

Analisis Kadar Astaxanthin Ekstrak Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Asal Kecamatan Malangke Barat Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Aulia Nur Afifah^{1*}, Harti Widiastuti², A.Muflihunna³
^{1,2,3}Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

*Corresponding author:
Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan
Email: 15020190120@umi.ac.id

ABSTRACT

Shrimp waste consisting of heads, shells, legs and tails contains several components such as protein, chitin, enzymes, minerals, carotenoids, and others. One type of carotenoid found in shrimp waste is astaxanthin. Astaxanthin is a carotenoid pigment with higher antioxidant activity compared to other β -carotene and vitamin E derivatives. The purpose of this study was to determine the levels of astaxanthin in the shells of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from West Malangke District. The astaxanthin compound contained in vannamei shrimp shells was extracted using the UAE method and liquid-liquid extraction. The percentage value of the reduction is 0.486%. Qualitative analysis used thin layer chromatography (TLC) and quantitative analysis using UV-Vis spectrophotometry. TLC analysis on the sample obtained an Rf value of 0.254. Analysis by UV-Vis spectrophotometry at a maximum wavelength of 203 nm obtained $y = 0.1513x - 0.0819$, correlation coefficient (r) = 0.9947, $V_{x0} = 4.64\%$, and the average level of astaxanthin = 73.2 %.

Keywords: : Vannamei Shrimp (*Litopenaeus vannamei*); Astaxanthin; TLC; UV-Vis Spectrophotometry.

ABSTRAK

Limbah udang yang terdiri dari kepala, kulit, kaki, dan ekor mengandung beberapa komponen seperti protein, kitin, enzim, mineral, karotenoid, dan lain-lain. Salah satu jenis karotenoid yang terdapat pada limbah udang yaitu astaxanthin. Astaxanthin merupakan pigmen karotenoid dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan turunan β -karoten dan vitamin E lainnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar astaxanthin pada cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) asal Kecamatan Malangke Barat. Senyawa astaxanthin yang terkandung dalam cangkang udang vannamei diekstraksi dengan metode UAE dan ekstraksi cair-cair. Nilai persen rendemen yaitu 0,486%. Analisis kualitatif menggunakan uji kromatografi lapis tipis (KLT) dan analisis kuantitatif secara spektrofotometri UV-Vis. Analisis KLT pada sampel diperoleh nilai Rf 0,254. Analisis secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 203 nm diperoleh $y = 0,1513x - 0,0819$, koefisien korelasi (r) = 0,9947, $V_{x0} = 4,64\%$, dan kadar rata-rata astaxanthin = 73,2%.

Kata kunci: Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*); Astaxanthin; KLT; Spektrofotometri UV-Vis..

PENDAHULUAN

Budidaya udang vannamei di Indonesia saat ini menjadi andalan sektor perikanan budidaya dan prioritas pengembangan akuakultur dalam meningkatkan perekonomian nasional [2]. Berdasarkan data statistik ekspor hasil perikanan tahun 2017-2021, dalam kurun waktu 5 tahun terakhir, udang mengalami kenaikan volume ekspor rata-rata sebesar 8,63% [1]. Peningkatan ekspor udang vannamei tidak hanya memberikan dampak positif bagi perekonomian, tetapi juga berdampak negatif terhadap lingkungan. Salah satu dampak negatif yang diakibatkan adalah adanya limbah kulit udang dari udang yang digunakan [3].

Limbah udang mengandung beberapa komponen seperti protein, kitin, enzim, mineral, karotenoid, dan lain-lain. Karotenoid merupakan pigmen alami yang terdapat pada limbah udang. Pigmen karotenoid terdapat beberapa jenis, seperti likopen, karoten, xantophil, zeaxanthin, dan astaxanthin. Pigmen astaxanthin tidak dapat disintesis sendiri oleh udang, melainkan diperoleh dari makanan yang berasal dari alga [8]. Astaxanthin adalah pigmen karotenoid merah yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan astaxanthin 500 kali lebih kuat dibandingkan vitamin E [6]. Sifat antioksidan dari astaxanthin diyakini memiliki peran kunci seperti perlindungan terhadap fotooksidasi sinar UV, peradangan, kanker, tukak lambung, infeksi *Helicobacter pylori*, penuaan dan penyakit terkait usia, atau peningkatan respon imun, serta gangguan fungsi hati, jantung, mata, sendi dan prostat [5]. Senyawa astaxanthin yang terkandung dalam udang memiliki kadar yang berbeda-beda. Perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh faktor internal seperti kemampuan metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti kondisi lingkungan, asupan makanan dan juga metode ekstraksi yang digunakan [13]. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan analisis kandungan astaxanthin ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) secara spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) diperoleh dari limbah udang vannamei di Kecamatan Malangke Barat, Kabupaten Luwu Utara, Provinsi Sulawesi Selatan. Sampel dikumpulkan pada bulan November 2022, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih, lalu dikeringkan selama empat hari, setelah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender.

Ekstraksi sampel cangkang udang vannamei (Litopenaeus vannamei)

Cangkang udang vannamei yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 15 gram, lalu sampel dilarutkan dengan 50 mL aseton : n-heksana (1:3) kemudian disonikasi selama 30 menit. Selanjutnya ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman No.42, kemudian dilakukan partisi dengan menggunakan corong pisah. Lalu filtrat dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu ditambahkan 15 mL petroleum eter. Setelah pencampuran, epifase (filtrat bagian atas) dikumpulkan lalu ditambahkan 15 mL NaCl 0,73%. Kemudian lapisan epifase dikumpulkan kembali dan ditambahkan 15 mL aquadest, fase air yang berada di bagian bawah dibuang dan lapisan epifase bagian atas dikumpulkan lalu diuapkan di waterbath pada suhu 50°C [13]

Analisis Kualitatif Astaxanthin

Kromatografi lapis tipis (KLT) pada penelitian ini menggunakan plat KLT silika gel G60F254 dan dielusi dengan pelarut aseton : n-heksana (1:3) sebanyak 15 mL. Pola pemisahan pigmen diamati berdasarkan noda warna yang terbentuk, kemudian dilakukan perhitungan nilai retardation factor (Rf) dari masing-masing noda dan dibandingkan dengan nilai Rf astaxanthin standar [8].

Analisis Kuantitatif Astaxanthin

Pembuatan Larutan Stok. Karakterisasi dan identifikasi astaxanthin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan membuat larutan stok terlebih dahulu untuk membuat kurva baku astaxanthin. Pembuatan larutan stok astaxanthin dilakukan dengan memodifikasi metode Mauludia *et al* (2021). Larutan stok dibuat dengan melarutkan astaxanthin standar sebanyak 10 mg ke dalam pelarut asam asetat glasial : asam asetat 0,1 M (3:1) sebanyak 10 mL hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, kemudian disonikasi selama 30 menit lalu disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan dikumpulkan dan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Astaxanthin. Astaxanthin standar kemudian ditentukan panjang gelombang maksimumnya dengan mengambil larutan stok sebanyak 0,4 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan asam asetat glasial : asam asetat 0,1 M (3:1) sampai tanda batas, hingga diperoleh konsentrasi 4 ppm. Larutan tersebut kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm.

Penetapan Kurva Baku Astaxanthin. Dilakukan pengenceran dengan mengambil larutan stok sebanyak 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; dan 0,7 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan asam asetat glasial : asam asetat 0,1 M (3:1) sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 2; 3; 4; 5; 6; dan 7 ppm. Masing-masing larutan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebelumnya. Data yang diperoleh dibuat dalam

bentuk kurva linier yang menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi yang diukur dengan absorbansi yang diperoleh.

Penetapan Kadar Astaxanthin dalam Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). Ekstrak cangkang udang vannamei ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam asam asetat glasial : asam asetat 0,1 M (3:1) sebanyak 10 mL hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, kemudian diencerkan hingga konsentrasi 6 ppm. Dibuat sebanyak tiga kali replikasi. Lalu, diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Hasil absorbansi kemudian dikonversi dalam satuan konsentrasi melalui persamaan kurva baku.

Analisis Data

Setelah diperoleh absorbansi kemudian dilakukan analisis kadar astaxanthin dengan cara:

1. Persamaan garis regresi :

$$Y = a + bx$$

Keterangan : y = Serapan
a = Intersep
x = Konsentrasi
b = Slop kemiringan

2. Perhitungan kadar astaxanthin :

$$r = \frac{\text{Konsentrasi (mg/L)} \times \text{Volume sampel (L)} \times fp}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Keterangan :
fp = Faktor Pengenceran

HASIL DAN DISKUSI

Pada penelitian ini, cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang digunakan sebagai sampel yaitu berupa kepala, kulit, kaki, dan ekor udang. Cangkang udang vannamei yang telah dikumpulkan dan dibersihkan dengan air mengalir, dikeringkan selama empat hari secara kering angin. Metode pengeringan ini dipilih dengan pertimbangan senyawa astaxanthin yang ada pada cangkang udang sensitif terhadap cahaya matahari dan tidak tahan terhadap pemanasan. Hal ini sejalan dengan literatur bahwa suhu dan waktu pengeringan berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan karena kondisi tersebut mengakibatkan rusaknya zat aktif yang terkandung dalam suatu bahan [3].

Pembuatan ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dilakukan dengan metode *ultrasound assisted extraction* (UAE) dan ekstraksi cair-cair. Pelarut yang

digunakan pada ekstraksi secara UAE yaitu n-heksana dan aseton. Pemilihan pelarut n-heksana dan aseton sebagai pelarut dalam ekstraksi sampel cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) didasarkan pada efektifitas kemampuan pelarut tersebut dalam memisahkan antara senyawa target dengan kelompok senyawa karotenoid lainnya [13]. Setelah sampel diekstraksi secara UAE, dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dengan residu. Filtrat yang diperoleh dipartisi dengan metode ekstraksi cair-cair dengan penambahan pelarut petroleum eter, NaCl 0,73%, dan aquadest. Hal ini bertujuan untuk memperoleh senyawa astaxanthin murni. Penambahan petroleum eter dan NaCl 0,73% berfungsi untuk memisahkan antara pelarut (aseton) dan senyawa astaxanthin. Menurut Putri penggunaan petroleum eter berfungsi untuk menarik pelarut aseton dari filtrat dan penambahan NaCl 0,73% berfungsi untuk menghilangkan sisa aseton dari filtrat [12]. Hasil rendemen yang diperoleh dari ekstraksi cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dapat dilihat pada Tabel 1. Persentase rendemen ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) menunjukkan jumlah persentase senyawa yang terekstraksi dari 15 gram sampel dengan pelarut sebanyak 50 mL sehingga dari proses ekstraksi dihasilkan ekstrak kental sebanyak 0,073 gram.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dilakukan dengan menggunakan eluen aseton : n-heksana perbandingan (1:3) sebagai fase gerak dan plat KLT silika gel G₆₀F₂₅₄ sebagai fase diam. Pemilihan fase gerak didasarkan pada kemampuan fase gerak untuk mengelusi senyawa. Eluen aseton dan n-heksana memiliki sifat kepolaran yang berbeda. Aseton merupakan pelarut yang bersifat polar dan n-heksana bersifat non polar. Adapun fase diam menggunakan silika gel yang memiliki gugus hidroksil yang mampu membentuk ikatan sehingga dapat menyerap dan mengikat sampel pada permukaan. Silika gel GF₂₅₄ adalah plat yang dapat menghasilkan fluoresensi pada panjang gelombang 254 nm karena keberadaan gugus kromofor pada noda. Pada panjang gelombang 254 nm, gugus kromofor akan menunjukkan noda yang berwarna gelap [7].

Pada uji KLT senyawa astaxanthin menggunakan fase gerak aseton : n-heksana (1:3) yang diamati pada sinar UV 254 nm, tampak noda standar astaxanthin dan sampel berwarna jingga muda sebagaimana yang ditunjukkan oleh **Gambar 1**. Dilakukan pengukuran nilai R_f kedua noda dan diperoleh nilai R_f noda standar astaxanthin yaitu 0,273 dan nilai R_f noda sampel yaitu 0,254. Berdasarkan Depkes RI (1995) dikatakan positif apabila nilai R_f sama atau mendekati dengan selisih $\leq 0,2$ [15]. Nilai R_f standar astaxanthin dan sampel memiliki selisih 0,019 artinya selisih R_f ini $\leq 0,2$ sehingga membuktikan bahwa sampel mengandung astaxanthin.

Analisis kuantitatif astaxanthin dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis bertujuan untuk mengetahui kadar astaxanthin yang terkandung dalam ekstrak cangkang udang vannamei asal Kecamatan Malangke Barat. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada rentang 200-400 nm untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki serapan tertinggi. Pada pengukuran panjang gelombang maksimum astaxanthin dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh panjang gelombang maksimum 203 nm. Setelah nilai panjang gelombang maksimum diperoleh, dilakukan pembuatan 6 seri konsentrasi untuk memperoleh persamaan regresi dengan mengkorelasikan konsentrasi dan absorbansi sebagaimana yang ditunjukkan oleh **Gambar 2**. Dari hasil pengukuran diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,1513x - 0,0819$, $R^2 = 0,9895$, $r = 0,9947$, dan $V_{x0} = 4,64\%$. Linieritas kurva baku yang baik apabila nilai koefisien korelasinya ($r \geq 0,999$) dan koefisien variasi regresi ($V_{x0} \leq 5\%$) jika nilai r belum mencapai $0,999$ [11]. Karena nilai V_{x0} yang diperoleh $\leq 5\%$ (memenuhi syarat), maka persamaan regresi linear kurva baku astaxanthin pada gambar 5 dapat digunakan untuk penetapan kadar astaxanthin ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*).

Selanjutnya dilakukan pengukuran sampel, ekstrak cangkang udang vannamei dilarutkan dalam asam asetat glasial : asam asetat 0,1 M (3:1) dan diencerkan hingga konsentrasi 6 ppm. Dibuat sebanyak tiga kali replikasi untuk memperoleh data pengukuran yang optimal. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Adapun hasil absorbansi yang diperoleh dikonversi dalam satuan konsentrasi melalui persamaan kurva baku. Tabel 2 menunjukkan hasil pengukuran dan perhitungan kadar ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). Hasil pengukuran absorbansi ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang telah dibuat dalam 3 replikasi secara berturut-turut didapatkan kadar astaxanthin sebesar 75,74%; 71,45%; dan 72,41%. Sehingga dari hasil penelitian ini diperoleh kadar rata-rata astaxanthin dari ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) sebesar 73,2%, artinya dalam 100 gram ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) mengandung 73,2 gram astaxanthin. Berdasarkan Prameela., et al (2017) astaxanthin merupakan pigmen karotenoid utama dengan persentase relatif sekitar 65-98% dari total kandungan karotenoid pada udang [11].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) positif mengandung senyawa astaxanthin

dan kadar astaxanthin yang terdapat pada ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) memiliki kadar rata-rata yaitu 73,2%.

REFERENSI

- [1] Badan Pusat Statistik. Statistik Ekspor Hasil Perikanan Tahun 2017-2021. Jakarta: Direktorat Jenderal Penguatan Daya Saing Produk Kelautan dan Perikanan; 2022.
- [2] BPBAP Situbondo. Budidaya Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Tambak Milenial. Situbondo: Balai Perikanan Budidaya Air Payau Situbondo; 2021.
- [3] Dharma, M.A., Nocianitri, K.A. dan Yusasrini, N.L.A. Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia Terhadap Kapasitas Antioksidan Wedang Uwuh. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA). 2020; 9(1):88.
- [4] Gimeno, M. et al. One-solvent extraction of astaxanthin from lactic acid fermented shrimp wastes. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007;55(25):10345–10350.
- [5] Guerin, M., Huntley, M.E. dan Olaizola, M. Haematococcus astaxanthin: Applications for human health and nutrition. Trends in Biotechnology. 2023;21(5):210–216.
- [6] Hu, J. et al. Extraction and purification of astaxanthin from shrimp shells and the effects of different treatments on its content. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2019;29(1):24–29.
- [7] Husa, F. dan Mita, S.R. Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. Farmaka. 2020;18(2):16–25.
- [8] Maftuch et al. Dasar-Dasar Akuakultur. Malang: Media Nusa Creative (MNC Publishing); 2022.
- [9] Mauludia, M. et al. Ekstraksi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Astaxanthin dari Produk Fermentasi Udang (Cincalok). Jurnal Kelautan Tropis. 2021;24(3):311–322
- [10] Prabowo, M.H., Wibowo, A. dan Fauziyah, L. Pengembangan Dan Validasi Metode Analisis Rifampicin Isoniazid-Pirazinamid Dalam Fixed Dose Combination Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2012;9(2):1-12.
- [11] Prameela, K.; Venkatesh, K.; Immandi, S.B.; Kasturi, A.P.K.; Krishna, C.R.; Mohan, C.M. Next generation nutraceutical from shrimp waste: The convergence of applications with extraction methods. Food Chem. 2017;237:121–132.
- [12] Putri, E.R., Slamet, R. dan Erdawati. Ekstraksi Astasantin dari Tepung Kulit Udang dengan Metode Maserasi untuk Uji Aktivitas Antioksidan. Jurnal Riset Sains dan Kimia Terapan. 2019;8(2):38–39.

- [13] Senthamil, L. dan Kumaresan, R. Extraction and Identification of Astaxanthin from Shrimp Waste. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*. 2015;3(3):192–195.
- [14] Sundalian, M., Sri Gustini, S.G. dan Rishadi, F.F. Kajian Metode Ekstraksi dan Analisis Senyawa Astaxanthin yang Terkandung dalam Udang. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2021;3(4):601–610.
- [15] Lukitasari, N.F. dan Yugatama, A. Analisis Rhodamin B Pada Sirup Berwarna Merah Yang Beredar Di Kota Sragen. *Analisis Rhodamin B Pada Sirup Berwarna Merah Yang Beredar Di Kota Sragen*. 2016;15(1):165–175.

TABEL

Tabel 1. Hasil ekstraksi dan persentase rendemen ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

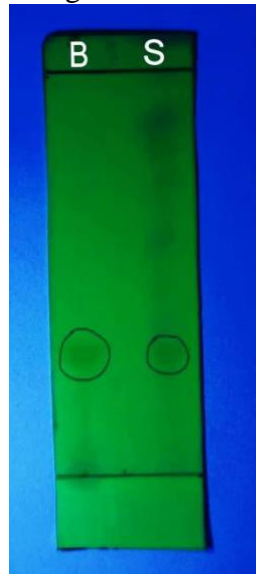
Uraian	Jumlah
Berat sampel kering	15 gram
Jumlah pelarut aseton:n-heksana	50 mL
Berat ekstrak kental cangkang udang vannamei	0,073 gram
Rendemen ekstrak	0,486%

Tabel 2. Hasil pengukuran dan perhitungan kadar ekstrak cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

Sampel	Replikasi	Berat Sampel (g)	Absorbansi	Kadar (%)	Kadar rata-rata (%)
Ekstrak cangkang udang vannamei	1	0,0112	0,688	75,74	73,2
	2	0,0115	0,665	71,45	
	3	0,0116	0,681	72,41	

GAMBAR

Gambar 1. Hasil pengujian kualitatif dengan metode KLT



Gambar 2. Kurva baku larutan standar astaxanthin

