan di School of Science, Kwansei Gakuin University, Japan. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Yasushi Koyama atas kesempatan yang diberikan untuk menggunakan fasilitas riset serta diskusi-diskusi yang menarik.

-
- [1] Koepke J., Hu X., Muenke C., Schulten K., Michel H., *Structure* **4**, 581-597, (1996).
- [2] Rondonuwu F. S., Watanabe Y., Fujii R., Koyama Y., *Chem. Phys. Lett.*, **376**, 292-301, (2003).
- [3] Pariser R., *J. Chem. Phys.*, **24**, 250-268, (1956).
- [4] Calis P. R., *J. Chem. Phys.*, **78**, 16-22, (1983).
- [5] Tavan P., Schulten K., *Phys. Rev. B*, **36**, 4337-4358, (1987).
- [6] Sashima T., Nagae H., Kuki M., Koyama Y., *Chem. Phys. Lett.*, **299**, 187-194, (1999).
- [7] Fujii R., Onaka K., Kuki M., Koyama Y., Watanabe Y., *Chem. Phys. Lett.*, **288**, 847-853, (1998).
- [8] Yamaguchi S., Hamaguchi H., *J. Chem. Phys.*, **109**, 1397-1408, (1998).