

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Astaxanthin dari Limbah Kulit dan Kepala Udang Dogol (*Metapenaeus ensis*)

Winda Rahmalia^{1*}, Adhitiyawarman¹, Dwi Imam Prayitno²,
Yosef Novem Batistuta Lubis¹

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura

²Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Nawawi, Pontianak, 78124 Indonesia
Email: winda.rahmalia@chemistry.untan.ac.id

Abstract

Antioxidant Activity of Astaxanthin Extract from Greasyback Shrimp (*Metapenaeus ensis*) Shell and Head Wastes

Astaxanthin is a carotenoid derivative compound with various benefits, one of which is as an antioxidant, making astaxanthin applicable in drugs and cosmetics. Astaxanthin is discoverable in various sources, with shrimp as its main source. This study aims to determine the antioxidant activity of astaxanthin extracted from shrimp shell and head wastes. Extraction was carried out using the soxhletation method, followed by saponification to obtain free astaxanthin. Astaxanthin in extract before and after saponification were identified using thin-layer chromatography (TLC) and UV-Vis spectrophotometry. Antioxidant activity assay was carried out in five variations of sample concentrations using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. Extraction of shrimp shell and head wastes resulted in an oil yield percentage of 1.02 and 3.05 % of dry mass in 60 g of shrimp shells, respectively. Identification results showed astaxanthin content in extracts after saponification were higher than that before saponification. There are three thin layer chromatography (TLC) separation spots and two UV-Vis absorption peaks in extracts before and after saponification. Antioxidant activity assay results (IC_{50}) of shrimp shell extract before and after saponification showed antioxidant activity of 572.0 and 186.6 mg/L, respectively.

Keywords: shrimp, astaxanthin, saponification, antioxidant, waste

Abstrak

Astaxanthin merupakan senyawa turunan karotenoid dengan beragam manfaat, salah satunya sebagai antioksidan, sehingga membuat astaxanthin dapat diaplikasikan dalam obat-obatan dan kosmetik. Astaxanthin dapat ditemukan dalam berbagai sumber, dengan sumber utama adalah udang. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan astaxanthin yang diekstraksi dari limbah kulit dan kepala udang. Ekstraksi dilakukan dengan metode soxhletasi, dilanjutkan dengan saponifikasi untuk mendapatkan astaxanthin bebas. Hasil ekstraksi dan saponifikasi diidentifikasi astaxanthinnya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan spektrofotometri UV-Vis. Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada lima variasi konsentrasi sampel menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Ekstraksi limbah kulit dan kepala udang menghasilkan rendemen masing-masing sebesar 3,05 dan 1,02% massa kering dari 60 g kulit udang. Hasil identifikasi menunjukkan kadar astaxanthin dari ekstrak setelah saponifikasi lebih tinggi daripada sebelum saponifikasi. Terdapat tiga spot pemisahan kromatografi lapis tipis (KLT) serta dua puncak serapan UV-Vis pada ekstrak sebelum dan setelah saponifikasi. Hasil uji aktivitas antioksidan (IC_{50}) kulit udang sebelum dan setelah saponifikasi masing-masing adalah 572,000 dan 186,583 mg/L.

Kata kunci: astaxanthin, antioksidan, dogol, limbah udang, saponifikasi

PENDAHULUAN

Astaxanthin (3,3'-dihydroxy- β,β -carotene-4,4'-dione) merupakan senyawa turunan karotenoid xantofil dan memiliki beberapa isomer seperti *trans*-astaxanthin, 9-*cis* astaxanthin, dan 13-*cis* astaxanthin (Su *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2020). Astaxanthin memiliki beragam manfaat yang telah ditunjukkan oleh banyak penelitian (Ambati *et al.*, 2014). Astaxanthin mampu meningkatkan ekspresi gen apoptosis, sehingga memiliki potensi dalam pencegahan dan pengobatan kanker (Hormozi *et al.*, 2019). Manfaat lain dari astaxanthin yaitu sebagai *antiaging*, dimana astaxanthin menekan pembentukan kerutan di wajah dan mempertahankan penghalang epidermal pada kulit, sehingga dapat digunakan sebagai bahan dalam produk kecantikan (Cheng *et al.*, 2019; Sztretye *et al.*, 2019).

Keunggulan lain dari astaxanthin adalah memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena struktur kimianya yang mengandung ikatan rangkap konjugasi pada pusat serta gugus hidroksil dan karbonil pada tiap cincin iononnya (Ambati *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2021). Isomer geometri astaxanthin memainkan peranan penting dalam aktivitas antioksidannya (Brotosudarmo *et al.*, 2020).

Astaxanthin dapat ditemukan dalam alga, ragi, salmon, ikan trout, serta udang (Ambati, *et al.*, 2014). Udang merupakan hewan laut kaya akan astaxanthin kedua yang paling banyak dikonsumsi di dunia, dengan persentase penjualan secara internasional mencapai 16% dari total keseluruhan penjualan hewan laut (FAO, 2017). Udang sendiri merupakan salah satu komoditas perikanan yang ekonomis dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Kalimantan Barat (Hedianto *et al.*, 2015; Purnamaningtyas & Hedianto, 2015). Udang dogol (*Metapenaeus ensis*) merupakan salah satu udang yang paling dominan tertangkap di perairan Kalimantan Barat. Di Sungai Kakap, Kabupaten Kubu Raya, pada musim-musim tertentu, udang dogol dapat tertangkap lebih dari 100 kg per hari (Yerika *et al.*, 2023). Budidaya udang dogol secara luas juga telah dilakukan di beberapa negara.

Meningkatnya konsumsi udang diiringi pula dengan meningkatnya limbah kulit dan kepala udang. Terlebih di Indonesia, udang diekspor dalam keadaan beku yang juga telah terlebih dahulu dibuang kepala dan kulitnya. Jika tidak diatasi, limbah kulit dan kepala udang yang dibuang ke lingkungan akan menimbulkan masalah baru seperti bau busuk dan menjadi sumber penyakit. Padahal, limbah udang merupakan sumber alami esensial dari astaxanthin (Sachindra & Mahendrakar, 2010), hal ini dibuktikan dalam sebuah penelitian mengenai kandungan astaxanthin dalam empat jenis udang yaitu *Penaeus monodon*, *Fenneropenaeus chinensis*, *Litopenaeus vannamei*, dan *Exopalaemon carinicauda* yang memperoleh kadar astaxanthin pada bagian kulit sebesar 75,13 – 91,99% dari total keseluruhan karotenoid yang terdapat dalam udang (Sachindra & Mahendrakar, 2010; Su *et al.*, 2018). Dalam penelitian lain, Qu *et al.* (2015) melaporkan bahwa udang dogol juga mengandung karotenoid astaxanthin, namun belum dilaporkan kandungannya secara kuantitatif.

Oleh karena alasan-alasan tersebut, dalam penelitian ini telah dilakukan ekstraksi dan uji aktivitas antioksidan astaxanthin dari limbah kulit dan kepala udang dogol. Astaxanthin diekstraksi dilanjutkan dengan proses saponifikasi, bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh saponifikasi pada aktivitas antioksidan astaxanthin. Saponifikasi adalah proses pemutusan rantai asam lemak pada astaxanthin dengan penambahan alkali sehingga diperoleh astaxanthin bebas (Song *et al.*, 2020; Montoya *et al.*, 2021). Kandungan astaxanthin dalam ekstrak juga ditentukan secara kuantitatif. Uji antioksidan astaxanthin baik sebelum dan setelah saponifikasi dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Metode ini merupakan metode yang telah banyak digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan karena sederhana dan cepat (Chintong *et al.*, 2019). Parameter yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah IC₅₀ (*Inhibition Concentration 50%*), yang merupakan konsentrasi efisien antioksidan yang dibutuhkan untuk mereduksi konsentrasi awal DPPH sebesar 50% (Munteanu & Apetrei, 2021).

MATERI DAN METODE

Ekstraksi limbah udang dilakukan dengan merujuk pada metode Rahmalia *et al.* (2022). Sebanyak 60 g limbah kulit udang yang dikeringkan dengan *vacuum drying*, dihaluskan, dan dimasukkan ke dalam soxhlet. Pelarut *n*-heksana dimasukkan ke dalam labu leher dua yang dirakit dengan soxhlet dan kondensor. Proses ekstraksi dilakukan hingga pelarut tidak berwarna. Campuran ekstrak dan pelarut dipisahkan dengan metode destilasi pada 65°C. Ekstrak yang dihasilkan dihitung rendemennya dengan Persamaan 1.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Massa ekstrak yang diekstraksi}}{\text{Massa udang kering}} \times 100 \quad (1)$$

Kandungan astaxanthin dalam ekstrak yang diperoleh kemudian ditentukan dengan spektrofotometri UV-Vis, mengacu pada metode Goula *et al.* (2017) dan Corbu *et al.* (2020) yang dimodifikasi. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-700 nm. Larutan astaxanthin standar dengan konsentrasi 0,6; 1,2; 1,8; 2,4; dan 3 mg/L disiapkan dengan melarutkan astaxanthin standar dalam aseton, kemudian diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang maksimum astaxanthin untuk memperoleh kurva standar astaxanthin. Pembacaan konsentrasi astaxanthin menggunakan absorbansi maksimum larutan standar, dan konsentrasi astaxanthin dalam ekstrak dihitung dengan kurva standar astaxanthin.

Astaxanthin dalam ekstrak dipisahkan dari asam lemak dengan saponifikasi. Saponifikasi ekstrak dilakukan menggunakan metode Hu *et al.* (2019) dan Montoya *et al.* (2021) yang dimodifikasi. Larutan KOH dalam etanol dengan konsentrasi 10% diteteskan dalam ekstrak sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Proses saponifikasi dilakukan selama 1 jam atau hingga terbentuk campuran yang homogen. Asam klorida yang diencerkan ditambahkan ke dalam campuran dan disesuaikan hingga pH bernilai 7. Campuran ekstrak dan KOH-etanol kemudian disentrifugasi selama 30 menit. Filtrat diambil, dikeringkan, dan dianalisis menggunakan KLT dan spektrofotometer UV-Vis.

Pengukuran aktivitas inhibisi radikal DPPH mengacu pada metode Dose *et al.* (2016) dan Chintong *et al.* (2019) yang dimodifikasi. Larutan sampel berupa ekstrak kulit udang (sebelum dan sesudah saponifikasi) dalam etil asetat dibuat dengan konsentrasi sebesar 100 mg/L kemudian diencerkan dalam lima variasi konsentrasi (10, 20, 30, 40, dan 50 mg/L) dan dimasukkan sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi berbeda. Sebanyak 2 mL larutan DPPH 40 mg/L ditambahkan ke dalam masing-masing variasi konsentrasi. Campuran sampel dan DPPH diaduk, disimpan di dalam tempat gelap dengan suhu ruang selama 30 menit, kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Pengukuran dilakukan secara triplo pada masing-masing variasi konsentrasi. Persentase aktivitas antioksidan menggunakan metode perendaman oleh radikal DPPH dilakukan dengan menghitung persen inhibisi DPPH, yang dihitung menggunakan Persamaan 2 (Chintong *et al.*, 2019).

$$\% \text{inhibisi DPPH} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (2)$$

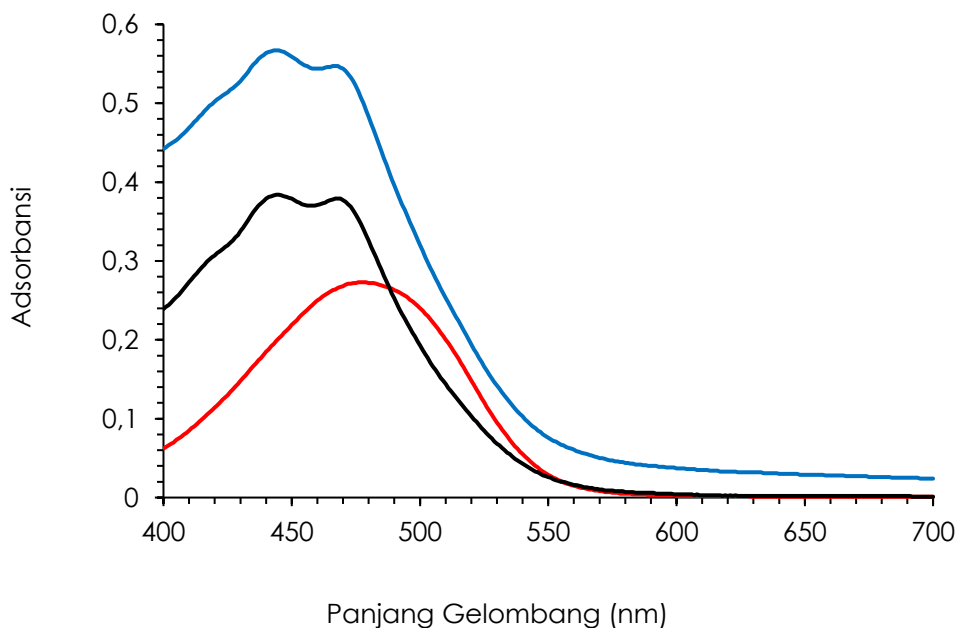
A_{kontrol} dan A_{sampel} masing-masing merupakan absorbansi larutan DPPH dalam etil asetat dan larutan astaxanthin dalam DPPH. Persen inhibisi dan konsentrasi astaxanthin dalam DPPH kemudian diplotkan dalam persamaan linier $y = ax + b$ yang digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} , dimana y (bernilai 50) merupakan penghambatan sebesar 50% dan x merupakan nilai IC_{50} (Munteanu & Apetrei, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi menggunakan metode sokletasi dengan pelarut n-heksana dalam penelitian ini menghasilkan ekstrak kasar kulit dan kepala udang berupa minyak berwarna merah pekat, mengindikasikan kandungan karotenoid astaxanthin. Warna merah tersebut disebabkan karena adanya 13 ikatan rangkap terkonjugasi pada astaxanthin yang berperan sebagai kromofor penangkap cahaya. Astaxanthin terikat sebagai ester dengan asam lemak dalam minyak udang (Nishida *et al.*, 2023). Rendemen ekstraksi terhadap kulit dan kepala udang yang dihasilkan dalam penelitian ini masing-masing adalah 1,02 dan 3,05%. Penelitian Scurria *et al.* (2020) yang telah mengekstraksi minyak dari limbah kulit dan kepala udang *Parapenaeus longirostris* menggunakan pelarut limonena menghasilkan rendemen masing-masing 5,00 dan 1,12%. Perbedaan hasil dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya jenis udang, metode ekstraksi maupun pelarut yang digunakan (Parjikolaei *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2021). Habitat dan metabolisme yang berbeda pada udang juga dapat mempengaruhi rendemen ekstrak yang diperoleh (Sundalian *et al.*, 2021; Trianjari *et al.*, 2022).

Ekstrak yang diperoleh diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan spektrofotometri UV-Vis. Analisis KLT dilakukan untuk mengetahui jumlah komponen yang terdapat pada ekstrak kulit dan kepala udang. Adapun eluen yang digunakan pada penelitian ini adalah n-heksana:aseton dengan perbandingan 4:1. Hasil KLT menunjukkan adanya 3 spot atau noda pemisahan sampel ekstrak kulit dan kepala udang. Setiap noda tersebut dihitung nilai *Retardation Factor* (Rf) dari perbandingan jarak yang ditempuh oleh noda dan jarak yang ditempuh oleh eluen. Nilai Rf yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan nilai Rf astaxanthin standar (*trans*-astaxanthin), terdapat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa pada ekstrak kulit udang terdapat kandungan astaxanthin, yang ditunjukkan pada nilai noda kedua dari ekstrak kulit dan kepala udang hampir sama dengan nilai Rf astaxanthin standar. Sedikit perbedaan nilai Rf disebabkan karena astaxanthin dalam minyak sebelum saponifikasi berada dalam bentuk ester. Dua noda lainnya berasal dari isomer astaxanthin.

Identifikasi dan penentuan kadar astaxanthin dalam ekstrak udang dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis menggunakan pelarut aseton. Spektra UV-Vis dari ekstrak kulit dan kepala udang serta astaxanthin standar dapat dilihat pada Gambar 1. Gambar 1 menunjukkan bahwa astaxanthin standar memiliki 1 puncak pada 478 nm, ekstrak kepala udang memiliki 2 puncak pada 445 dan 468 nm, dan ekstrak kulit udang memiliki 2 puncak pada 444 dan 467 nm. Terjadi pergeseran hipsokromik pada ekstrak kepala dan kulit udang, yaitu dari 478 ke 468 dan 467 nm. Hal ini dapat disebabkan karena astaxanthin masih terikat dengan asam lemak dalam minyak, serta kemungkinan adanya isomer lain astaxanthin yang terdapat pada ekstrak udang. Astaxanthin standar yang digunakan pada penelitian ini adalah *trans*-astaxanthin. Ekstrak udang yang diperoleh pada penelitian Gómez-Estaca *et al.* (2017) mengandung *cis*-astaxanthin di samping *trans*-astaxanthin, dimana isomer *cis*-astaxanthin memiliki panjang gelombang maksimum yang berbeda dengan *trans*-astaxanthin, yaitu pada 468 – 469 nm. Adapun puncak yang muncul pada panjang gelombang 444 nm pada ekstrak kulit udang dan 445 nm pada ekstrak kepala udang kemungkinan disebabkan oleh karotenoid lain yang terdapat pada ekstrak udang, seperti β -karoten, cantaxanthin, lutein, dan zeaxanthin, yang memiliki panjang gelombang maksimum pada 445 – 450 nm (Gulzar *et al.*, 2020).



Gambar 1. Spektra UV-Vis Astaxanthin Standar (—), Ekstrak Kepala Udang (—), dan Ekstrak Kulit Udang (—) sebelum Saponifikasi

Tabel 1. Nilai Rf pada Astaxanthin Standar dan Ekstrak Kulit dan Kepala Udang Sebelum Saponifikasi

Noda ke-	Rf Sampel		
	Ekstrak kulit udang	Ekstrak kepala udang	Astaxanthin standar
1	0,100	0,133	-
2	0,183	0,185	0,217
3	0,383	0,433	-

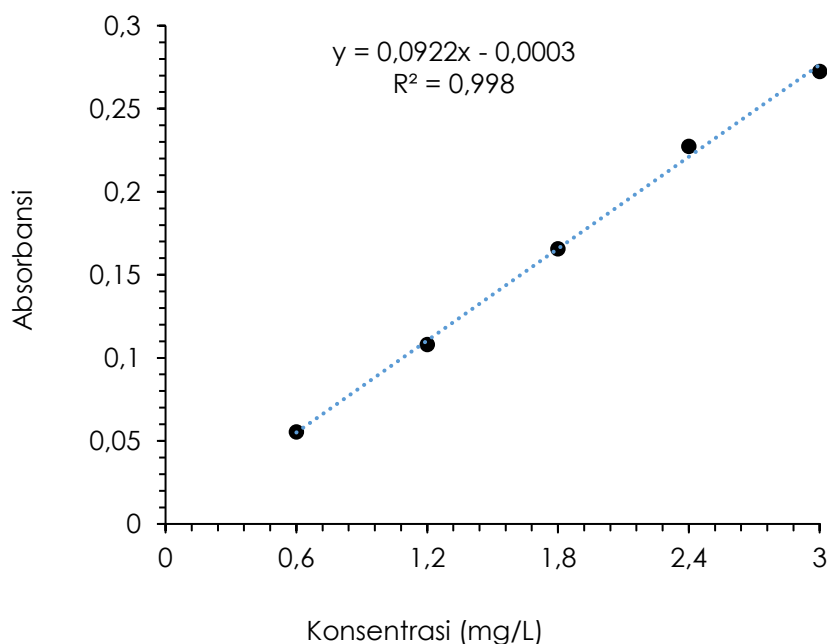
Penentuan kadar astaxanthin dalam ekstrak udang dilakukan dengan terlebih dahulu menentukan panjang gelombang maksimum astaxanthin standar pada rentang 400 – 700 nm. Adapun panjang gelombang maksimum astaxanthin standar dalam aseton yaitu 478 nm. Mauludia *et al.* (2021) dan Virchenko & Stefánsson (2023) juga melaporkan panjang gelombang yang sama untuk *trans*-astaxanthin dalam aseton, masing-masing 477 dan 478 nm. Panjang gelombang ini kemudian digunakan untuk mengukur absorbansi astaxanthin standar pada variasi konsentrasi, untuk memperoleh kurva standar astaxanthin. Kurva standar astaxanthin dapat dilihat pada Gambar 2. Kurva kalibrasi menghasilkan persamaan linear $y = 0,0922x + 0,0003$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,998. Persamaan yang diperoleh digunakan untuk menghitung kadar astaxanthin dalam ekstrak kulit dan kepala udang, dimana y merupakan kadar astaxanthin dan x merupakan absorbansi ekstrak kulit dan kepala udang yang diukur pada 478 nm.

Kadar astaxanthin dalam ekstrak kulit udang sebesar 9,02 mg/g, dan dalam ekstrak kepala udang sebesar 4,02 mg/g. Hasil ini lebih tinggi dari penelitian Scurreia *et al.* (2020) yang melaporkan bahwa kandungan astaxanthin dalam ekstrak limbah udang yang diekstraksi menggunakan limonena adalah 72,42 $\mu\text{g/g}$ atau 0,072 mg/g. Penelitian Aneesh *et al.* (2023) yang menggunakan pelarut superkritikal CO_2 termodifikasi etanol yaitu sebesar 0,030 mg/g, dan ekstrak udang pada penelitian Roy *et al.* (2020) yang menggunakan metode CO_2 superkritik dengan pelarut n-heksan yaitu sebesar 48,2 $\mu\text{g/g}$ atau 0,048 mg/g. Dave *et al.* (2020) melakukan ekstraksi astaxanthin dengan metode vortex dan sonikasi menggunakan aseton menghasilkan ekstrak dengan kadar astaxanthin sebesar 0,178 mg/g. Dalam kasus ini, jenis pelarut dan metode ekstraksi sangat mempengaruhi kadar astaxanthin dalam ekstrak.

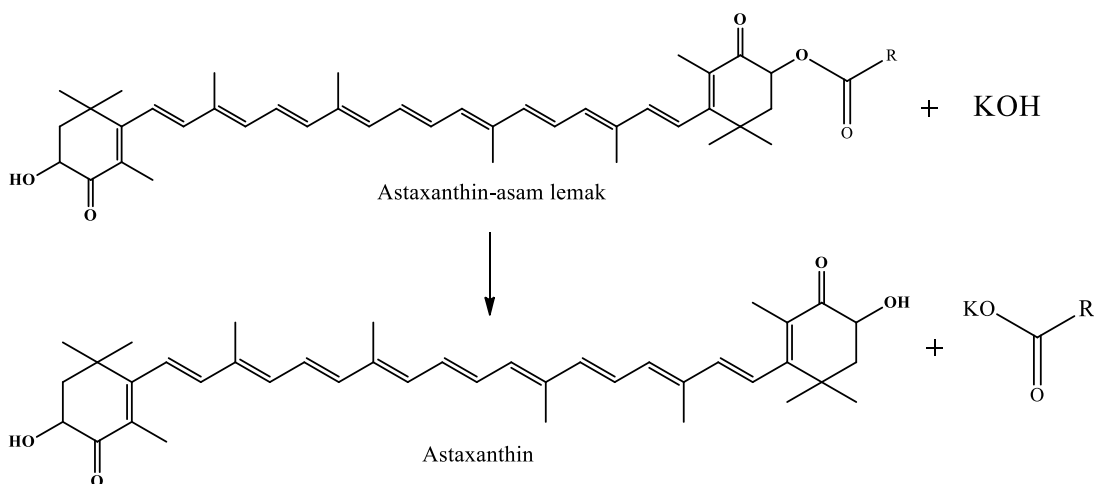
Saponifikasi merupakan pemecahan ester menjadi gliserol dan garam karboksilat dengan penambahan alkali. Saponifikasi pada penelitian ini menggunakan larutan KOH-etanol, yang berperan sebagai alkali dalam deesterifikasi astaxanthin (Song *et al.*, 2020; Montoya *et al.*, 2021). Mekanisme saponifikasi astaxanthin-ester disajikan pada Gambar 3. Saponifikasi dilakukan secara terpisah pada ekstrak kepala dan kulit udang. Ekstrak yang diperoleh diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan spektrofotometri UV-Vis. Hasil KLT menunjukkan adanya noda yang sama pada astaxanthin standar dan ekstrak, namun baik pada ekstrak kepala dan kulit udang masih terdapat dua noda lainnya yang berada di atas dan di bawah astaxanthin standar. Setelah saponifikasi, noda kedua semakin mendekati kesamaan dengan nilai Rf astaxanthin standar, mengindikasikan saponifikasi untuk memecahkan astaxanthin-ester menjadi astaxanthin bebas telah berhasil. Dua noda yang lain juga mengalami sedikit pergeseran karena perubahan struktur geometrisnya. Song *et al.* (2020) melaporkan bahwa setelah saponifikasi, minyak udang mengandung 3 isomer astaxanthin yang dominan yaitu *all-trans*, *9-cis*, dan *13-cis* isomer dari astaxanthin bebas.

Hasil analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan tidak adanya perubahan bentuk spektra maupun pergeseran panjang gelombang yang signifikan antara ekstrak sebelum dan setelah saponifikasi (Gambar 4). Hal ini terjadi karena antara astaxanthin ester dan astaxanthin bebas tidak memiliki perdaan kromofor. Berdasarkan pengukuran, diperoleh kadar astaxanthin dalam ekstrak kulit dan kepala udang setelah saponifikasi masing-masing sebesar 12,06 dan 9,20

mg/g dari massa ekstrak. Ekstrak setelah saponifikasi memiliki kadar astaxanthin jauh lebih tinggi dibandingkan dengan sebelum saponifikasi, hal ini dapat disebabkan oleh ester astaxanthin yang mengalami proses pemisahan dari asam lemak sehingga diperoleh astaxanthin bebas dan meningkatkan kadar astaxanthin hasil perhitungan (Montoya *et al.*, 2021). Kadar astaxanthin yang diperoleh pada ekstrak hasil saponifikasi lebih besar dari hasil penelitian Hu, *et al.* (2019) yaitu sebesar 43,7 µg/g dan Montoya *et al.* (2021) yaitu sebesar 26,7 µg/g. Perbedaan kadar astaxanthin ini juga dipengaruhi oleh perbedaan pelarut, metode ekstraksi yang digunakan sebelum saponifikasi, serta teknik saponifikasi. Hu *et al.* (2019) menggunakan metode ultrasonikasi dan sentrifugasi dengan pelarut etanol serta melakukan saponifikasi pada suhu 4°C, dan Montoya *et al.* (2021) menggunakan metode ultrasonikasi dengan pelarut aseton serta menggunakan KOH-etanol 4% dalam sampel yang diencerkan kembali dalam aseton.



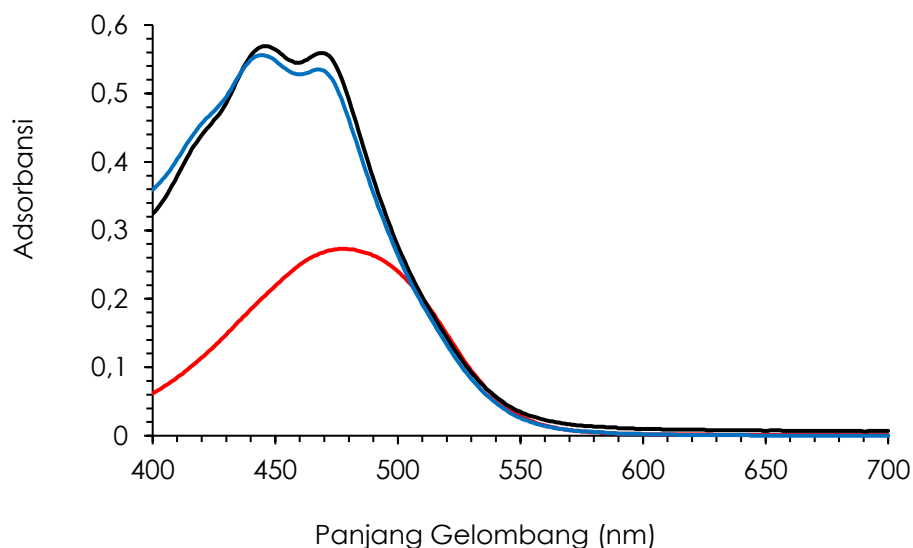
Gambar 2. Kurva Standar Astaxanthin



Gambar 3. Reaksi Saponifikasi Astaxanthin

Tabel 2. Nilai Rf pada Astaxanthin Standar dan Ekstrak Kulit dan Kepala Udang Setelah Saponifikasi

Noda ke-	Rf Sampel		
	Ekstrak kulit udang	Ekstrak kepala udang	Astaxanthin standar
1	0,100	0,133	-
2	0,200	0,200	0,217
3	0,400	0,433	-



Gambar 4. Spektrum Serapan Astaxanthin Standar (—), Ekstrak Kepala Udang (—), dan Ekstrak Kulit Udang (—) setelah Saponifikasi

Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan menentukan panjang gelombang maksimum larutan DPPH, yang mana panjang gelombang maksimum yang diperoleh akan digunakan pada tahap selanjutnya yaitu pengukuran sampel. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH terdapat pada Gambar 5. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut, diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 516 nm. Hasil ini sesuai dengan Sirivibulkovit *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa panjang gelombang maksimum DPPH berada pada rentang 515-520 nm. Panjang gelombang ini kemudian digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan pada sampel.

Aktivitas antioksidan sampel pada metode DPPH dinyatakan dalam bentuk persen inhibisi dan IC₅₀. Astaxanthin merupakan salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini dikarenakan astaxanthin memiliki gugus hidroksil (OH) pada cincin iononnya yang dapat menjadi donor elektron untuk bereaksi dengan radikal bebas dan mengubahnya menjadi produk lebih stabil dan menghentikan pembentukan radikal bebas, sehingga menjadikan astaxanthin memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Zuluaga *et al.*, 2018; Donoso *et al.*, 2021). Tan *et al.* (2021) melaporkan potensi antioksidan pada astaxanthin yang diperoleh dari alga merah dengan nilai IC₅₀ sebesar 15,39 mg/L. Hasil uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini terdapat pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3, dapat dilihat bahwa terdapat peningkatan pada %inhibisi dari konsentrasi 10 mg/L hingga 50 mg/L, yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sampel dapat meningkatkan kemampuan sampel sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Nilai %inhibisi yang diperoleh kemudian digunakan bersama dengan konsentrasi sampel untuk membuat grafik dengan persamaan regresi linier, dimana persamaan regresi linier ini digunakan lebih lanjut untuk mendapatkan nilai IC₅₀ dari tiap sampel uji, dengan hasil yang terdapat pada Tabel 4.

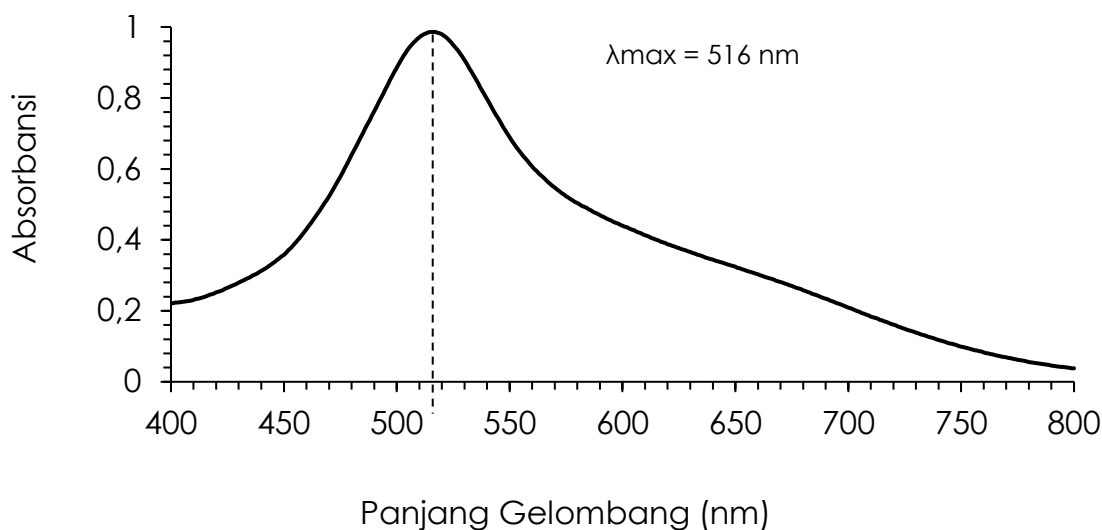
Tabel 3. Nilai % Inhibisi Ekstrak Kulit Udang pada Variasi Konsentrasi

Sampel	% Inhibisi				
	10 mg/L	20 mg/L	30 mg/L	40 mg/L	50 mg/L
Ekstrak kulit udang sebelum saponifikasi	27,34	28,71	29,55	29,92	30,79
Ekstrak kulit udang setelah saponifikasi	25,68	26,33	28,11	28,52	31,59
Ekstrak kepala udang sebelum saponifikasi	28,18	28,36	28,66	29,33	30,08
Ekstrak kepala udang setelah saponifikasi	25,68	26,33	28,11	28,52	31,59

Tabel 4. Nilai IC₅₀ pada Ekstrak Kulit Udang

Sampel	IC ₅₀ (mg/L)
Astaxanthin Standar	36,5 ^a
Ekstrak kulit udang sebelum saponifikasi	572,0
Ekstrak kulit udang setelah saponifikasi	186,6
Ekstrak kepala udang sebelum saponifikasi	470,9
Ekstrak kepala udang setelah saponifikasi	947,9

^a : Dirujuk dari Kamath *et al.* (2008)



Gambar 5. Spektrum Serapan DPPH dalam Etil Asetat

Aktivitas antioksidan yang diperoleh jauh lebih kecil dari aktivitas antioksidan pada standar astaxanthin yang dilaporkan oleh Kamath *et al.* (2008) dengan IC₅₀ sebesar 36,5 mg/L. Rendahnya aktivitas antioksidan yang diperoleh pada penelitian ini disebabkan adanya senyawa lain dalam ekstrak udang yang tidak memiliki aktivitas antioksidan. Ekstrak udang, di samping mengandung karotenoid seperti astaxanthin, juga mengandung asam lemak, fosfolipid, dan kolesterol (Gulzar *et al.*, 2020). Gómez-Estaca *et al.* (2017) melaporkan bahwa minyak udang *Litopenaeus vannamei* mengandung kolesterol sebesar 65 mg/g, dimana kolesterol merupakan penyebab hiperkolesterolemia, pemicu penyakit serangan jantung dan stroke, sehingga keberadaan kolesterol dalam minyak udang mempengaruhi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit

udang setelah saponifikasi lebih kuat dibandingkan dengan sebelum saponifikasi yang ditunjukkan dengan berkurangnya nilai IC_{50} dan menunjukkan efek sinergisme yaitu peningkatan kadar astaxanthin dalam ekstrak setelah dilakukan saponifikasi (Chen *et al.*, 2021).

Namun demikian, ekstrak kepala udang setelah saponifikasi mengalami penurunan aktivitas antioksidan. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada saat saponifikasi kemungkinan terjadi hidrolisis asam lemak menjadi asam lemak bebas (ALB) yang bersifat oksidan. Hidrolisis asam lemak menjadi ALB dipicu karena adanya kandungan air dalam sampel. Dalam penelitian ini, sampel kepala udang setelah pengeringan mengandung air dengan jumlah yang lebih tinggi daripada sampel kulit udang, dimana masing-masing adalah 15,51 dan 1,25%. Pada ekstrak kulit udang dengan kandungan air yang jauh lebih kecil memicu terbentuknya astaxanthin bebas dan sabun asam lemak. Sementara pada ekstrak kepala udang dengan kandungan air yang tinggi, selain membentuk astaxanthin bebas dan sabun asam lemak, juga membentuk ALB. Fenomena ini menjadi alasan menurunnya aktivitas antioksidan dari ekstrak kepala udang setelah saponifikasi.

KESIMPULAN

Limbah kulit dan kepala udang dapat diolah menjadi produk yang lebih bermanfaat karena mengandung astaxanthin yang memiliki aktivitas antioksidan. Proses saponifikasi tanpa kehadiran air dapat meningkatkan kandungan astaxanthin dalam ekstrak diiringi dengan meningkatnya aktivitas antioksidan. Dalam penelitian ini, limbah kulit udang setelah saponifikasi menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada limbah kepala udang dengan perlakuan yang sama. Selanjutnya untuk meningkatkan aktivitas limbah kulit kepala udang, perlu dilakukan pengeringan lebih lama untuk meminimalisir kandungan air sehingga mencegah terjadinya hidrolisis asam lemak menjadi asam lemak bebas. Pemurnian astaxanthin bebas dari ekstrak juga perlu dilakukan pada penelitian selanjutnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai melalui Hibah Penelitian Inovasi Universitas Tanjungpura Tahun Anggaran 2023 Nomor 3919/UN22.10/PT.01.03/2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambati, R.R., Moi, P.S., Ravi, S., & Aswathanarayana, R.G., (2014). Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications - A Review, *Marine Drugs*, 12(1), 128–152. doi: 10.3390/md12010128
- Aneesh, P.A., Anandan, R., Kumar, L.R.G., Ajeeshkumar, K.K., Kumar, K. A., & Mathew, S., (2023). A Step to Shell Biorefinery—Extraction of Astaxanthin-Rich Oil, Protein, Chitin, and Chitosan from Shrimp Processing Waste, *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13, 205-214. doi: 10.1007/s13399-020-01074-5
- Brotosudarmo, T.H.P., Limantara, L., Setiyono, E., & Heriyanto, (2020). Structures of Astaxanthin and Their Consequences for Therapeutic Application, *International Journal of Food Science*, 2020, 1-16. doi: 10.1155/2020/2156582
- Donoso, A., González-Durán, J., Muñoz, A.A., González, P.A., & Agurto-Muñoz, C., (2021). Therapeutic Uses of Natural Astaxanthin: An Evidence-based Review Focused on Human Clinical Trials, *Pharmacological Research*, 166, 1–12. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105479
- Chen, X., Li, H., Zhang, B., & Deng, Z., (2021). The Synergistic and Antagonistic Antioxidant Interactions of Dietary Phytochemical Combinations, *Critical Reviews in Food Science and Hygiene*, 62(20), 5658–5677. doi: 10.1080/10408398.2021.1888693
- Cheng, X.Y., Xiong, Y.J., Yang, M.M., & Zhu, M.J., (2019). Preparation of Astaxanthin Mask from *Phaffia rhodozyma* and Its Evaluation, *Process Biochemistry*, 79, 195–202. doi: 10.1016/j.procbio.2018.12.027
- Chintong, S., Phatvej, W., Rerk-Am, U., Waiprib, Y., & Klaypradit, W., (2019). In Vitro Antioxidant, Antityrosinase, and Cytotoxic Activities of Astaxanthin from Shrimp Waste, *Antioxidants*, 8(5), 1–11. doi: 10.3390/antiox8050128

- Corbu, A.R., Rotaru, A., & Nour, V., (2020). Edible Vegetable Oils Enriched with Carotenoids Extracted from By-Products of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis*): The Investigation of Some Characteristic Properties, Oxidative Stability and The Effect on Thermal Behaviour, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 142(2), 735–747. doi: 10.1007/s10973-019-08875-5
- Dave, D., Liu, Y., Pohling, J., Trenholm, S., & Murphy, W., (2020). Astaxanthin Recovery from Atlantic Shrimp (*Pandalus borealis*) Processing Materials, *Bioresource Technology Reports*, 11, 1–9. doi: 10.1016/j.biteb.2020.100535
- Dose, J., Matsugo, S., Yokokawa, H., Koshida, Y., Okazaki, S., Seidel, U., Eggersdorfer, M., Rimbach, G., & Esatbeyoglu, T., (2016). Free Radical Scavenging and Cellular Antioxidant Properties of Astaxanthin, *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1), 1–14. doi: 10.3390/ijms17010103
- FAO, (2017). *Fisheries and Aquaculture Statistics Year Book of 2015*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Gómez-Estaca, J., Calvo, M.M., Álvarez-Acero, I., Montero, P., & Gómez-Guillén, M.C., (2017). Characterization and Storage Stability of Astaxanthin Esters, Fatty Acid Profile and α -Tocopherol of Lipid Extract from Shrimp (*L. vannamei*) Waste with Potential Applications as Food Ingredient, *Food Chemistry*, 216, 37–44. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.016
- Goula, A.M., Ververi, M., Adamopoulou, A., & Kaderides, K., (2017). Green Ultrasound-Assisted Extraction of Carotenoids from Pomegranate Wastes Using Vegetable Oils, *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 821–830. doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.07.022
- Gulzar, S., Raju, N., Chandragiri Nagarajarao, R., & Benjakul, S., (2020). Oil and Pigments from Shrimp Processing By-Products: Extraction, Composition, Bioactivities and Its Application- A Review, *Trends in Food Science and Technology*, 100, 307–319. doi: 10.1016/j.tifs.2020.04.005
- Hedianto, D.A., Purnamaningtyas, S.E., & Riswanto, R., (2015). Sebaran Dan Habitat Juvenil Udang Penaeid di Perairan Kubu Raya, Kalimantan Barat, *BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap*, 6(2), 77-88. doi: 10.15578/bawal.6.2.2014.
- Hormozi, M., Ghoreishi, S., & Baharvand, P., (2019). Astaxanthin Induces Apoptosis and Increases Activity of Antioxidant Enzymes in LS-180 cells. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 47(1):891–895. doi: 10.1080/21691401.2019.1580286
- Hu, J., Lu, W., Lv, M., Wang, Y., Ding, R., & Wang, L., (2019). Extraction and Purification of Astaxanthin from Shrimp Shells and The Effects of Different Treatments on Its Content, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(1), 24–29. doi: 10.1016/j.bjp.2018.11.004
- Kamath, B.S., Srikanta, B.M., Damesh, S.M., Sarada, R., & Ravishankar, G.A., (2008). Ulcer Preventive and Antioxidative Properties of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*, *European Journal of Pharmacology*, 590, 387–395. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.06.042
- Mauludia, Usman, T., Rahmalia, W., Prayitno, D.I., Nurbaeti, S.N., (2021). Ekstraksi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Astaxanthin dari Produk Fermentasi Udang (Cincalok), *Jurnal Kelautan Tropis*, 24(3), 311-322. doi: 10.14710/jkt.v24i3.10497
- Montoya, J.M., Mata, S.V., Acosta, J.L., Cabrera, B.E.H., Valdez, L.G.L., Reyes, C., & Cureño, H.J.B., (2021). Obtaining of Astaxanthin from Crab Exoskeletons and Shrimp Head Shells, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(5), 13516–13523. doi: 10.33263/BRIAC115.1351613523
- Munteanu, I.G., & Apetrei, C., (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 1–30. doi: 10.3390/ijms22073380
- Nishida, Y., Berg, P.C., Shakersain, B., Hecht, K., Takikawa, A., Tao, R., Kakuta, Y., Uragami, C., Hashimoto, H., Misawa, N., & Maoka, T., (2023). Astaxanthin: Past, Present, and Future, *Marine Drugs*, 21(10), 1-156, doi: 10.3390/md21100514
- Parjikolaee, B.R., Errico, M., Bahij El-Houri, R., Mantell, C., Fretté, X.C., & Christensen, K.V., (2017). Process Design and Economic Evaluation of Green Extraction Methods for Recovery of Astaxanthin from Shrimp Waste, *Chemical Engineering Research and Design*, 117, 73–82. doi: 10.1016/j.cherd.2016.10.015
- Pereira, C.P.M., Souza, A.C.R., Vasconcelos, A.R., Prado, P.S., & Name, J.J., (2021). Antioxidant and Anti-Inflammatory Mechanisms of Action of Astaxanthin in Cardiovascular Diseases (Review), *International Journal of Molecular Medicine*, 47(1), 37–48. doi: 10.3892/ijmm.2020.4783
- Purnamaningtyas, S.E., & Hedianto, D.A., (2015). Food Habit and Tropic Level of Some Penaeid Shrimp and Fish Species in Muara Kakap Coastal, West Kalimantan, *BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap*, 7(2), 95–102. doi: 10.15578/bawal.7.2.2015.95-102

- Qu J.H., Cheng, J.H., Sun, D.W., Pu, H., Wang, Q.J., & Ma, J., (2015). Discrimination of Shelled (*Metapenaeus ensis*) Among Fresh, Frozen-Thawed and Cold-Stored by Hyperspectral Imaging Technique, *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 202-209. doi: 10.1016/j.lwt.2015.01.018
- Rahmalia, W., Dasilia, C., Usman, T., Prayitno, D.I., & Nurbaeti, S.N., (2022). Astaxanthin and Omega-3-Rich Oil from Fermented *Acetes* (Cincalok) and Its Application as Bioactive Additive and Sunscreen in Lotion, *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 29, 1–8. doi: 10.1051/ocf/2022012
- Roy, V.C., Getachew, A.T., Cho, Y.J., Park, J.S., & Chun, B.S., (2020). Recovery and Bio-Potentialities of Astaxanthin-Rich Oil from Shrimp (*Penaeus monodon*) Waste and Mackerel (*Scomberomus niphonius*) Skin Using Concurrent Supercritical CO₂ Extraction, *Journal of Supercritical Fluids*, 59, 1–10. doi: 10.1016/j.supflu.2020.104773
- Sachindra, N.M., & Mahendrakar, N.S., (2010). Stability of Carotenoids Recovered from Shrimp Waste and Their Use as Colorant in Fish Sausage, *Journal of Food Science and Technology*, 47, 77–83. doi: 10.1007/s13197-010-0019-z
- Scurria, A., Fabiano Tixier, A.S., Lino, C., Pagliaro, M., D'Agostino, F., Avellone, G., Chemat, F., & Ciriminna, R., (2020). High Yields of Shrimp Oil Rich in Omega-3 and Natural Astaxanthin from Shrimp Waste, *ACS Omega*, 5(28), 17500–17505. doi: 10.1021/acsomega.0c01978
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y., (2018). Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis, *Analytical Sciences*, 34(7), 795–800. doi: 10.2116/analsci.18P014
- Song, R., Jia, Z., Xu, Y., Zhang, X., Wei, R., & Sun, J., (2020). Saponification to Improve the Antioxidant Activity of Astaxanthin Extracts from *Penaeus sinensis* (*Solenocera crassicornis*) By-Products and Intervention Effect on Paracetamol-Induced Acute Hepatic Injury in Rat, *Journal of Functional Foods*, 73, 1–12. doi: 10.1016/j.jff.2020.104150
- Su, F., Huang, B., & Liu, J., (2018). The Carotenoids of Shrimps (Decapoda: Caridea and Dendrobranchiata) Cultured in China, *Journal of Crustacean Biology*, 38(5), 523–530. doi: 10.1093/jcobiol/ruy049
- Sundalian, M., Sri Gustini, S.G., & Rishadi, F.F., (2021). Kajian Metode Ekstraksi dan Analisis Senyawa Astaxanthin yang Terkandung dalam Udang, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(4), 601–610. doi: 10.25026/jsk.v3i4.337
- Sztretye, M., Dienes, B., Gönczi, M., Cziráj, T., Csernoch, L., Dux, L., Szentesi, P., & Keller-Pintér, A., (2019). Astaxanthin: A Potential Mitochondrial-Targeted Antioxidant Treatment in Diseases and with Aging, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–14. doi: 10.1155/2019/3849692
- Tan, Y., Ye, Z., Wang, M., Manzoor, M.F., Aadil, R.M., Tan, X., & Liu, Z., 2021, Comparison of Different Methods for Extracting the Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*: Chemical Composition and Biological Activity, *Molecules*, 26(12), 1–13. doi: 10.3390/molecules26123569
- Trianjari, N., Amiruddin, A., & Ardiana, S., (2022). Pengaruh Species Udang terhadap Rendemen yang Dihasilkan, *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 8(2), 145–152. doi: 10.26858/jptp.v8i2.28054
- Virchenko, O., & Stefánsson, T., (2023). Light Increases Astaxanthin Absorbance in Acetone Solution through Isomerization Reactions, 28(847), 1-15. doi: 10.3390/molecules28020847
- Wang, J.L., Yu, Z. L., Yin, F. W., Li, D. Y., Liu, H.L., Song, L., & Zhou, D.Y., (2021). Comparison of Different Solvents for Extraction of Oils from By-Products of Shrimps *Penaeus vannamei* and *Procambarus clarkia*, *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9), 1–9. doi: 10.1111/jfpp.15754
- Yerika, V., Soetignya, W.P., & Hadinata, F.W., (2023). Status Stok Udang Dogol (*Metapenaeus ensis*) yang Didaratkan di TPI Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya, 12(4), 1243-1255. doi: 10.26418/jspe.v12i4.69624
- Zuluaga, M., Gueguen, V., Letourneur, D., & Pavon-Djavid, G., (2018). Astaxanthin-Antioxidant Impact on Excessive Reactive Oxygen Species Generation Induced by Ischemia and Reperfusion Injury, *Chemico-Biological Interactions*, 279, 145–158. doi: 10.1016/j.cbi.2017.11.012