



**EKSTRAKSI ASTAXANTHIN PADA UDANG DENGAN
PELARUT DIKLOROMETANA MENGGUNAKAN ENZIM
PROTEASE USUS AYAM**

SKRIPSI

Oleh

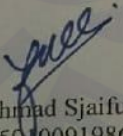
**Hilda Shahra
NIM 141810301047**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

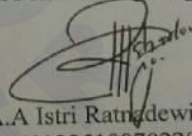
PERSETUJUAN PEMBIMBING

Proposal berjudul "Ekstraksi Astaxanthin pada Udang dengan Pelarut Diklorometana Menggunakan Enzim Protease Usus Ayam" telah disetujui pada:
hari, tanggal :
tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama


Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D
NIP 195910091986021001

Dosen Pembimbing Anggota


Dr. A.A Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si
NIP 197012251997022001



**EKSTRAKSI ASTAXANTHIN PADA UDANG DENGAN
PELARUT DIKLOROMETANA MENGGUNAKAN ENZIM
PROTEASE USUS AYAM**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

Hilda Shakra
NIM 141810301047

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. kedua orang tua tercinta, ayahanda Ir. Muh. Jalil Barata, dan Ibunda Ida Farida yang senantiasa mendukung, memberikan motivasi, kasih sayang, dan mendidik untuk selalu dekat dengan Allah SWT.
2. kakak saya tercinta, Amelia Rizki Shela, S.St yang senantiasa memberikan semangat dan dukungan bahwa saya bisa menyelesaikan skripsi ini serta adik saya Achmad Hakim dan Nabila Maulida Az-Zahra yang juga selalu mendoakan saya serta memberikan semangat.
3. guru-guru di TK Muslimat NU 29 Mahkota Gresik, SD Muhammadiyah 1 Gresik, SMPN 2 Gresik, SMA Muhammadiyah 1 Gresik yang telah memberikan ilmu dan bimbingan dengan baik dan sabar;
4. Drs. Achmad Sjaifullah M.Sc., Ph.D, dan Dr A.A Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si, selaku Dosen Pembimbing, serta Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc dan Dr Bambang Piluharto S.Si., M.Si selaku Dosen Penguji.
5. teman-teman seperjuangan “Majesty.” Kimia angkatan 2014, terimakasih atas segala dukungan, motivasi, dan kasih sayang yang telah diberikan.
6. almamater tercinta, jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia lainnya” *)



*) HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutni. Hadist ini dihasankan oleh al-Albani di dalam Shahihul Jami' no.3289.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Hilda Shahra

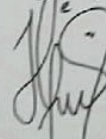
NIM : 141810301047

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Ekstraksi Astaxanthin pada Udang dengan Pelarut Diklorometana Menggunakan Enzim Protease Usus Ayam" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 Mei 2019

Yang menyatakan,



Hilda Shahra
NIM 141810301047

SKRIPSI

**EKSTRAKSI ASTAXANTHIN PADA UDANG DENGAN
PELARUT DIKLOROMETANA MENGGUNAKAN ENZIM
PROTEASE USUS AYAM**

Oleh

Hilda Shakra
NIM 141810301047

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. A.A Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si.

PENGESAHAN

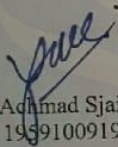
Skripsi berjudul "Ekstraksi Astaxanthin pada Udang dengan Pelarut Diklorometana Menggunakan Enzim Protease Usus Ayam" karya Hilda Shakra telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : JUM'AT 17 MAY 2019

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

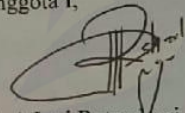
Tim Penguji:

Ketua,



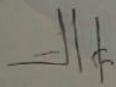
Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D.
NIP 195910091986021001

Anggota I,



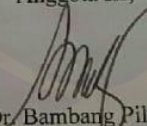
Dr. A.A Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si.
NIP 197012251997022001

Anggota II,



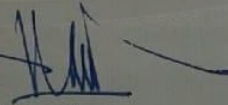
Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.
NIP 198010012003122001

Anggota III,



Dr. Bambang Piluharto, S.Si, M.Si.
NIP 197107031997021001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember,



Drs. Sujito, Ph.D.
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

Ekstraksi Astaxanthin pada Udang dengan Pelarut Diklorometana Menggunakan Enzim Protease Usus Ayam; Hilda Shahra, 141810301047; 2019; 28 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang banyak diminati karena memiliki nilai gizi yang tinggi dan nilai ekonomisnya pada kegiatan ekspor. Ekspor udang tahun 2015 ke Amerika Serikat mencapai 140,940 ton yang setara dengan US\$ 989.708.000. Pemanfaatan udang saat ini hanya sebagai sumber pangan, kitin, protein dan juga campuran ransum ternak padahal didalam udang memiliki senyawa aktif lain yang dapat dimanfaatkan kembali yakni astaxanthin. Astaxanthin merupakan pigmen golongan karotenoid yang strukturnya mirip dengan beta-karoten. Astaxanthin banyak ditemukan pada mikroalga, salmon dan golongan krustacea dengan warna merah-oranye. Metode ekstraksi karotenoid telah banyak dilakukan yakni dengan menggunakan pelarut organik dan hidrolisis secara enzimatis. Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan metode hidrolisis secara enzimatis. Enzim yang digunakan adalah enzim jenis protease. Enzim protease yang digunakan yakni enzim protease pada usus ayam. Usus ayam dipilih karena selama ini pemanfaatan usus ayam hanya menjadi produk olahan makanan dan juga limbah. Protease usus ayam sendiri memiliki aktivitas enzimatis sebesar 75 %. Proses hidrolisis ini dilakukan untuk memecah protein yang berikatan dengan astaxanthin menjadi peptida pendek, sehingga astaxanthin dapat dilepaskan dari matriks protein.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi pH dan waktu inkubasi pada proses hidrolisis enzimatis udang terhadap persentase astaxanthin yang terekstrak. Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi tentang pengolahan dan pemanfaatan usus ayam sebagai sumber protease sehingga mampu meningkatkan nilai komoditi usus ayam, selain itu diharapkan penelitian ini mampu memberikan pengetahuan tentang pengaruh variasi pH asam dan waktu inkubasi

selama proses hidrolisis secara enzimatis pada udang terhadap persentase astaxanthin yang dihasilkan.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai Desember 2018. Tempat penelitian di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Kimia Analitik Universitas Jember. Usus ayam yang digunakan pada penelitian ini adalah Usus halus ayam dari ayam jenis pedaging berusia 40 hari yang diperoleh dari pemotongan ayam di kelurahan Tegal Besar, Kecamatan Sumbersari Jember. Udang yang digunakan pada penelitian ini yakni keseluruhan bagian udang vannamei yang diambil di Kec. Suboh Kabupaten Situbondo. Penelitian yang dilakukan meliputi proses preparasi sampel bubur usus ayam, bubur udang, proses inkubasi, dan analisis persentase astaxanthin yang terekstrak.

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan adalah pH dan waktu inkubasi memberikan pengaruh terhadap persentase astaxanthin yang terekstrak. Persentase astaxanthin yang terekstrak memiliki nilai yang berbeda-beda untuk setiap kondisi pH dan waktu inkubasi. Nilai persentase astaxanthin yang terekstrak tertinggi pada pH 2,5 dan waktu inkubasi 18 jam baik pada sampel (udang+usus) dan pada kontrol udang. Proses degradasi protein pada penelitian ini terjadi akibat adanya aktivitas enzim Cathepsin D yang bekerja optimal pada pH 2,5. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa persentase astaxanthin yang terekstrak selama hidrolisis secara enzimatis menggunakan protease usus ayam dipengaruhi oleh pH dan lama waktu inkubasi saat proses degradasi berlangsung. Nilai pH terbaik untuk proses hidrolisis secara enzimatis menggunakan protease usus ayam yakni pada pH 2,5

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “Ekstraksi Astaxanthin Pada Udang Dengan Pelarut Diklorometana Menggunakan Enzim Protease Usus Ayam”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. kedua orang tua, ayahanda Ir. Muh. Jalil Barata dan Ibunda Ida Farida yang selalu memberikan dukungan, motivasi, dan kasih sayang.
2. Drs. Achmad Sjaifullah., M.Sc, Ph.D., dan Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah berkenan untuk membimbing dengan sabar, memberikan nasehat, koreksi, kritik dan saran selama penyusunan skripsi ini.
3. Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc., dan Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si selaku Dosen Penguji yang telah berkenan untuk menguji skripsi ini dan memberikan nasehat, koreksi, kritik dan saran untuk pengembangan diri dan menyempurnakan penyusunan skripsi;
4. Tri Mulyono., S.Si, M.Si selaku dosen Pembimbing Akadenik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. seluruh dosen, staff, dan karyawan jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas yang telah memberikan dukungan selama pengerjaan skripsi ini;
6. teknisi mas Darma, mas Dul, dan mas Yusril terimakasih telah banyak sekali membantu baik fisik, pikiran, maupun waktu ketika penelitian ini dilakukan;
7. keluarga besar Majesty, keluarga tempat saling belajar, berjuang, berbagi pengalaman, terimakasih atas semangat, doa, dan bantuan sejak awal bertemu;

8. sahabat seperjuangan di balik layar, El, Rani, Anisa, Eka, Desi, Rully, Ilham, Hendri, Evan, Jamal, Rere dan Teman-teman KKN UMD 42 Terimakasih atas segala bantuan, dukungan, doa, dan motivasi yang selalu diberikan.
9. teman-teman komunitas hijrah tanpa batas (KHITAB), Sahabat Shalihaat, Bu Rani perumahan sumber alam, ustadzah rosi, ustadzah wardah dan juga teman terbaik Anugerah Terindah a.k.a CIS yang banyak memberikan pelajaran hidup, motivasi, dukungan dan kebersamaan selama penulis menjadi mahasiswa.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

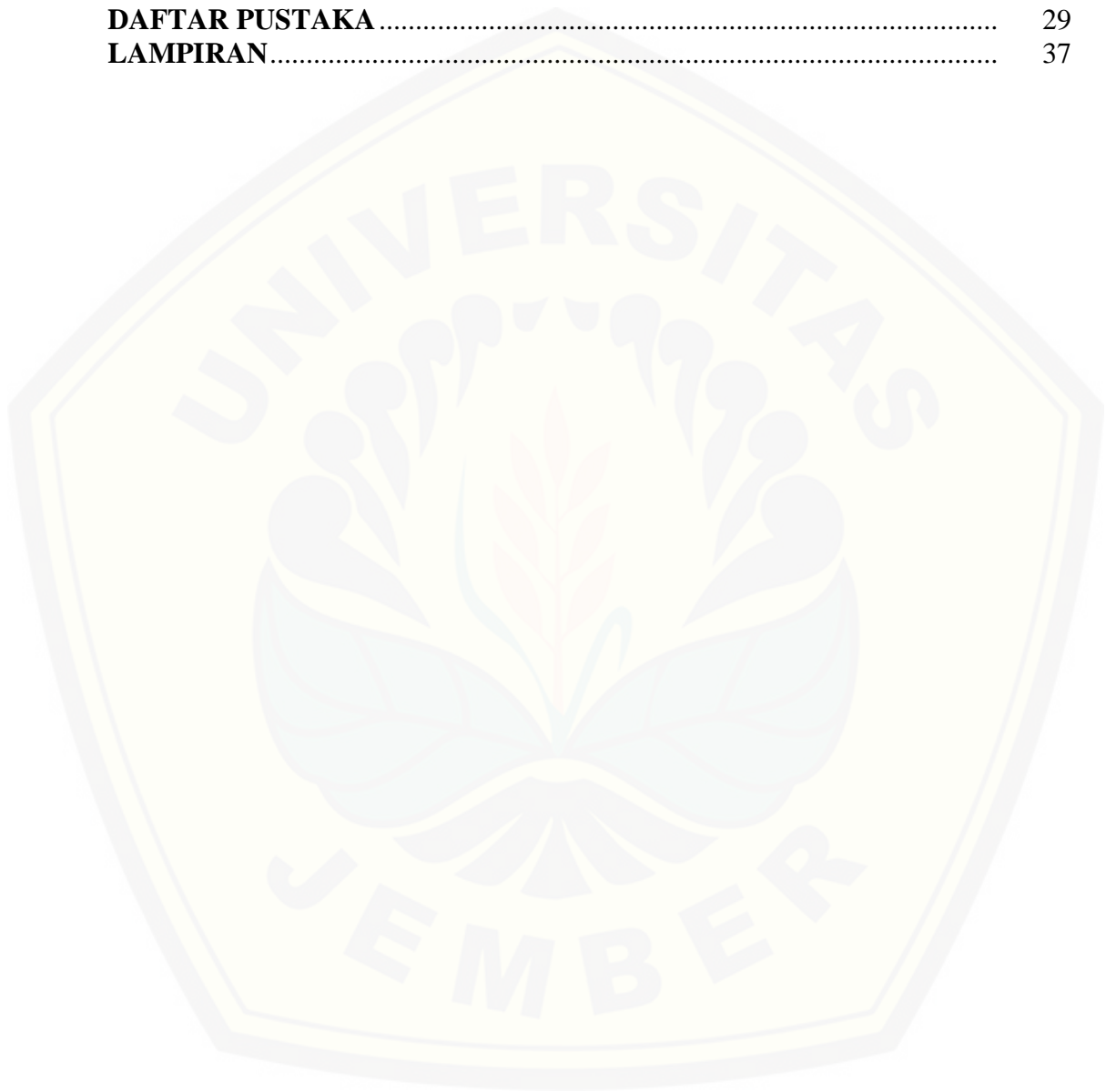
Jember, Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN SAMPUL	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN MOTO	v
HALAMAN PERNYATAAN	vi
HALAMAN PEMBIMBING	vii
HALAMAN PENGESAHAN	viii
RINGKASAN	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Batasan Masalah	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Udang <i>Vannamei</i>	5
2.2 Enzim Protease Usus Ayam	7
2.3 Hidrolisis	9
2.4 Pigmen Karotenoid	10
2.5 Metode Ekstraksi Karotenoid	13
2.6 Karakterisasi Astaxanthin	13
BAB 3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Alat dan Bahan	15
3.2.1 Alat	15
3.2.2 Bahan	15
3.3 Diagram Alir	16
3.4 Prosedur Kerja	17
3.4.1 Preparasi Sampel Campuran Usus Ayam dan Udang	17
3.4.2 Preparasi Kontrol Udang	17
3.4.3 Hidrolisis enzimatis	17
3.4.4 Ekstraksi Astaxanthin	18
3.4.5 Uji Kuantitatif (Pengukuran Persentase Astaxanthin Yang Terekstrak	18
a. Pembuatan Kurva Larutan Standar Astaxanthin.	18

3,4,6 Kadar Air Udang	19
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Persentase Astaxanthin Yang Terekstrak	20
BAB 5. PENUTUP	28
5.1 Kesimpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	37



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi Kimia Udang <i>Vannamei</i>	6
2.2 Ekspor Udang dari Tahun 2010 Hingga Tahun 2014 di Indonesia	7
2.3 Jenis-Jenis Enzim Protease Pada Usus ayam	8
2.4 Kandungan Astaxanthin Dalam Berbagai Jenis Udang	13
2.5 Spektrum Cahaya Tampak dan Warna-Warna Komplementer.....	14
4.1 Persentase Astaxanthin Dalam Kontrol Udang.....	22
4.2 Persentase Astaxanthin Dalam Sampel (Udang+Usus)	22
4.3 Selisih Persentase Astaxanthin Terhadap Kekuatan Protease Yang Ditambahkan	25

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Anatomi Udang	6
2.2 Saluran Pencernaan Pada Ayam.....	8
2.3 Reaksi Hidrolisis Oleh Enzim Protease	10
2.4 Struktur Pigmen Karotenoid	11
2.5 Astaxanthin Yang Terikat Pada Matriks Protein	12
4.1 Profil Panjang Gelombang Maksimum Astaxanthin Dengan Pelarut Diklorometana.....	21
4.2 Profil Kurva Kalibrasi Larutan Astaxanthin Standar Pada Panjang Gelombang 473 nm.....	21
4.3 Mekanisme Pemutusan Ikatan Peptida Oleh Cathepsin D	23
4.4 Profil Persentase Astaxanthin Pada Setiap pH dan Waktu Inkubasi Pada Sampel dan Kontrol Udang	25

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1.1 Pembuatan Larutan Induk Astaxanthin	35
2.1 Data Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dengan Rentang 13 nm	36
3.1 Data Absorbansi Hasil Pengukuran Larutan Standar Astaxanthin	37
4.1 Data Absorbansi Astaxanthin Pada Sampel.....	38
4.2 Data Absorbansi Astaxanthin Pada Kontrol Udang.....	39
5.1 Hasil Analisis Konsentrasi Astaxanthin Pada Sampel	40
5.2 Hasil Analisis Konsentrasi Astaxanthin Pada Kontrol Udang.....	41
6.1 Berat Astaxanthin Dalam Sampel	43
6.2 Berat Astaxanthin Dalam Kontrol Udang	44
7.1 Persentase Astaxanthin Yang Terekstrak Pada Sampel	46
7.2 Persentase Astaxanthin Yang Terekstrak Pada Kontrol	47
8.1 Kadar Air Udang	50

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki banyak komoditas yang dapat digunakan untuk meningkatkan devisa negara. Komoditas tersebut salah satunya adalah perikanan. Menurut Natsir *et al* (2007) udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang banyak diminati karena memiliki gizi yang tinggi dan nilai ekonomisnya pada kegiatan ekspor. Udang *vannamei* dan udang windu merupakan jenis udang yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Udang tersebut masih menjadi komoditas andalan pada kegiatan ekspor. Volume ekspor udang Indonesia pada tahun 2015 untuk negara Amerika Serikat mencapai 140.940 ton dengan nilai sebesar US\$ 989.708.000 (BPS, 2017). Natsir *et al* (2007) menyatakan potensi ekspor udang di Indonesia setiap tahun meningkat dan hampir 90 % dalam kondisi beku tanpa kulit dan kepala. Pemanfaatan udang saat ini hanya sebatas sebagai sumber protein, bahan pangan, campuran ransum ternak dan sumber kitin (Ibrahim *et al.*, 1999). Cao *et al* (2008) menyatakan bahwa udang mempunyai senyawa aktif lain yang merupakan golongan karotenoid yakni astaxanthin.

Astaxanthin adalah pigmen golongan karotenoid yang strukturnya mirip dengan beta-karoten. Astaxanthin banyak ditemukan pada mikroalga, salmon dan golongan krsutacea dengan warna merah-oranye (Higuera *et al.*, 2006). Astaxanthin juga banyak digunakan dalam makanan, kosmetik dan juga campuran ransum hewan air. Rao dan Rao (2007) menyatakan bahwa karotenoid bermanfaat bagi kesehatan manusia karena karotenoid dapat mencegah aktivitas kanker paru-paru, kanker prostat, penyakit jantung, katarak dan juga infeksi HIV. Karotenoid mempunyai aktivitas sebagai antioksidan 100 kali lebih kuat dibandingkan dengan vitamin E (Shimidzu *et al.*, 1996)

Metode ekstraksi karotenoid telah banyak dilakukan. Ekstraksi karotenoid tersebut dilakukan secara kimiawi maupun enzimatis. Sachindra *et al* (2006) telah melakukan ekstraksi karotenoid dengan pelarut aseton dan menghasilkan rendemen 10,4-17,4 µg/g pada daging udang; 35,8-153,1 µg/g pada kepala dan juga 59,8-

104,7 $\mu\text{g/g}$ pada kulit udang. Babu *et al* (2008) juga telah melakukan ekstraksi karotenoid secara enzimatis dengan rendemen 75,7 -96,8 $\mu\text{g/g}$. Ekstraksi karotenoid secara kimiawi menggunakan pelarut membutuhkan bahan kimia yang banyak dan akan menghasilkan limbah cair yang berbahaya, sedangkan ekstraksi karotenoid secara enzimatis menggunakan enzim komersial akan memerlukan biaya yang mahal.

Penelitian ini akan dilakukan hidrolisis secara enzimatis menggunakan protease. Hidrolisis secara enzimatis selama ini telah banyak dilakukan oleh Holanda dan Netto (2006), Randriamahatody *et al* (2011), Jafari *et al* (2012), Jeddi *et al* (2013) dan Messina *et al* (2015) namun penelitian tersebut menggunakan enzim komersial sehingga pada penelitian ini protease yang digunakan didapatkan dari usus ayam. Usus ayam dipilih karena pemanfaatannya selama ini hanya menjadi produk olahan makanan dan juga limbah. Protease pada usus ayam berdasarkan penelitian Raju *et al* (1997) memiliki aktivitas enzimatis yang dapat digunakan untuk proses hidrolisis sebesar 75 %. Hidrolisis dilakukan untuk memecah peptida panjang yang berikatan dengan astaxanthin secara fisik menjadi peptida pendek, sehingga ekstraksi astaxanthin dapat dilakukan dengan mudah (Higuera *et al.*, 2006).

Proses hidrolisis secara enzimatis juga dipengaruhi oleh nilai pH dan waktu inkubasi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Rathina dan Mahendrakar (2010) tentang pengaruh pelarut organik dalam aktivitas protease usus ayam menunjukkan bahwa protease usus ayam yang bekerja pada pH 2,4 memiliki aktivitas sebesar 17 *units* dan pada pH 3,4 sebesar 14 *units*. Nilai pH optimum untuk protease usus ayam berdasarkan penelitian Raju *et al* (1997) adalah pada pH asam yakni 2,5 dengan nilai aktivitas 21,9 *units*. Hidrolisis menggunakan pH asam dibuat dengan mengkondisikan pH menggunakan asam fosfat. Asam fosfat dipilih karena asam fosfat termasuk dalam asam lemah. Asam fosfat merupakan asam yang aman untuk dikonsumsi pada makanan maupun minuman (BPOM, 2009). Hidrolisis yang dipengaruhi oleh waktu inkubasi berdasarkan penelitian (Cahú *et al.*, 2012) menyatakan bahwa rendemen astaxanthin yang didapatkan dengan waktu inkubasi 2 jam sebesar 83 mg/g . Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian ini

akan dianalisa secara kuantitatif persentase astaxanthin yang dapat diekstrak selama proses hidrolisis berlangsung.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang akan diteliti pada penelitian ini adalah :

Bagaimana pengaruh pH dan waktu inkubasi pada hidrolisis enzimatik udang terhadap persentase astaxanthin yang dapat diekstrak?

1.3 Tujuan

Tujuan pada penelitian ini adalah :

Mengetahui pengaruh variasi pH asam dan waktu inkubasi selama proses hidrolisis secara enzimatik pada udang terhadap persentase astaxanthin yang dapat diekstrak

1.4 Manfaat

Manfaat pada penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi tentang pengolahan dan pemanfaatan usus ayam sebagai sumber protease sehingga dapat meningkatkan nilai komoditi usus ayam.
2. Memberikan pengetahuan pada bidang organik dan biokimia tentang pengaruh variasi pH asam dan variasi waktu inkubasi selama proses hidrolisis secara enzimatik pada udang terhadap persentase astaxanthin yang dihasilkan

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah untuk penelitian kali ini adalah :

1. Tidak ada optimalisasi pH.
2. Tidak ada uji aktivitas enzim.
3. Sampel udang yang digunakan yakni keseluruhan bagian udang *vannamei* yang diambil pada Tambak Alam Citra Sarana Intam (Intensifikasi Tambak) Desa Pagar Carang Kec. Suboh Kabupaten Situbondo.
4. Sampel usus ayam yang digunakan yakni pada ayam pedaging usia 40 hari pada tempat pemotongan ayam di Tegal Besar Jember
5. Uji kuantitatif persentase astaxanthin yang terekstrak menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

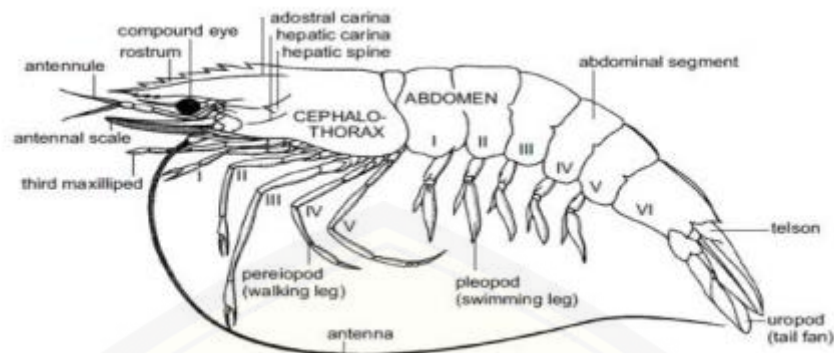
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*)

Udang *vannamei* merupakan organisme akuatik asli pantai barat pasifik Amerika Latin mulai dari Peru hingga Meksiko. Udang *vannamei* memiliki nama umum *Pacific white shrimp*, *camaron blanco*, dan *longastino*. Udang *vannamei* dapat tumbuh hingga 230 mm dan menyukai dasar yang berpasir dengan kedalaman sekitar 72 m dari permukaan laut. USDAITIS (1931) mengklasifikasikan taksonomi udang *vanname* sebagai berikut:

Filum	: <i>Anthropoda</i>
Kelas	: <i>Crustacea</i>
Subkelas	: <i>Eumalacostraca</i>
Ordo	: <i>Decapoda</i>
Subordo	: <i>Penaidae</i>
Genus	: <i>Panaeus</i>
Subgenus	: <i>Litopenaus</i>
Spesies	: <i>Vannamei</i>

Morfologi udang *vannamei* terdiri dari kepala yang bergabung dengan dada perut. Bagian kepala udang *vannamei* terdiri dari antenula, antenna, mandibula dan sepasang *maxillae*. Kepala udang ini juga dilengkapi dengan 5 pasang kaki jalan (periopod) yang terdiri dari 2 pasang *maxillae* dan 3 pasang *maxiliped*. *Maxillae* digunakan untuk berjalan sedangkan *maxiliped* digunakan untuk makan. Perut udang *vanname* terdiri dari 6 ruas dan terdapat 5 pasang kaki renang (pleopod) serta sepasang uropod (mirip ekor) yang membentuk kipas bersama-sama telson. Udang *vannamei* dapat hidup pada tempat gelap (Dall *et al.*, 1990). Anatomi tubuh udang dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Anatomi udang (Sucharitha dan Jyothi, 2013)

Udang *vannamei* mengandung beberapa senyawa kimia dengan kadar tertentu. Komposisi kimia pada udang *vannamei* dapat dilihat pada table 2.1 dibawah ini.

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Udang *Vannamei*

Parameter	Jumlah %
Protein	35,69
Lemak	19,0
Moisture	81
Abu	1,2
Karbohidrat	3,20

(Sumber : Gunalan *et al.*, 2013)

Udang *vannamei* jumlah produksi setiap tahunnya mengalami peningkatan. Hal ini menyebabkan limbah udang *vannamei* juga semakin banyak. Limbah yang dihasilkan berupa kulit dan kepala udang. Hal ini dikarenakan kegiatan ekspor udang *vannamei* hampir 90% hanya memanfaatkan bentuk beku tanpa kulit dan kepala. Limbah tersebut disebut dengan *bio-waste*. Limbah kulit udang menurut Natsir *et al* (2017) mengandung 30-50% kalsium karbonat, dan 20-30% kitin. Berikut ini merupakan data ekspor udang *vannamei* tahun 2010 hingga 2014 dapat dilihat pada tabel 2.2.

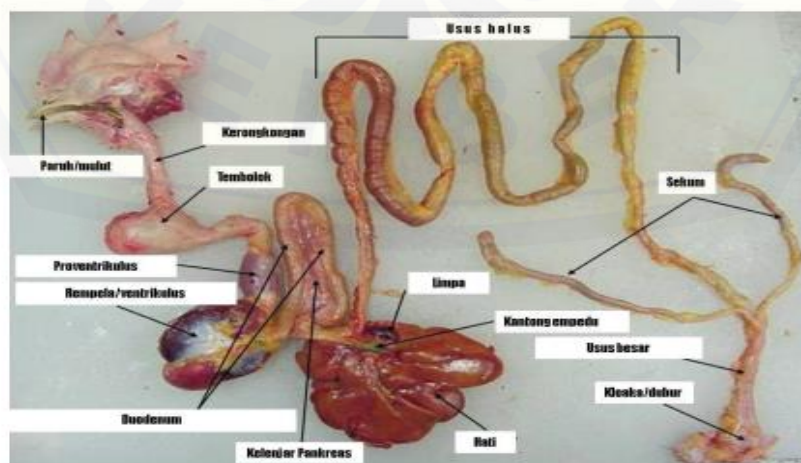
Tabel 2.2 Ekspor Udang dari Tahun 2010 hingga tahun 2014 di Indonesia

Komoditas	Jumlah per Tahun (Kg)					Kenaikan rata-rata (%)
	2010	2011	2012	2013	2014	
Volume Produksi						
Udang Windu	125,519	126,157	117,888	171,583	126,595	3,32
Udang <i>Vannamei</i>	206,578	246,420	251,763	390,278	411,729	20,49
Udang lainnya	48,875	28,577	46,052	77,094	53,895	14,23
Volume Ekspor						
Udang	145,092	158,062	162,068	162,410	141,042	0,37

(Sumber : Dirjen Perikanan Budidaya, 2014).

2.2 Enzim Protease dari Usus Ayam

Sistem pencernaan merupakan rangkaian proses yang terjadi di dalam saluran pencernaan ayam untuk memanfaatkan nutrisi dari pakan yang diperlukan tubuh untuk hidup, beraktivitas, berproduksi dan bereproduksi. Saluran pencernaan pada ayam terdiri dari berbagai macam organ yang berfungsi untuk memecah pakan yang masuk ke saluran pencernaan, menyerap zat gizi yang dibutuhkan dan membuang sisa yang tidak dapat dicerna (Jacob *et al.*, 2015). Saluran pencernaan pada unggas dibagi menjadi beberapa bagian yaitu mulut, kerongkongan, tembolok, *proventriculus*, *ventriculus*, usus halus, seka, usus besar, dan kloaka dilengkapi dengan organ tambahan yakni hati dan pankreas (Georgaki, 2014). Berikut ini merupakan organ pencernaan pada ayam dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Saluran pencernaan pada ayam (Jacob *et al.*, 2015).

Metabolisme pencernaan ayam mengalami beberapa tahapan dan salah satu tahapan tersebut terjadi pada usus halus. Usus halus terdiri dari tiga bagian yaitu duodenum atau bagian yang paling dekat dengan empela, kemudian ada jejunum dan ileum. Makanan yang berada di usus halus ayam dicerna dengan bantuan getah pankreas yang mengandung enzim amilase, lipase dan protease (Svihus, 2014).

Enzim memiliki kemampuan mengurai suatu molekul mulai dari 10 ribu hingga 1 juta substrat per menit. Enzim protease merupakan suatu kelompok protein yang berfungsi dalam proses aktivitas biologis (Lehninger *et al.*, 2008). Enzim protease dari usus ayam dapat dijadikan sebagai agen penghidrolisis ikatan peptida pada molekul protein agar menghasilkan peptida yang lebih pendek. Enzim ini akan berperan dalam mengkatalis reaksi-reaksi hidrolisis yaitu reaksi yang melibatkan unsur air pada ikatan spesifik substrat (Tavano, 2013). Raju *et al* (1997) menyatakan bahwa sekitar 75 % aktivitas enzim protease ditemukan di usus ayam. Berikut ini merupakan kandungan enzim protease pada usus ayam dengan nilai pH optimumnya dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Jenis-jenis enzim protease pada usus ayam

Jenis enzim protease	pH optimum
Cathepsin D	pH asam 2,5
Cathepsin B	pH basa 6,0
Cathepsin L	pH basa 6,8
Cathepsin H	pH basa 5,5

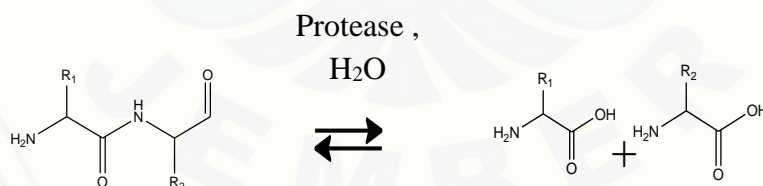
(Sumber : Jamdar dan Harikumar, 2005)

Enzim protease banyak terlibat dalam sejumlah industri besar seperti industri deterjen, industri kulit, industri makanan, industri farmasi dan juga proses koagulasi darah (Rao *et al.*, 1998). Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu dan pH. Suhu yang semakin tinggi dapat mempercepat terjadinya reaksi kimia dan juga mempercepat reaksi yang dikatalis enzim, tetapi kenaikan suhu dapat mempengaruhi struktur enzim sehingga terjadi inaktivasi (Lehninger *et al.*, 2008).

2.3 Hidrolisis

Hidro dalam bahasa Yunani berarti air dan *lisis* artinya membuka. Hidrolisis dapat diartikan sebagai pemecahan suatu molekul menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan air (Chang, 2010). Hidrolisis secara umum dibagi menjadi 3 macam yaitu hidrolisis asam, hidrolisis basa dan juga hidrolisis garam. Hidrolisis asam biasanya menggunakan asam sebagai katalisnya. Air pada hidrolisis asam dapat bertindak sebagai asam maupun basa, tergantung pada teori asam-basa *bronsted-lowry*. Air akan mendonorkan proton jika bertindak sebagai asam dan akan menerima proton jika bertindak sebagai basa. Reaksi yang terjadi pada hidrolisis basa hampir sama dengan reaksi disosiasi basa. Hidrolisis garam akan terjadi penguraian suatu senyawa dalam air membentuk ion-ion. Hidrolisis garam biasanya akan mempengaruhi nilai pH (Chang, 2010).

Hidrolisis yang terjadi pada makhluk hidup akan membutuhkan enzim sebagai katalisnya. Enzim ini akan menghidrolisis protein, lemak dan juga karbohidrat. Enzim sebagai katalis memiliki beberapa keuntungan yakni selektivitasnya yang tinggi, mudah untuk dipisahkan, tidak menimbulkan polusi (Lehninger *et al.*, 2008). Protease merupakan enzim yang banyak digunakan untuk katalis. Enzim ini akan memecah ikatan peptida pada protein. Berikut ini merupakan reaksi hidrolisis yang melibatkan protease dapat dilihat pada reaksi 2.3.

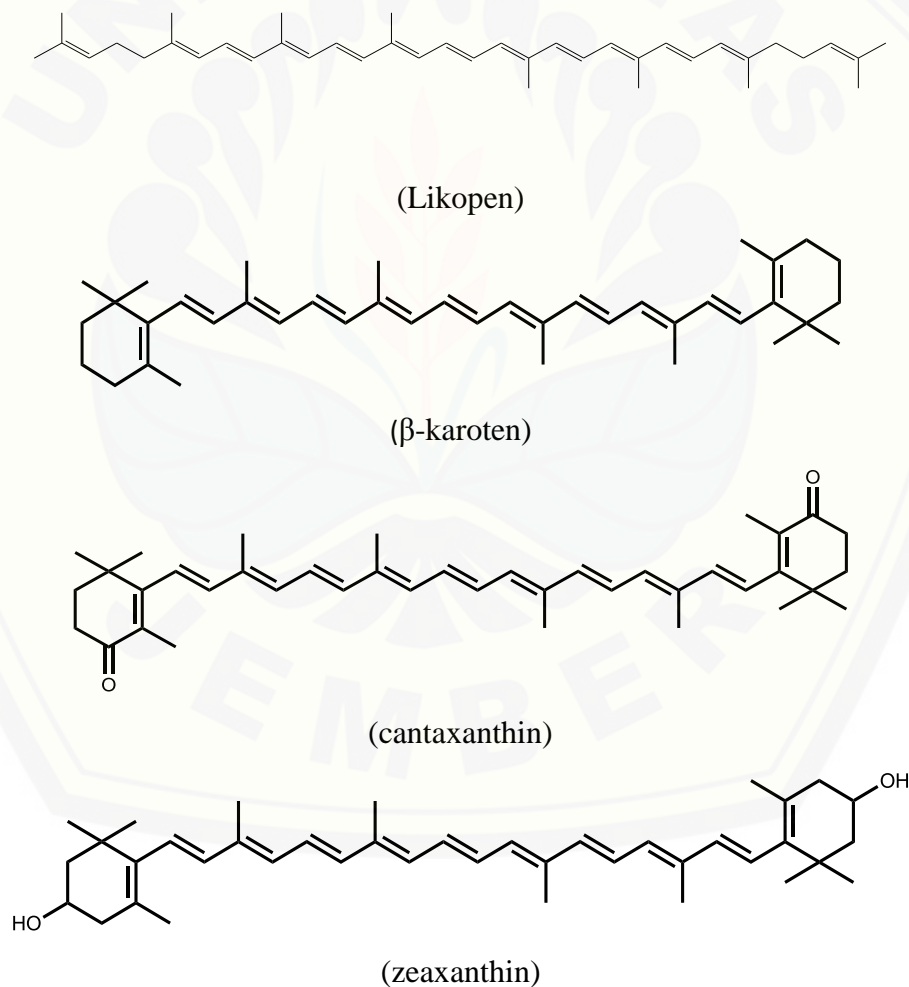


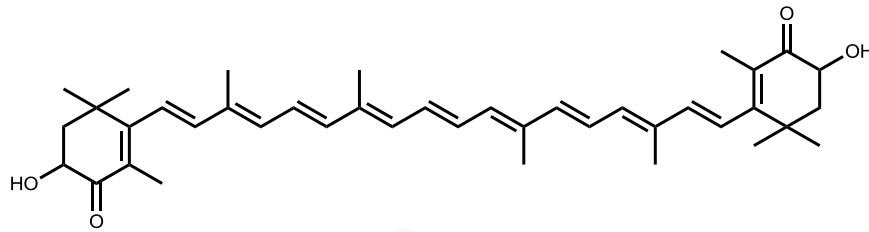
Gambar 2.3 Reaksi hidrolisis yang melibatkan protease ((Lehninger *et al.*, 2008).

2.4 Pigmen Karotenoid

Karotenoid merupakan pigmen yang banyak tersebar di alam dan ditemukan baik di tanaman maupun hewan. Pigmen ini dapat ditemukan pada ikan, krustasea,

sayur dan juga buah. Warna-warna yang dihasilkan dari pigmen karotenoid ini bermacam-macam mulai dari biru hingga merah (Shuaith, 2015). Warna yang timbul pada golongan karotenoid disebabkan karena adanya ikatan rangkap terkonjugasi pada molekulnya. Jenis pigmen karotenoid ini terdiri dari beberapa jenis diantaranya likopen, β -karoten, cantaxanthin, zeaxanthin dan juga astaxanthin. Hal ini dikarenakan karotenoid dapat mengalami reaksi kimia dan menghasilkan turunan dengan sifat kimia yang masih sama (Rodriguez *et al.*, 2006). Berikut ini merupakan struktur pigmen yang ada pada golongan karotenoid dapat dilihat pada Gambar 2.4.



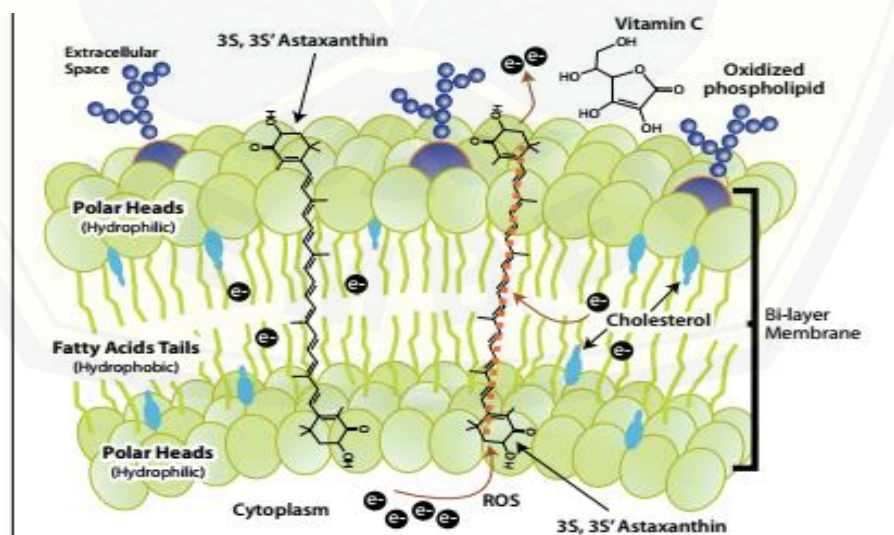


(astaxanthin)

Gambar 2.4. Struktur Pigmen Karotenoid (Delgado *et al.*, 2000).

Astaxanthin merupakan senyawa kimia yang banyak ditemukan pada salmon, mikroalga dan golongan krustasea. Senyawa tersebut merupakan golongan protein karotenoid yang digunakan sebagai pigmen kulit berwarna merah-oranye (Guerin *et al.*, 2003). López *et al* (2006) menyatakan bahwa astaxanthin merupakan senyawa hasil oksidasi dari β -karoten. Astaxanthin memiliki rantai molekul (3,3-dihidroksi,karoten-4,4-dion).

Astaxanthin dengan protein tidak berikatan namun hanya berinteraksi secara fisik, dimana terjadi gaya antar molekul antara astaxanthin dengan molekul protein. Astaxanthin yang berinteraksi dengan protein disebut dengan (*carotenoproteins*). Protein tersebut adalah β -*crustacyanin* (Chayen *et al.*, 2003). Berikut ini merupakan gambar bagaimana astaxanthin berikatan dengan protein yang dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Astaxanthin yang terikat pada matriks protein (Pashkow *et al.*, 2008).

Berdasarkan gambar tersebut menjelaskan bahwa astaxanthin merupakan molekul yang bersifat polar. Hal ini dapat dilihat dari gugus hidroksil dan keton pada cincin

dalam molekul astaxanthin yang terikat pada bagian hidrofil membran, sedangkan bagian isopren menempel pada bagian hidrofobik dari membran dan bersifat non polar (Pashkow *et al.*, 2008).

Astaxanthin digunakan secara komersial untuk sumber pigmen pada suplemen makanan hewan air, pewarna makanan alami, dan juga digunakan untuk kosmetik yakni memperbaiki struktur jaringan kolagen untuk memberikan kulit muda dan elastis (Tominaga *et al.*, 2017). Astaxanthin dalam bidang farmasi digunakan sebagai suplemen kesehatan. Astaxanthin dapat mencegah kelelahan mata, diabetes, mempertajam penglihatan dan meningkatkan daya tahan otot (Hussein *et al.*, 2006). Park *et al.* (2010) menyatakan bahwa astaxanthin diketahui memiliki manfaat seperti menurunkan stress oksidatif.

Astaxanthin memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, bahkan astaxanthin memiliki kekuatan antioksidan sampai 10 kali lebih kuat apabila dibandingkan dengan β -karoten (Saleha dan Murniana, 2009). Astaxanthin juga dapat mencegah aktivitas kanker, karena dapat menekan pertumbuhan kanker dan meningkatkan daya tahan tubuh untuk melawan antigen (Chew *et al.*, 1999). Berikut ini merupakan tabel kandungan astaxanthin dalam berbagai jenis udang dapat dilihat pada tabel 2.4 berikut.

Tabel 2.4 Kandungan Astaxanthin dalam Berbagai Jenis Udang

Jenis Udang	Astaxanthin mg/g
<i>Pandalus borealis</i>	51,8
<i>Pennaeus monodon</i>	17,0
<i>Pennaeus semisulcatus</i>	184,58
<i>Litopenaeus Vannamei</i>	83

(Sumber : Lee *et al.*, 1999, Babu *et al.*, 2008, Sadighara *et al.*, 2015 dan Cahu *et al.*, 2012).

2.5 Metode Ekstraksi Karotenoid (Astaxanthin)

Ekstraksi karotenoid merupakan suatu proses untuk memperoleh karotenoid dari bahan yang diduga mengandung karotenoid, seperti udang dan juga mikroalga. Karotenoid dalam kulit udang merupakan senyawa kompleks yang berikatan secara nonkovalen dengan protein (Gimeno *et al.*, 2007). Ekstraksi karotenoid dengan berbagai variasi metode telah banyak dilakukan seperti menggunakan bakteri

(Khanafari *et al.*, 2007), minyak sayur oleh (Kouchi *et al.*, 2012), pelarut kimia oleh Sachindra (2005), *high pressure extraction* (HPE) (Li *et al.*, 2016) dan juga ekstraksi menggunakan superkritikal karbondioksida oleh (Lopez, 2004).

Lee *et al* (1999) menyatakan bahwa ekstraksi menggunakan minyak akan mengandung banyak asam lemak tak jenuh didalamnya sehingga tidak baik untuk kesehatan. Ekstraksi karotenoid menggunakan enzim berguna untuk memutus ikatan peptida menggunakan enzim protease sehingga dapat diperoleh karotenoid bebas. Ekstraksi menggunakan enzim dan menghasilkan rendemen sebesar 73,21% telah dilakukan oleh Sowmya *et al* (2014) Ekstraksi secara enzimatik ini tidak menghasilkan residu yang berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan.

2.6 Karakterisasi Astaxanthin

2.6.1 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan gabungan antara spektrofotometri UV dan visibel yang menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda, meskipun pada alat yang lebih canggih sudah menggunakan satu sumber sinar yaitu *photodiode*. Penentuan konsentrasi analit pada spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada absorpsi radiasi elektromagnetik ultraviolet pada 200-400 nm dan sinar tampak pada panjang gelombang 400-780 nm. Persamaan Lambert-Beer digunakan untuk mengkonversi absorbansi ke konsentrasi (Skoog *et al.*, 2014). Berikut ini merupakan persamaan Lambert-Beer :

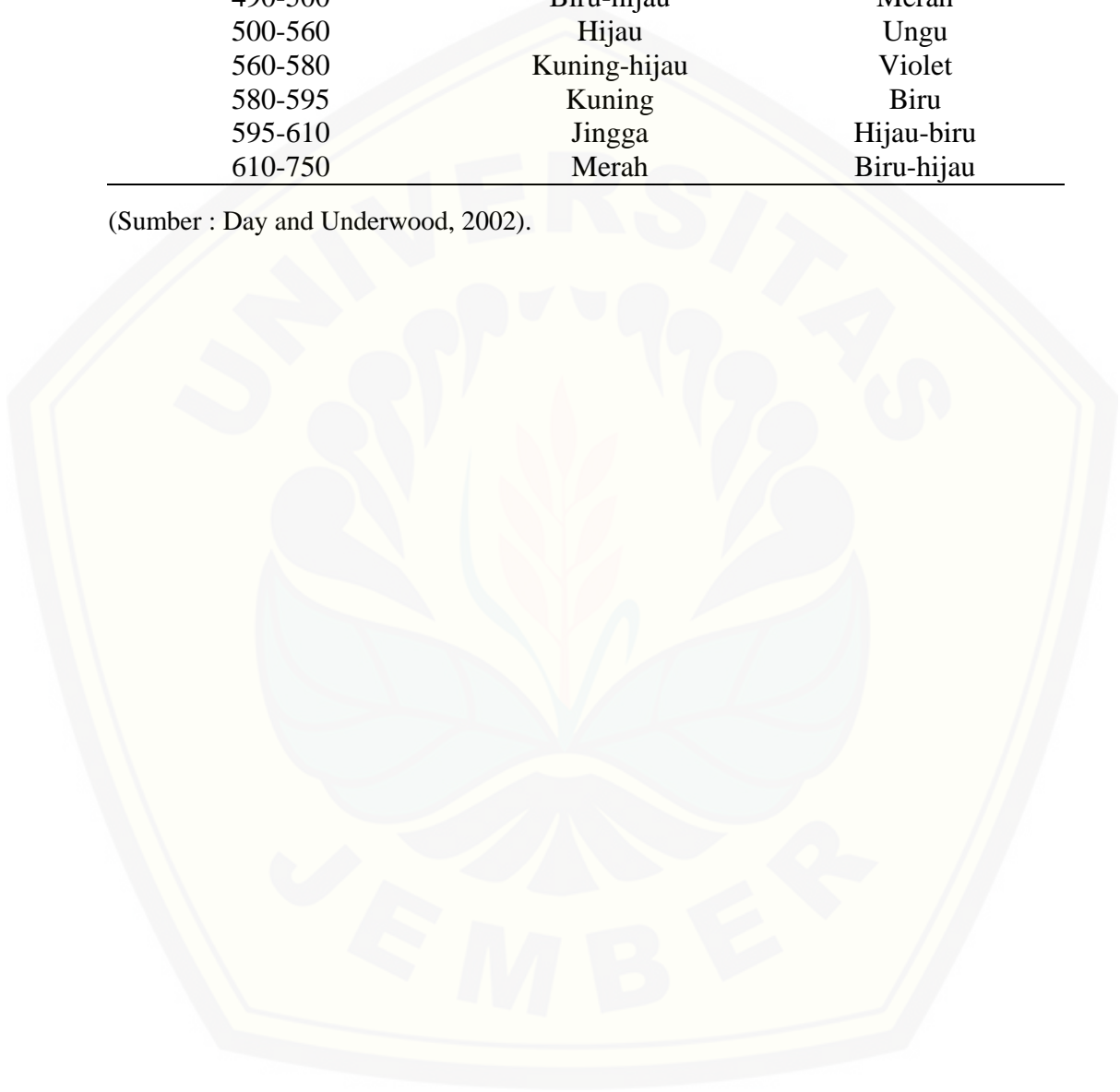
$$A = \epsilon bC \quad 2.1$$

Absorbansi analit dituliskan dengan A, ϵ merupakan absorptivitas molar ($\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) b merupakan ketebalan kuvet dan C merupakan konsentrasi dalam molaritas. Berikut ini merupakan tabel spektrum cahaya tampak dan warna-warna komplementer pada spektrofotometer visibel yang dapat dilihat pada tabel 2.5.

Tabel 2.5. Spektrum Cahaya Tampak dan Warna-Warna Komplementer

Panjang Gelombang (nm)	Warna yang diabsorp	Warna komplementer
400-435	Violet	Kuning-hijau
435-480	Biru	Kuning
480-490	Hijau-biru	Jingga
490-500	Biru-hijau	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Kuning-hijau	Violet
580-595	Kuning	Biru
595-610	Jingga	Hijau-biru
610-750	Merah	Biru-hijau

(Sumber : Day and Underwood, 2002).



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2018 hingga Desember 2018 bertempat di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

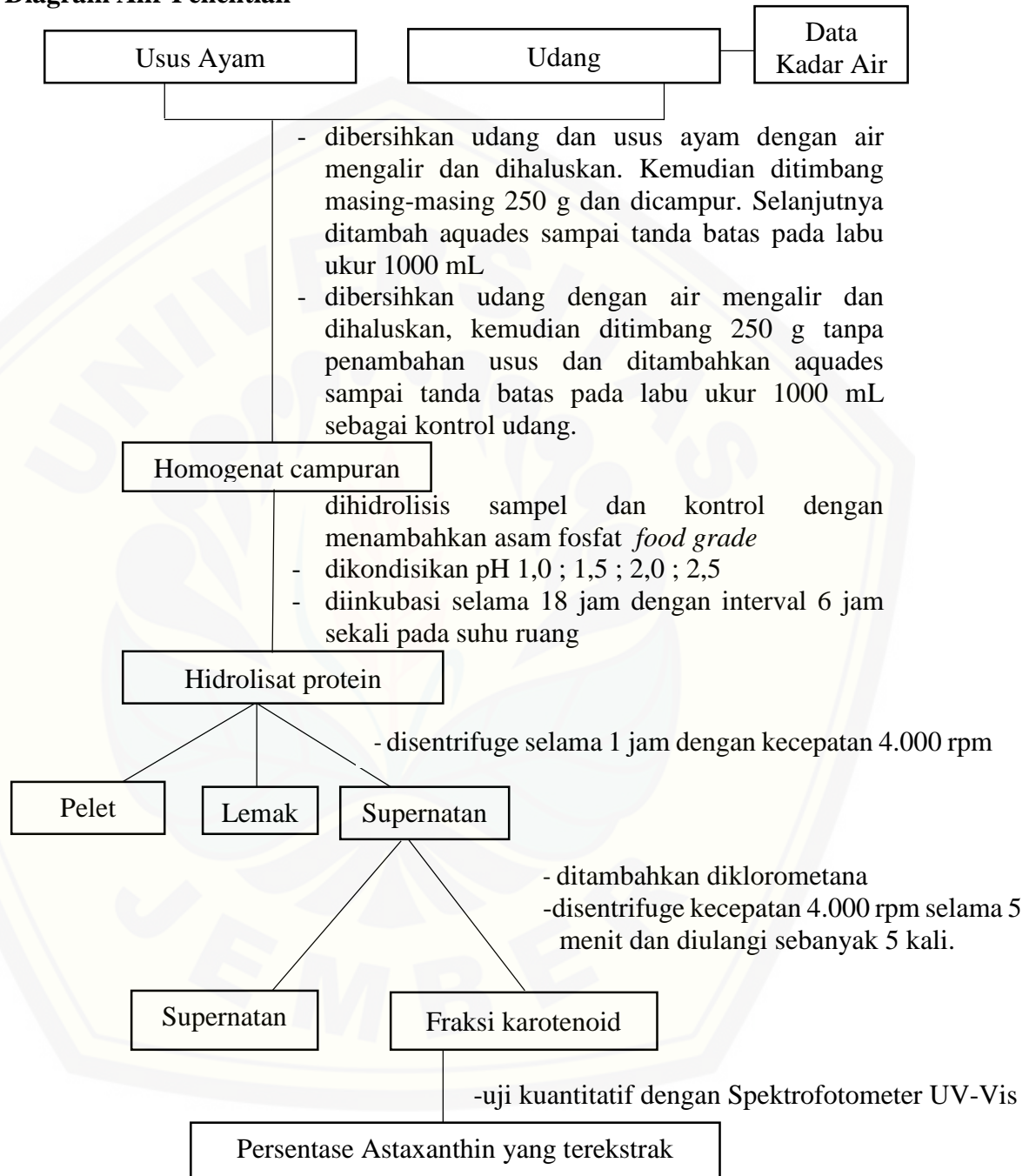
3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Sentrifuge, Blender, Gelas Beaker, Batang Pengaduk, Gelas arloji, Labu ukur 1000 mL, 100 mL dan 10 mL, pipet tetes, pipet mohr, pisau, loyang, botol semprot, Lutron pH Meter (Soil pH Meter pH-212), oven, lemari pendingin, neraca analitis, Spektrofotometer UV-VIS Thermo Genesys

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah udang, usus ayam, asam fosfat *food grade*, diklorometana, *astaxanthin force 6*, tisu, dan aluminium foil, aquades.

3.3 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi sampel campuran usus ayam dan udang

Usus ayam kotor yang diambil dari tempat pemotongan ayam dibersihkan dari kotorannya dengan air yang mengalir, sehingga diperoleh usus ayam bersih. Usus ayam tersebut kemudian diblender sehingga diperoleh bubur usus ayam. Bubur yang dihasilkan diambil sebanyak 250 gram. Selanjutnya dibersihkan udang dari kotorannya dengan air mengalir, sehingga diperoleh udang bersih. Udang tersebut kemudian diblender sehingga diperoleh bubur udang. Bubur yang dihasilkan diambil sebanyak 250 gram. Kemudian bubur usus ayam dan bubur udang dicampur. Langkah selanjutnya campuran tersebut ditambahkan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 1000 mL. Homogenat campuran sampel sebesar 232 gram diletakkan dalam 4 wadah inkubasi (pH 1,0 ; pH 1,5 ; pH 2,0 ; pH 2,5). Kemudian diukur masing-masing pH awal dari homogenat tersebut.

3.4.2 Preparasi kontrol udang

Udang dihilangkan kotorannya dan dicuci hingga bersih. Proses selanjutnya udang bersih tersebut diblender sehingga diperoleh bubur udang. Bubur udang tersebut ditimbang massanya sebanyak 250 gram. Kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 1000 mL. Homogenat kontrol udang sebesar 227 gram diletakkan dalam 4 wadah inkubasi (pH 1,0 ; pH 1,5 ; pH 2,0 ; pH 2,5). Kemudian diukur masing-masing pH awal dari homogenat tersebut.

3.4.3 Hidrolisis enzimatis

Sampel dan kontrol untuk masing-masing pH diambil sebanyak tiga kali dengan berat 5,40 gram dan dicatat sebagai waktu inkubasi 0 jam. Selanjutnya masing-masing wadah inkubasi dihidrolisis dengan menambahkan asam fosfat *food grade* dan dikondisikan pH menjadi 1,0 ; 1,5 ; 2,0 ; 2,5. Hidrolisat hasil inkubasi 0,

6, 12, 18 jam disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 1 jam. Supernatan yang dihasilkan diekstraksi dengan diklorometana.

3.4.5 Ekstraksi astaxanthin (Agustini, 2017)

Ekstraksi dilakukan pada supernatan dengan menambahkan 5 mL diklorometana. Lalu disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Sentrifugasi menghasilkan 2 fasa yakni supernatan pada bagian atas dan fraksi karotenoid pada bagian bawah. Fraksi karotenoid dipisahkan dan disimpan. Proses ekstraksi diulangi sebanyak 5 kali pada supernatan, masing-masing pengulangan ditambah 5 mL diklorometana. Fraksi karotenoid hasil pengulangan dikumpulkan lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Fraksi karotenoid mengandung astaxanthin.

3.4.6 Uji kuantitatif (pengukuran persen astaxanthin yang tereskrak)

a. Pembuatan Kurva Larutan Standar Astaxanthin

Sebanyak 5 mg astaxanthin dilarutkan dalam 0,1 L diklorometana sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk 50 ppm. Dibuat larutan standar dengan konsentrasi 0,0 ; 2,0 ; 4,0 ; 6,0 ; 8,0 dan 10 ppm. Dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum sebelum pembuatan kurva kalibrasi. Larutan astaxanthin dengan konsentrasi 6,0 ppm diukur masing-masing absorbansinya pada panjang gelombang 400-550 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan cara mengukur masing-masing absorbansi larutan standar dan diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh. Data absorbansi yang diperoleh selanjutnya dibuat persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear tersebut digunakan untuk pengukuran kadar astaxanthin pada sampel dan kontrol udang.

3.4.7 Kadar Air Udang (AOAC, 2005)

Cawan yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105°C. Cawan didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air

dan ditimbang (A). Sampel udang dan usus ditimbang sebanyak 5 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B). Kemudian dioven pada suhu 100-105°C selama 6 jam. Sampel didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang (C). Tahap ini diulangi hingga didapatkan bobot yang konstan. Penentuan kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut.

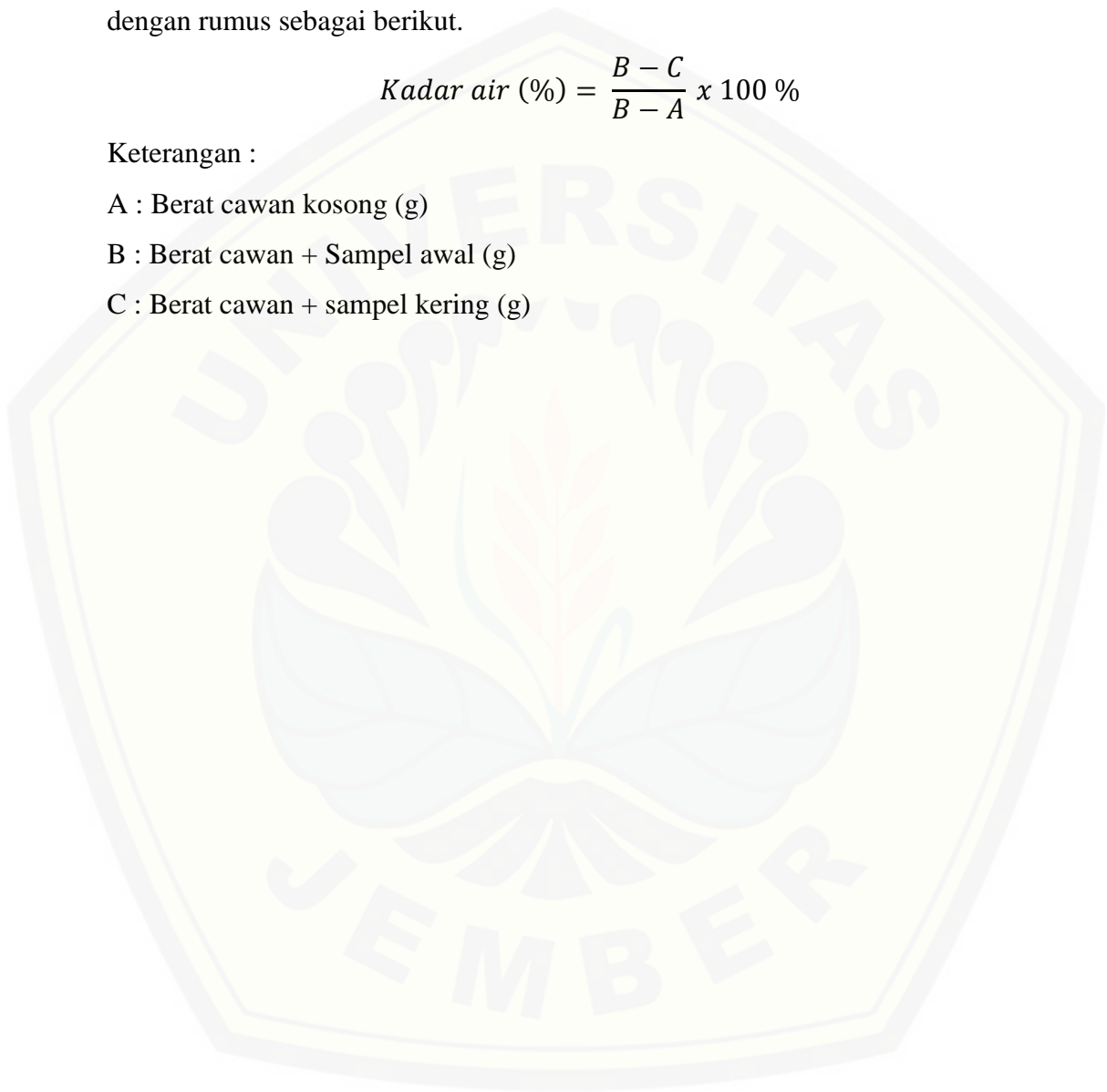
$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B - C}{B - A} \times 100 \%$$

Keterangan :

A : Berat cawan kosong (g)

B : Berat cawan + Sampel awal (g)

C : Berat cawan + sampel kering (g)



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat diambil kesimpulan yaitu sebagai berikut :

Persentase astaxanthin yang dapat diekstrak selama hidrolisis secara enzimatis menggunakan protease usus ayam dipengaruhi oleh pH dan waktu inkubasi. Semakin besar nilai pH dan waktu inkubasi maka persentase astaxanthin yang dapat diekstrak semakin besar. Nilai pH terbaik untuk proses hidrolisis secara enzimatis menggunakan protease usus ayam yakni pada pH 2,5

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang berapa perbandingan komposisi usus dan udang yang harus ditambahkan agar proses hidrolisis secara enzimatis dapat berjalan lebih maksimal lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists 18th Edition. USA : AOAC International.
- Agustini, N. W. S. (2017). Kemampuan Pigmen Karoten Dan Xantofil Mikroalga *Porphyridium Crunetum* Sebagai Antioksidan Pada Domba. *Informatika Pertanian*, 26(1), 1–12.
- Aulia, E. 2018. Degradasi Autolisis Pada Usus Ayam. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.
- Babu, C. M., R. Chakrabarti, dan K. R. S. Sambasivarao. 2008. Enzymatic isolation of carotenoid-protein complex from shrimp head waste and its use as a source of carotenoids. *LWT - Food Science and Technology*. 41(2): 227–235.
- BPOM. 2009. Pengawasan Pemasukan Bahan Kemasan Pangan. Jakarta : Badan Pengawan Obat Dan Makanan RI.
- BPS.2017. Ekspor Udang Menurut Negara Tujuan Utama Tahun 2000-2015. <https://www.bps.go.id/statictable/2014/09/08/1015/ekspor-udang-menurut-negara-tujuan-utama-2000-2015.html>. Diakses pada 1 Januari 2018.
- Cao, W., C. Zhang, P. Hong,. dan H. Ji. 2008. Response surface methodology for autolysis parameters optimization of shrimp head and amino acids released during autolysis. *Food Chemistry*. 109(1): 176–183.
- Cahú, T. B., S. D. Santos, A. Mendes., C. R. Córdula, S. F. Chavante, L. Carvalho, R. S. Bezerra. 2012. Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. *Process Biochemistry*. 47(4): 570–577.

Chayen, N. E., Cianci, M., Grossmann, J. G., Habash, J., Helliwell, J. R., Nneji, G. A., Zagalsky, P. F. 2003. Unravelling the structural chemistry of the colouration mechanism in lobster shell. *Acta Crystallographica. Section D, Biological Crystallography*, 59(Pt 12): 2072–2082.

Chang, R. (2010). *Chemistry* (10th ed). Boston: McGraw-Hill.

Chew, B. P., J. S. Park, M. W. Wong, dan T. S. Wong. 1999. A comparison of the anticancer activities of dietary beta-carotene, canthaxanthin and astaxanthin in mice in vivo. *Anticancer Research*. 19(3A): 1849–1853.

Dall, W., J. Hill, P. C. Rothlisberg, D. J. Sharples, J. H. Blaxter, dan A. J. Southward. 1990. *Advances in marine biology* : Academic Press.

Day, R. A. dan A. L. Underwood. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam*. Jakarta: Erlangga.

De Holanda, H. D., & Netto, F. M. 2006. Recovery of Components from Shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) Processing Waste by Enzymatic Hydrolysis. *Journal of Food Science*, 71(5), C298–C303.

Delgado V.F., A. R. Jiménez, dan O. P. López. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains--characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40(3): 173–289.

Eakpetch, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Kijroongrojana, K. (2008). Autolysis of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Meat: Characterization and the Effects of Protein Additives. *Journal of Food Science*. 73(2): S95–S103.

Georgaki, A. 2014. A review of the gross anatomy of the chicken. *Veterinary Nursing Journal*. 29(3): 95–99.

- Gimeno, M., J. Y. Hernández, C. M. Ibarra, N. Pacheco, R. García-Arrazola, E. Bárzana, dan K. Shirai. 2007. One-solvent extraction of astaxanthin from lactic acid fermented shrimp wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(25): 10345–10350.
- Guerin, M., M. E. Huntley, dan M. Olaizola. 2003. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology*. 21(5) : 210–216.
- Gunalan, B., P. Soundarapandian, dan T. Anand. 2013. Nutritive value of cultured white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*. 5(7): 166–171.
- Higuera-Ciapara, I., L. F. Valenzuela, dan F. M. Goycoolea. 2006. Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46(2): 185–196.
- Honda, M., Kodama, T., Kageyama, H., Hibino, T., diono, W., Kanda, H., & Goto, M. 2018. Enhanced solubility and reduced crystallinity of carotenoids, β -carotene and astaxanthin, by *Z*-isomerization: Physicochemical properties of *E*/*Z* carotenoid isomers. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 120 : 1800191.
- Huang, D., B. Ou dan R. L. Prior. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(6): 1841–1856.
- Hussein, G., U. Sankawa, H. Goto, K. Matsumoto, dan H. Watanabe. 2006. 06). Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition. *Journal of Natural Products*. 69(3): 443–449.

- Ibrahim, H. M., M. F. Salama, dan H. A. El-Banna. 1999. Shrimp's waste: Chemical composition, nutritional value and utilization. *Food / Nahrung*. 43(6): 418–423.
- Jacob, J., T. Pescatore, dan A. Cantor. 2015. Avian digestive system. *University of Kentucky, College of Agriculture Food and Environment*.
- Jamdar, S. N., dan P. Harikumar. 2005. Autolytic degradation of chicken intestinal proteins. *Bioresource Technology*. 96(11): 1276–1284.
- Jeddi, M. Z., Khaniki, G. J., & Sadighara, P. 2013. Optimization of extraction of carotenoids from shrimp waste. *Global Veterinaria*, 10(6), 636–637.
- Khanafari, A., A. Saberi, M. Azar, G. Vosooghi, S. Jamili dan B. Sabbaghzadeh. 2007. Extraction of Astaxanthin Esters From Shrimp Waste By Chemical And Microbial Methods. 4(2): 93–98.
- Kouchi, H. H., Shabanpour, B., dan Nasab, M. M. 2012. Ekstraksi of Carotenoid From crustacean Waste With Vegetable Oils. The 1th International and The 4th National Congress On Recycling of Organic Waste in Agriculture.
- Lee, S. H., S. K. Roh, K.H. Park, dan K. R. Yoon. 1999. Effective extraction of astaxanthin pigment from shrimp using proteolytic enzymes. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 4(3): 199–204.
- Lehninger. 1997. Dasar-Dasar Biokimia. Jilid I. Jakarta: Erlangga.
- Li, J., W. Sun, H. S. Ramaswamy, Y. Yu, S. Zhu, J. Wang dan H. Li. 2017. High Pressure Extraction of Astaxanthin from Shrimp Waste (*Penaeus Vannamei* Boone): Effect on Yield and Antioxidant Activity: High Pressure Extraction of Astaxanthin from Shrimp Waste. *Journal of Food Process Engineering*. 40(2): e12353.

- Lopez, M. 2004. Selective extraction of astaxanthin from crustaceans by use of supercritical carbon dioxide. *Talanta*. 64(3): 726–731.
- Marciniszyn, J., Jean, J.R., Jean, A., Harstuck., Tang, J. 1976. The Selectivity of CathepsinD Suggests an Involvementof the Enzyme in the Generationof T-cell Epitopes. *The Journal Biological Chemistry*. 264(24): 14159-14164.
- Masidi, T., Herdyastuti, N. 2017. Karakterisasi Kitosan Dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara Granosa*). *UNESA Journal Of Chemistry*. 6(3), 137-142.
- Messina, C., Renda, G., Randazzo, M., Laudicella, A., Gharbi, S., Pizzo, F., Santulli, A. 2015. Extraction Of Bioactive Compounds From Shrimp Waste. *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô*, 42, 27–29.
- Moghadam Jafari, A., Gharibi, S., Farjadmand, F., & Sadighara, P. 2012. Extraction of shrimp waste pigments by enzymatic and alkaline treatment: evaluation by inhibition of lipid peroxidation. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 14, 411–413.
- Natsir, H., Dali, S., Jawahir, B., & Aziz, F. 2007. Konversi Kitin dari Limbah Udang Api-api (*Metapenaeus monoceros*) Menjadi Senyawa Kitosan Secara Enzimatis. *J. Marina Chemica Acta*. Edisi Khusus Seminar Nasional FK3TI: 82–89.
- Noort, J.M.V., Van der drift, A.C.M. 1989. The Selectivity of CathepsinD Suggests an Involvementof the Enzyme in the Generationof T-cell Epitopes. *The Journal Biological Chemistry*. 264(24): 14159-14164.
- Park, J. S., J. H. Chyun, Y. K. Kim, L. L. Line dan B. P. Chew. 2010. Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. *Nutrition & Metabolism*. 7: 18.

- Pashkow, F. J., Watumull, D. G., & Campbell, C. L. 2008. Astaxanthin: A Novel Potential Treatment for Oxidative Stress and Inflammation in Cardiovascular Disease. *The American Journal of Cardiology*. 101(10), S58–S68.
- Raju, A. A., C. Rose dan N. M. Rao 1997. Enzymatic hydrolysis of tannery fleshings using chicken intestine proteases. *Animal Feed Science and Technology*. 66(1–4): 139–147.
- Randriamahatody, Z., Sylla, K. S. B., Nguyen, H. T. M., Donnay-Moreno, C., Razanamparany, L., Bourgougnon, N., & Bergé, J. P. 2011. Proteolysis of shrimp by-products (*Peaneus monodon*) from Madagascar Proteólisis de derivados de langostino (*Peaneus monodon*) de Madagascar. *CyTA - Journal of Food*, 9(3), 220–228.
- Rao, A. V., dan L.G Rao. 2007. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*. 55(3): 207–216.
- Rao, M. B., A. M. Tanksale, M. S. Ghatge dan V. Y. Deshpande. 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62(3): 597–635.
- Rathina Raj, K., dan N. S. Mahendrakar. 2010. Effect of ensiling and organic solvents treatment on proteolytic enzymes of layer chicken intestine. *Journal of Food Science and Technology*. 47(3): 320–324.
- Robinson, P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in biochemistry*, 59, 1–41.
- Rodriguez-Amayal, D. B., E. B. Rodriguez dan J. A. Farfan. 2006. Advances in food carotenoid research: chemical and technological aspects, implications in human health. *Malaysian Journal of Nutrition*. 12(1): 101–121.

Sachindra, N. M., N. Bhaskar dan N. S. Mahendrakar. 2006. Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. *Waste Management*. 26(10): 1092–1098.

Sadighara, P., H. T. Moghadam, S. Eskandari dan A. Salehi. 2015. Optimization of extraction of chitosan and carotenoids from shrimp waste. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 2: 51–54.

Saleha dan Murniana. 2009. Aktivitas Antioksidan Astaxanthin Dari Limbah Kulit Udang. Aceh : Universitas Syiah Kuala.

Senphan, T., S. Benjakul dan H. Kishimura. 2014. Characteristics and antioxidative activity of carotenoprotein from shells of Pacific white shrimp extracted using hepatopancreas proteases. *Food Bioscience*. 5: 54–63.

Shimidzu, N., M. Goto dan W. Miki. 1996. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fisheries Science*. 62(1): 134–137.

Shuaith, N. 2015. Synthesis and characterisation of novel astaxanthin metal complexes. Donegal : Science Department Latterkenny Institute of Technology.

Sowmya, R., Ravikumar, T. M., Vivek, R., Rathinaraj, K., & Sachindra, N. M. (2014). Optimization of enzymatic hydrolysis of shrimp waste for recovery of antioxidant activity rich protein isolate. *Journal of Food Science and Technology*, 51(11), 3199–3207.

Sucharitha, V., dan S. Jyothi. 2013. An Identification of Penaeid Prawn Species Based on Histogram Values. *International Journal of Advanced Research in Computer Science and Software Engineering*. 3(7): 807–811.

Svihus, B. 2014. Function of the digestive system1. *The Journal of Applied Poultry Research*. 23(2): 306–314.

Tavano, O. L. 2013. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 90: 1–11.

Tominaga, K., N. Hongo, M. Fujishita, Y. Takahashi dan Y. Adachi. 2017. Protective Effects of Astaxanthin on Skin Deterioration. *61*: 33–39.

USDAITIS. 2018. *Litopenaeus Vannamei*.

https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=551682#null. Diakses pada 1 Maret 2018.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Preparasi Larutan

1.1 Pembuatan Larutan Induk Astaxanthin

- a. Larutan Induk Astaxanthin 50 ppm sebanyak 100 mL

$$Mr \text{ Astaxanthin} = 596,841 \text{ g/mol}$$

$$50 \text{ ppm} = 50 \text{ mg/L} = 0,05 \text{ g/L}$$

$$M = \frac{0,05 \text{ g/L}}{596,841 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0,00008 \text{ mol/L}$$

Larutan dibuat dalam 100 mL

$$M = \frac{\text{mol}}{v}$$

$$\text{Mol} = 0,00008 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} = 0,000008 \text{ mol}$$

$$\text{Mol} = \frac{\text{gram}}{Mr}$$

$$0,000008 \text{ mol} \times 596,841 \text{ g/mol} = 0,005 \text{ gram}$$

Jadi sebanyak 0,005 gram padatan astaxanthin dilarutkan dengan diklorometana hingga 100 mL

- b. Pembuatan larutan standart Astaxanthin

$$50 \text{ ppm} = 50 \text{ mg/kg}$$

Konsentrasi Larutan (ppm) (mg/kg)	Volume Larutan Induk Astaxanthin (mL)
2,0	0,4
4,0	0,8
6,0	1,2
8,0	1,6
10	2,0

2,0 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$50 \text{ mg/kg} \times V_1 = 2,0 \text{ mg/kg} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

Lampiran 2. Scanning Panjang Gelombang

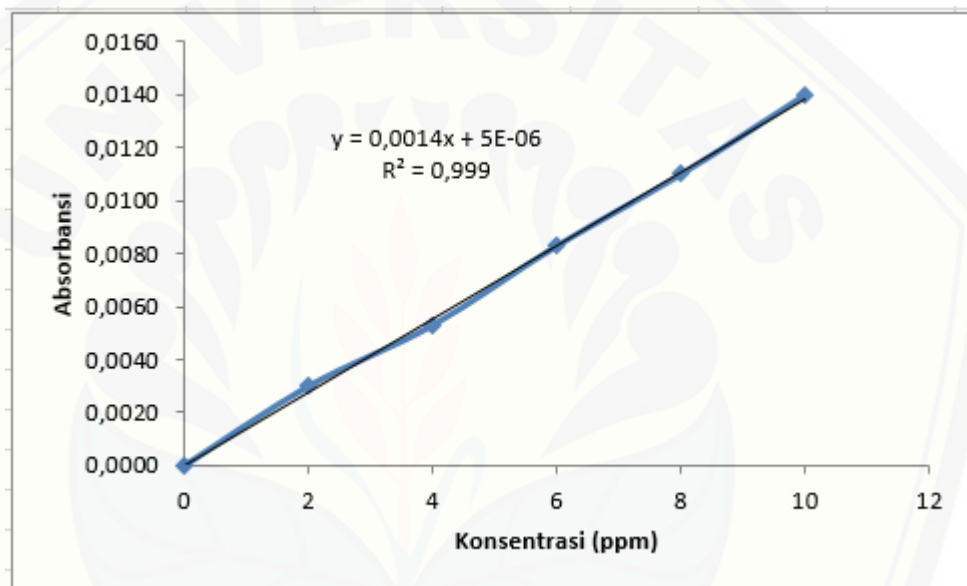
Tabel 2.1 Data penentuan panjang gelombang maksimum dengan rentang 13 nm

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi			Rata-rata
	U1	U2	U3	
407	0,001	0,001	0,001	0,001
418	0,003	0,003	0,003	0,003
429	0,005	0,004	0,004	0,0043
440	0,005	0,005	0,005	0,005
451	0,006	0,006	0,006	0,006
462	0,007	0,007	0,007	0,007
473	0,008	0,009	0,009	0,0087
484	0,007	0,006	0,006	0,0063
495	0,006	0,005	0,006	0,0057
506	0,005	0,004	0,005	0,0047
517	0,004	0,003	0,004	0,0037
528	0,002	0,003	0,003	0,0027
539	0,001	0,002	0,002	0,0017
550	0,001	0,001	0,001	0,001

Lampiran 3. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Tabel 3.1 Data Absorbansi Hasil Pengukuran Larutan Standart Astaxanthin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata
	U1	U2	U3	
0,0	0,000	0,000	0,000	0,000
2,0	0,003	0,003	0,003	0,003
4,0	0,005	0,006	0,005	0,0053
6,0	0,008	0,008	0,009	0,0083
8,0	0,011	0,011	0,011	0,011
10	0,014	0,014	0,014	0,014



Lampiran 4. Nilai Absorbansi

4.1 Data Absorbansi Astaxanthin pada sampel (Udang + Usus)

Tabel 4.1 Data Absorbansi Astaxanthin pada sampel (Udang + Usus)

pH	Waktu Inkubasi (jam)	Absorbansi Astaxanthin				SD
		U1	U2	U3	U	
1,0	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000000
	6	0,003	0,003	0,003	0,003	0,000000
	12	0,005	0,005	0,005	0,005	0,000000
	18	0,006	0,006	0,006	0,006	0,000000
1,5	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000000
	6	0,004	0,004	0,004	0,004	0,000000
	12	0,007	0,007	0,007	0,007	0,000000
	18	0,008	0,008	0,008	0,008	0,000000
2,0	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000000
	6	0,006	0,006	0,006	0,006	0,000000
	12	0,009	0,009	0,009	0,009	0,000000
	18	0,010	0,011	0,010	0,0103	0,000577
2,5	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000000
	6	0,008	0,008	0,008	0,008	0,000000
	12	0,011	0,011	0,011	0,011	0,000000
	18	0,013	0,013	0,013	0,013	0,000000

4.2 Data Absorbansi Astaxanthin pada kontrol udang

Tabel 4.2 Data Absorbansi Astaxanthin pada kontrol Udang

pH	Waktu Inkubasi (jam)	Absorbansi Astaxanthin				SD
		U1	U2	U3	U	
1,0	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000000
	6	0,002	0,002	0,002	0,002	0,000000
	12	0,003	0,003	0,003	0,003	0,000000
	18	0,004	0,004	0,004	0,004	0,000000
1,5	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000000
	6	0,003	0,003	0,003	0,003	0,000000
	12	0,004	0,004	0,004	0,004	0,000000
	18	0,005	0,006	0,005	0,0053	0,000577
2,0	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000000
	6	0,005	0,005	0,005	0,005	0,000000
	12	0,007	0,007	0,007	0,007	0,000000
	18	0,008	0,008	0,008	0,008	0,000000
2,5	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,000000
	6	0,007	0,007	0,007	0,007	0,000000
	12	0,009	0,010	0,009	0,0093	0,000577
	18	0,011	0,011	0,011	0,011	0,000000

Lampiran 5. Hasil Analisis Konsentrasi Astaxanthin

5.1 Hasil analisis konsentrasi astaxanthin pada sampel (Udang +Usus)

Tabel 5.1 Hasil analisis konsentrasi astaxanthin pada sampel (Udang +Usus)

pH	Waktu Inkubasi (jam)	Konsentrasi Astaxanthin (ppm)				SD
		U1	U2	U3	U	
1,0	0	0,711	0,711	0,711	0,711	0,0000
	6	2,14	2,14	2,14	2,14	0,0000
	12	3,57	3,57	3,57	3,57	0,0000
	18	4,28	4,28	4,28	4,28	0,0000
1,5	0	0,711	0,711	0,711	0,711	0,0000
	6	2,85	2,85	2,85	2,85	0,0000
	12	5,00	5,00	5,00	5,00	0,0000
	18	5,71	5,71	5,71	5,71	0,0000
2,0	0	0,711	0,711	0,711	0,711	0,0000
	6	4,28	4,28	4,28	4,28	0,0000
	12	6,43	6,43	6,43	6,43	0,0000
	18	7,14	7,85	7,14	7,38	0,4124
2,5	0	0,711	0,711	0,711	0,711	0,0000
	6	5,71	5,71	5,71	5,71	0,0000
	12	7,85	7,85	7,85	7,85	0,0000
	18	9,28	9,28	9,28	9,28	0,0000

5.2 Hasil analisis konsentrasi astaxanthin dalam Kontrol Udang

Tabel 5.2 Hasil analisis konsentrasi astaxanthin dalam Kontrol Udang

pH	Waktu Inkubasi (jam)	Konsentrasi Astaxanthin (ppm)				SD
		U1	U2	U3	U	
1,0	0	0,711	0,711	0,711	0,711	0,0000
	6	1,43	1,43	1,43	1,43	0,0000
	12	2,14	2,14	2,14	2,14	0,0000
	18	2,85	2,85	2,85	2,85	0,0000
	18	2,85	2,85	2,85	2,85	0,0000
1,5	0	0,711	0,711	0,711	0,711	0,0000
	6	2,14	2,14	2,14	2,14	0,0000
	12	2,85	2,85	2,85	2,85	0,0000
	18	3,57	4,28	3,57	3,81	0,4124
	18	3,57	4,28	3,57	3,81	0,4124
2,0	0	0,711	0,711	0,711	0,711	0,0000
	6	3,57	3,57	3,57	3,57	0,0000
	12	5,00	5,00	5,00	5,00	0,0000
	18	5,71	5,71	5,71	5,71	0,0000
	18	5,71	5,71	5,71	5,71	0,0000
2,5	0	0,711	0,711	0,711	0,711	0,0000
	6	5,00	5,00	5,00	5,00	0,0000
	12	6,43	7,14	6,43	6,66	0,4124
	18	7,85	7,85	7,85	7,85	0,0000
	18	7,85	7,85	7,85	7,85	0,0000

Contoh Perhitungan Konsentrasi Astaxanthin

Udang + Usus

1. 0 jam

a. U1

$$Y = 0,0014x + 0,000005$$

$$x = \frac{0,001 - 0,000005}{0,0014}$$

$$x = 0,711 \text{ ppm}$$

b. U2

$$Y = 0,0014x + 0,000005$$

$$x = \frac{0,001 - 0,000005}{0,0014}$$

$$x = 0,711 \text{ ppm}$$

c. U3

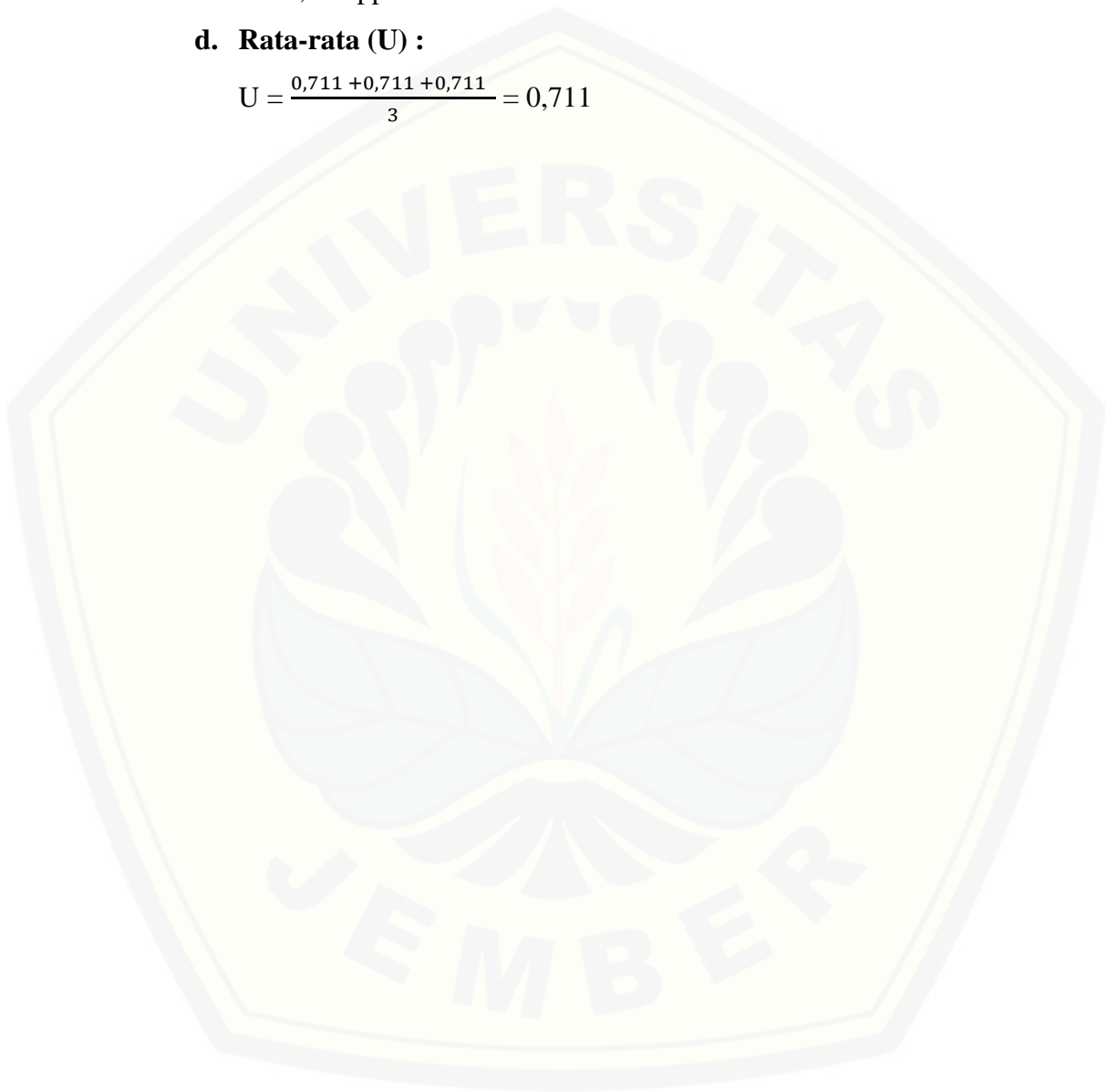
$$Y = 0,0014x + 0,000005$$

$$x = \frac{0,001+0,000005}{0,0014}$$

$$x = 0,711 \text{ ppm}$$

d. Rata-rata (U) :

$$U = \frac{0,711 + 0,711 + 0,711}{3} = 0,711$$



Lampiran 6. Berat Astaxanthin

6.1 Berat astaxanthin dalam sampel (udang + usus)

Tabel 6.1 Berat astaxanthin dalam sampel (udang + usus)

pH	Waktu Inkubasi (jam)	Berat Astaxanthin dalam Larutan (g)				SD
		U1	U2	U3	U	
1,0	0	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000
	6	0,0000711	0,0000711	0,0000711	0,0000711	0,0000
	12	0,000119	0,000119	0,000119	0,000119	0,000000
	18	0,000142	0,000142	0,000142	0,000142	0,0000
1,5	0	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000
	6	0,0000949	0,0000949	0,0000949	0,0000949	0,000000
	12	0,000166	0,000166	0,000166	0,000166	0,0000
	18	0,000190	0,000190	0,000190	0,000190	0,000000
2,0	0	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000
	6	0,000142	0,000142	0,000142	0,000142	0,000000
	12	0,000214	0,000214	0,000214	0,000214	0,000000
	18	0,000237	0,000261	0,000237	0,000245	0,0000137
2,5	0	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000
	6	0,000190	0,000190	0,000190	0,000190	0,000000
	12	0,000261	0,000261	0,000261	0,000261	0,0000
	18	0,000309	0,000309	0,000309	0,000309	0,0000

6.2 Berat Astaxanthin dalam Kontrol Udang

Tabel 6.2 Berat Astaxanthin dalam Kontrol Udang

pH	Waktu Inkubasi (jam)	Berat Astaxanthin dalam Larutan (g)				SD
		U1	U2	U3	U	
1,0	0	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000
	6	0,0000474	0,0000474	0,0000474	0,0000474	0,000000
	12	0,0000711	0,0000711	0,0000711	0,0000711	0,0000
	18	0,0000949	0,0000949	0,0000949	0,0000949	0,0000
1,5	0	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000
	6	0,0000711	0,0000711	0,0000711	0,0000711	0,000000
	12	0,0000949	0,0000949	0,0000949	0,0000949	0,000000
	18	0,000119	0,000142	0,000119	0,000127	0,000014
2,0	0	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000
	6	0,000119	0,000119	0,000119	0,000119	0,000000
	12	0,000166	0,000166	0,000166	0,000166	0,0000
	18	0,000190	0,000190	0,000190	0,000190	0,0000
2,5	0	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000236	0,0000
	6	0,000166	0,000166	0,000166	0,000166	0,000000
	12	0,000214	0,000237	0,000214	0,000222	0,0000
	18	0,000261	0,000261	0,000261	0,000261	0,0000

Perhitungan Berat Astaxanthin dalam Larutan Diklorometana

Konsentrasi (ppm) = mg/kg

Konversi = g/kg

= g/g

0,711 ppm = 0,711 mg/kg

= 0,711 x 10⁻³ g/kg

= 0,711 x 10⁻⁶ g/g

Berat diklorometana yang digunakan 33,25 gram

Udang+Usus

1. 0 jam

a. U1 :

$$C = \frac{\text{massa}}{\text{Berat diklorometana}}$$
$$(0,711 \times 10^{-6} \text{ g/g}) = \frac{\text{massa}}{33,25 \text{ gram}}$$

0,0000236 gram

b. U2 :

$$C = \frac{\text{massa}}{\text{Berat diklorometana}}$$
$$(0,711 \times 10^{-6} \text{ g/g}) = \frac{\text{massa}}{33,25 \text{ gram}}$$

0,0000236 gram

c. U3 :

$$C = \frac{\text{massa}}{\text{Berat diklorometana}}$$
$$(0,711 \times 10^{-6} \text{ g/g}) = \frac{\text{massa}}{33,25 \text{ gram}}$$

0,0000236 gram

d. Rata-Rata (U) :

$$U = \frac{U1+U2+U3}{3} = \frac{0,0000236+0,0000236+ 0,0000236}{3} = 0,0000236 \text{ g}$$

Lampiran 7. Persentase astaxanthin yang dapat diekstrak

7.1 Persentase astaxanthin yang dapat diekstrak dalam sampel (udang + usus)

Tabel 7.1 Persentase astaxanthin yang dapat diekstrak dalam sampel (udang + usus)

pH	Waktu Inkubasi (jam)	Persentase astaxanthin yang terekstrak dalam sampel (udang + usus) (%)				SD
		U1	U2	U3	U	
1,0	0	0,00217	0,00217	0,00217	0,00217	0,0000
	6	0,0147	0,0146	0,0144	0,0146	0,000152
	12	0,0239	0,0236	0,0234	0,0236	0,000255
	18	0,0276	0,0273	0,0270	0,0273	0,000304
1,5	0	0,00217	0,00217	0,00217	0,00217	0,0000
	6	0,0186	0,0184	0,0182	0,0184	0,000203
	12	0,0315	0,0312	0,0308	0,0312	0,000355
	18	0,0349	0,0345	0,0341	0,0345	0,000406
2,0	0	0,00217	0,00217	0,00217	0,00217	0,0000
	6	0,0233	0,0230	0,0227	0,0230	0,000304
	12	0,0338	0,0333	0,0329	0,0333	0,000458
	18	0,0359	0,0390	0,0349	0,0366	0,00213
2,5	0	0,00217	0,00217	0,00217	0,00217	0,0000
	6	0,0288	0,0284	0,0280	0,0284	0,000406
	12	0,0379	0,0374	0,0368	0,0374	0,000558
	18	0,0429	0,0423	0,0416	0,0423	0,000661

7.2 Persentase astaxanthin yang dapat diekstrak dalam Kontrol Udang

Tabel 7.2 Persentase astaxanthin yang dapat diekstrak dalam Kontrol Udang

pH	Waktu Inkubasi (jam)	Persentase astaxanthin yang terekstrak dalam Kontrol Udang (%)				SD
		U1	U2	U3	U	
1,0	0	0,00212	0,00212	0,00212	0,00212	0,0000
	6	0,0118	0,0117	0,0116	0,0117	0,000104
	12	0,0172	0,0170	0,0169	0,0170	0,000152
	18	0,0223	0,0221	0,0219	0,0221	0,000203
1,5	0	0,00212	0,00212	0,00212	0,00212	0,0000
	6	0,0152	0,0151	0,0149	0,0151	0,000152
	12	0,0197	0,0195	0,0193	0,0195	0,000203
	18	0,0239	0,0282	0,0234	0,0252	0,00265
2,0	0	0,00212	0,00212	0,00212	0,00212	0,0000
	6	0,0209	0,0206	0,0204	0,0206	0,000255
	12	0,0281	0,0277	0,0274	0,0277	0,000355
	18	0,0309	0,0305	0,0301	0,0305	0,000406
2,5	0	0,00212	0,00212	0,00212	0,00212	0,0000
	6	0,0256	0,0252	0,0249	0,0252	0,000355
	12	0,0316	0,0345	0,0307	0,0323	0,00199
	18	0,0369	0,0363	0,0358	0,0363	0,000558

Contoh Perhitungan persentase astaxanthin yang terekstrak

-Berat yang digunakan :

a. Udang = 250 gram

b. Usus = 250 gram

c. Udang = 250 gram (Kontrol)

-Berat aquades yang ditambahkan :

a. Udang + Usus = 427,85 gram

b. Udang (Kontrol) = 656,7 gram

-Berat Udang Kering :

Kadar air udang = 81 %

$$\text{Berat air} = \frac{81}{100} \times 250 = 202,5 \text{ gram}$$

BUK = Berat Udang- Berat Air

$$\begin{aligned} \text{BUK} &= 250 \text{ gram} - 202,5 \text{ gram} \\ &= 46,75 \text{ gram} \end{aligned}$$

-Berat per-bejana dalam campuran udang+usus :

pH 1,0 = 232 gram

pH 1,5 = 232 gram

pH 2,0 = 232 gram

pH 2,5 = 232 gram

-Berat per-bejana dalam kontrol Udang :

pH 1,0 = 227 gram

pH 1,5 = 227 gram

pH 2,0 = 227 gram

pH 2,5 = 227 gram

-Berat bejana + as.fosfat pada campuran udang + usus :

pH 1,0 = 523 gram

pH 1,5 = 496 gram

pH 2,0 = 415 gram

pH 2,5 = 383 gram

-Berat bejana + as. Fosfat pada kontrol udang :

pH 1,0 = 626 gram

pH 1,5 = 540 gram

pH 2,0 = 443 gram

pH 2,5 = 389 gram

-Berat per-sampling dari campuran udang+usus maupun pada kontrol udang :

Berat sampling = 5,40 gram

-BUK/Sampling (U1)

$$\begin{aligned} \text{pH 1,0 Udang + Usus (6 jam)} &= \frac{BUK}{(\text{Berat bejana} + \text{as.fosfat})} \times 5,40 \text{ gram} \\ &= \frac{46,75 \text{ gram}}{523 \text{ gram}} \times 5,40 \text{ gram} \\ &= 0,483 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{-\% Axt} &= \frac{B.Axt \text{ dalam sampel}}{\frac{BUK}{\text{Sampling}}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,0000711 \text{ gram}}{0,483 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 0,0147 \% \end{aligned}$$

-BUK/Sampling (U2)

$$\begin{aligned} \text{pH 1,0 Udang + Usus (6 jam)} &= \frac{BUK}{(\text{Berat bejana} + \text{as.fosfat})} \times 5,40 \text{ gram} \\ &= \frac{46,75 \text{ gram}}{518 \text{ gram}} \times 5,40 \text{ gram} \\ &= 0,488 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{-\% Axt} &= \frac{B.Axt \text{ dalam sampel}}{\frac{BUK}{\text{Sampling}}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,0000711 \text{ gram}}{0,488 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 0,0146 \% \end{aligned}$$

-BUK/Sampling (U3)

$$\begin{aligned} \text{pH 1,0 Udang + Usus (6 jam)} &= \frac{BUK}{(\text{Berat bejana} + \text{as.fosfat})} \times 5,40 \text{ gram} \\ &= \frac{46,75 \text{ gram}}{512 \text{ gram}} \times 5,40 \text{ gram} \\ &= 0,493 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{-\% Axt} &= \frac{B.Axt \text{ dalam sampel}}{\frac{BUK}{\text{Sampling}}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,0000711 \text{ gram}}{0,493 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 0,0144 \% \end{aligned}$$

$$\text{-Rata-rata (U)} = \frac{0,0147\% + 0,0146\% + 0,0144\%}{3} = 0,0146\%$$

Lampiran 8. Kadar Air

8.1 Perhitungan Kadar Air Udang

Tabel 8.1 Data Kadar Air Udang

Pengulangan	Massa Cawan Kosong (g)	Massa Udang Awal (g)	Massa Cawan + Udang Awal (g)	Massa Cawan + Udang kering (g)	Kadar air (%)	Standart Deviasi
U1.	27,71	5,01	32,72	28,72	80	
U2.	25,48	5,01	30,49	26,42	81	0,015
U3.	26,45	5,02	31,57	27,42	83	
Kadar air rata-rata						81,3 %

Kadar Air Udang

$$\text{Kadar air \%} = \frac{B - C}{B - A} \times 100 \%$$

Keterangan :

A = Cawan Kosong

B = Cawan + Sampel Awal

C = Cawan + Sampel Kering

a. Pengulangan 1 (U1)

$$\begin{aligned} \text{Kadar air \%} &= \frac{32,72 - 28,72}{32,72 - 27,71} \times 100 \% \\ &= \frac{4,00}{5,01} \times 100 \% \\ &= 80 \% \end{aligned}$$

b. Pengulangan 2 (U2)

$$\begin{aligned} \text{Kadar air \%} &= \frac{30,49 - 26,42}{30,49 - 25,48} \times 100 \% \\ &= \frac{4,07}{5,01} \times 100 \% \\ &= 81 \% \end{aligned}$$

c. Pengulangan 3 (U3)

$$\text{Kadar air \%} = \frac{31,57-27,42}{31,57-26,45} \times 100 \%$$

$$= \frac{4,15}{5,02} \times 100 \%$$

$$= 83 \%$$

d. Rata-Rata (U) = $\frac{80 \% + 81 \% + 83 \%}{3} = 81,3 \%$

