

LAPORAN AKHIR PENELITIAN



Potensi Astaxanthin Kulit Udang *Litopenaeus vannamei* dari pantai Gunungkidul terhadap Antinflamasi dan Pengobatan Diabetes Tikus Putih Galur Wistar

TIM PENGUSUL

**Aniek Prasetyaningih, Dra, M.Si.
Djoko Rahardjo, Drs, M.Kes.
Tejo Jayadi, dr.,Sp.PA**

DUTA WACANA

Biologi

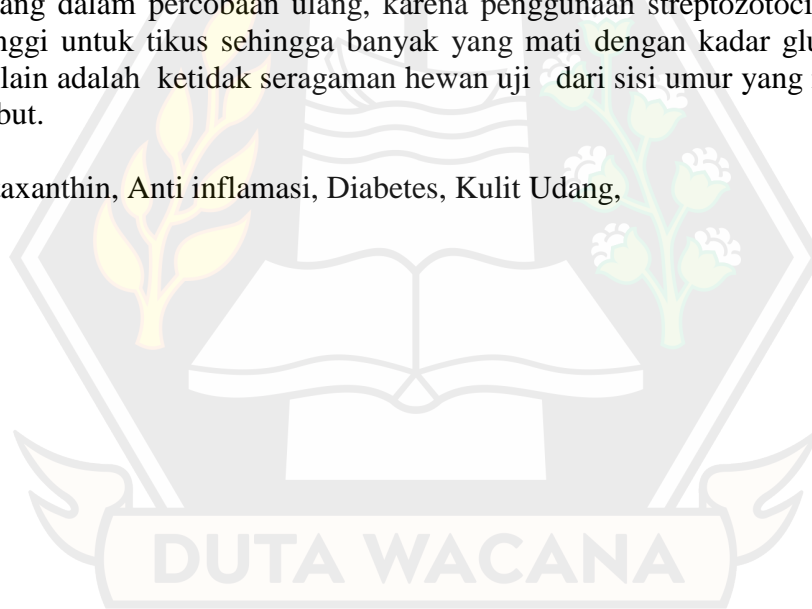
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA

November 2020

RINGKASAN

Sebagai negara maritim dengan perairan yang sangat luas Indonesia memiliki banyak peluang untuk memanfaatkan sumber daya kelautan sebagai sumber senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai bahan aktif obat. Salah satu biota laut yang menyimpan potensi senyawa aktif adalah udang. Penelitian ini menggunakan sampel kulit udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang memiliki potensi senyawa bioaktif astaxanthin merupakan sumber antioksidan yang memiliki potensi sebagai anti inflamasi dan dapat mengurangi stress oksidatif yang disebabkan oleh *Hyperglycemia* pada β -cells pankreatis serta meningkatkan kadar insulin serum, sehingga sangat baik untuk antiinflamasi dan penyembuhan diabetes. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh astaxanthin dari kulit udang sebagai anti inflamasi dan menurunkan kadar glukosa dalam darah. Kulit udang *Litopenaeuvannamei* berasal dari limbah laut Gunungkidul. Ekstraksi astaxanthin kulit udang digunakan pelarut aseton, dan minyak bunga matahari, sedangkan uji fitokimia dan profiling astaxanthin digunakan *Thin Layer Chromatography* dengan standar astaxanthin giffarin, sedangkan perhitungan kadar astaxanthin digunakan Spektrofotometer dengan standar astaxanthin.. Hasil astaxanthin terbanyak di hasilkan dengan metode maserasi dan pelarut etanol 70%, sebesar 190 mg astaxanthin tiap gram kulit udang. Hasil pemurnian menggunakan kolom kromatografi dan fase gerak petroleum eter : aseton (8:2) di dapatkan hasil kadar astaxanthi tertinggi sebesar 220,77 mg/g ekstrak kasar. Uji preklinis terhadap sebagai anti inflamasi pada fraksi tersebut, konsentrasi 150 mg/kgbb menunjukkan hasil terbaik berdasar penurunan kadar neutrofil dan limfositnya, sedangkan pengaruhnya terhadap antidiabetes sedang dalam percobaan ulang, karena penggunaan streptozotocin 150 mg/kg, masih terlalu tinggi untuk tikus sehingga banyak yang mati dengan kadar glukosa darah yang tinggi, hal yang lain adalah ketidak seragaman hewan uji dari sisi umur yang memicu kematian tikus-tikus tersebut.

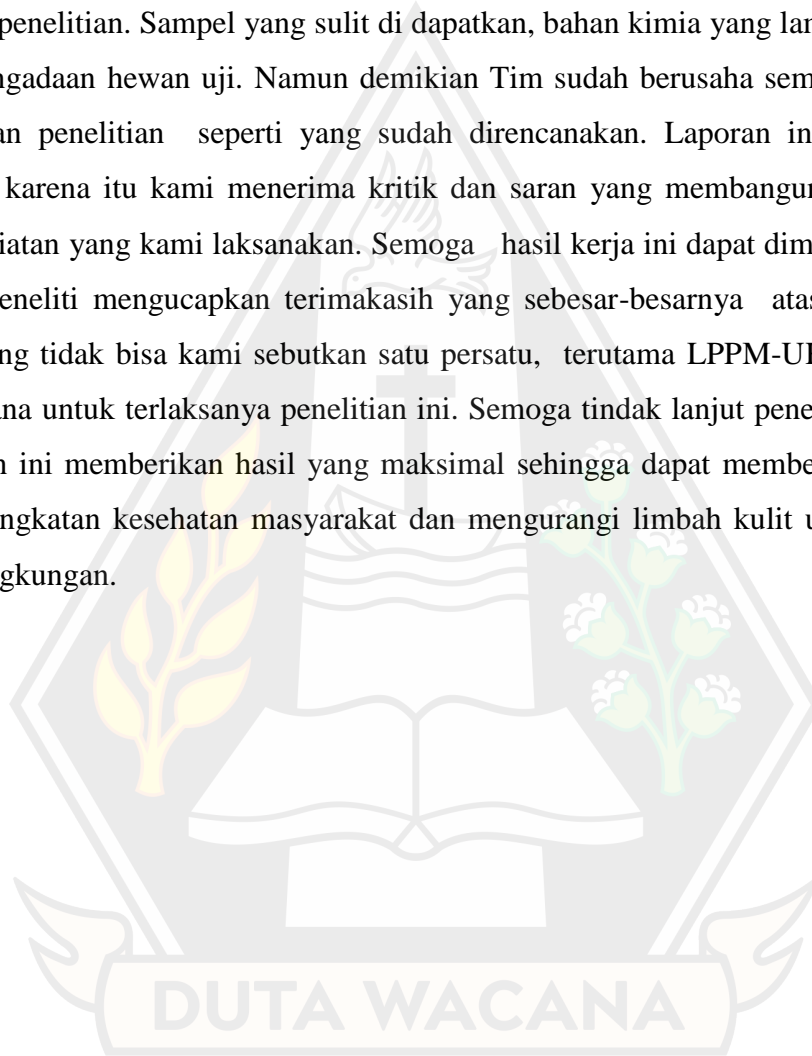
Kata kunci : Astaxanthin, Anti inflamasi, Diabetes, Kulit Udang,



PRAKATA

Laporan penelitian dengan judul Potensi Astaxanthin Kulit Udang *Litopenaeus vannamei* dari pantai Gunungkidul terhadap Antinflamasi dan Pengobatan Diabetes Tikus Putih Galur Wistar ini ditulis dengan harapan memberikan informasi sementara hasil dari penelitian yang telah dilaksanakan oleh tim peneliti yang terdiri dari dosen dan mahasiswa Fakultas Bioteknologi dan dosen Fakultas Kedokteran. Dalam situasi pandemik, banyak kendala yang dihadapi dalam penelitian. Sampel yang sulit di dapatkan, bahan kimia yang lama pemesanannya dan kendala pengadaan hewan uji. Namun demikian Tim sudah berusaha semaksimal mungkin untuk melakukan penelitian seperti yang sudah direncanakan. Laporan ini tentu jauh dari sempurna, oleh karena itu kami menerima kritik dan saran yang membangun demi perbaikan laporan dan kegiatan yang kami laksanakan. Semoga hasil kerja ini dapat dimanfaatkan sebaik-baiknya. Tim peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya atas dukungan dari semua pihak yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu, terutama LPPM-UKDW yang sudah memberikan dana untuk terlaksanya penelitian ini. Semoga tindak lanjut penelitian yang masih akan dilanjutkan ini memberikan hasil yang maksimal sehingga dapat memberikan sumbangan bagi usaha peningkatan kesehatan masyarakat dan mengurangi limbah kulit udang yang dapat mengganggu lingkungan.

November
Tim Peneliti



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kulit Udang	3
2.1.1 Udang Vaname	3
2.1.2 Kulit Udang	4
2.2 Astaxanthin	
2.2.1 Struktur molekul dan fungsi	4
2.2.2 Aktivitas Biologi sebagai Anti Inflamasi	5
2.3 Inflamasi	
2.3.1 Pengertian Inflamasi	5
2.3.2 Peran Neutrofil dan Limfosit pada Proses Inflamasi	5
2.3.3 Diabetes Mellitus	6
2.3.4 Aktivitas Astaxanthin sebagai anti diabetes	7
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
3.1 Tujuan Penelitian	8
3.2 Manfaat Penelitian	8
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	9
4.2 Alat	9
4.3 Bahan	9
4.4 Cara Kerja	9
4.4.1 Preparasi Kulit Udang	9
4.4.2 Ekstraksi Astaxanthin	9
4.4.3 Analisis Thin Layer Chromatography (TLC)	10
4.4.4 Kuantifikasi Astaxanthin	10
4.4.5 Uji Terpenoid (Identifikasi Sakwolski)	10
4.5 Bioassay	
4.5.1 Aklimatisasi Hewan Uji	10
4.5.2 Pemberian Perlakuan	11
4.5.3 Pengamatan Jumlah Neutrofil dan Limfosit	11
4.5.4 Induksi Diabetes pada Tikus	11
4.5.5 Perlakuan	11

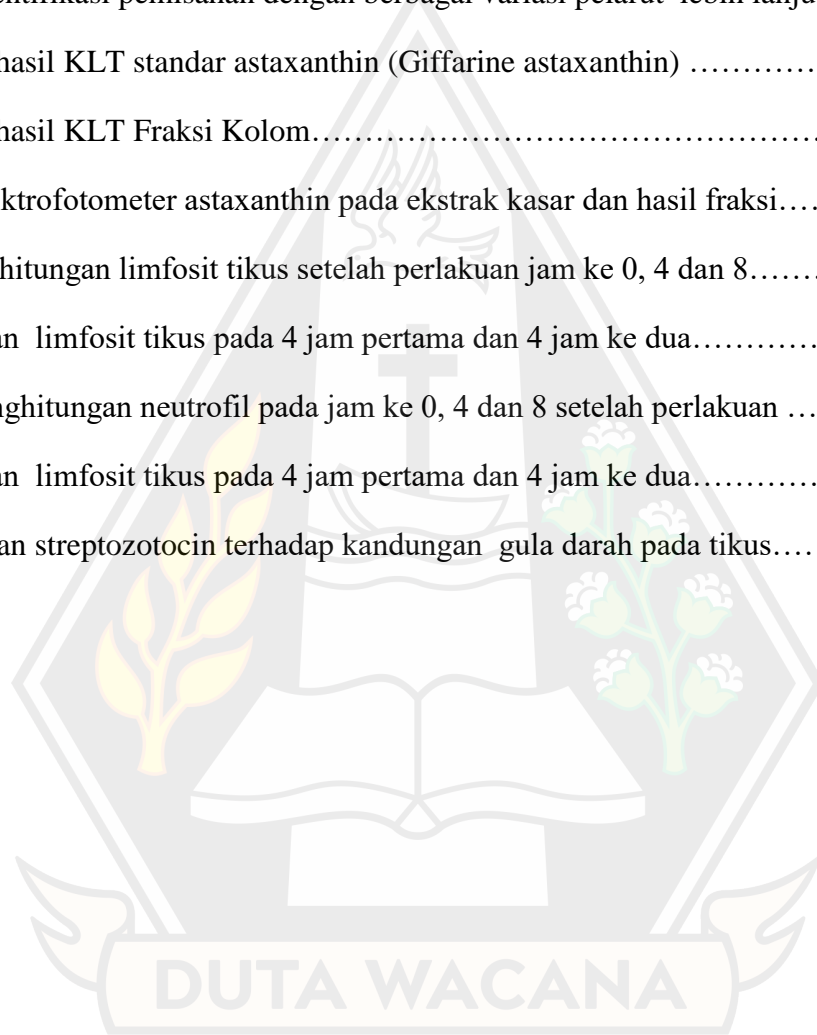
4.5.6	Pengukuran Kadar Gula Darah	12
4.5.7	Hispatologi Ginjal dan Pankreas	12
4.5.8	Analisa Statistik	12
BAB 5	HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	13
5.1	Ekstraksi Astaxanthin Kulit Udang Vaname	13
5.2	Uji Fraksi Eter: Etanol Astaxanthin sebagai Antiinflamasi pada Tikus.	24
5.3	Uji Ekstrak Kasar Kulit Udang Terhadap Diabetes Pada Kulit Tikus	27
BAB 6	RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	29
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1	Kesimpulan	30
7.2	Saran	30
DAFTAR PUSTAKA		32
LAMPIRAN		33



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1. Komposisi perlakuan ekstrak terhadap luka karena edema.....	11
Tabel 4.2. Komposisi perlakuan ekstrak untuk pengobatan DM.....	11
Tabel 5.1. Hasil identifikasi pemisahan dengan berbagai variasi pelarut	17
Tabel 5.2. Hasil identifikasi pemisahan dengan berbagai variasi pelarut lebih lanjut.....	17
Tabel 5.3. Nilai Rf hasil KLT standar astaxanthin (Giffarine astaxanthin)	19
Tabel 5.4. Nilai Rf hasil KLT Fraksi Kolom.....	22
Tabel 5.5. Hasil spektrofotometer astaxanthin pada ekstrak kasar dan hasil fraksi.....	23
Tabel 5.6. Hasil perhitungan limfosit tikus setelah perlakuan jam ke 0, 4 dan 8.....	24
Table 5.7. Penurunan limfosit tikus pada 4 jam pertama dan 4 jam ke dua.....	25
Tabel 5.8. Hasil penghitungan neutrofil pada jam ke 0, 4 dan 8 setelah perlakuan	25
Table 5.9. Penurunan limfosit tikus pada 4 jam pertama dan 4 jam ke dua.....	27
Tabel 5.10. Perlakuan streptozotocin terhadap kandungan gula darah pada tikus.....	28



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 5.1. Proses ekstraksi kulit udang menggunakan metode magnetic stirer dengan pelarut minyak bunga matahari.....	14
Gambar 5.3. Bahan Ekstraksi . Kulit udang yang sudah dihasilkan (a) dan Proses pengeringan kulit udang (b)	15
Gambar 5.4. Proses maserasi kulit udang menggunakan etanol 70%. Proses maserasi selama 3 hari (a) ekstrak kulit udang hasil maserasi (b)	16
Gambar 5.5. Hasil uji terpenoid dengan kloroform	16
Gambar 5.6. Hasil KLT ekstrak etanol kulit udang dengan berbagai macam fase gerak.....	17
Gambar 5.7. Hasil KLT dengan fase gerak petroleum eter : etanol dan pewarnaan ninhidrin.....	18
Gambar 5.8. KLT dengan fase gerak petroleum eter : etanol dan pewarnaan anisaldehyde.....	19
Gambar 5.9. Kolom kromatografi dengan pelarut petroleum eter : etanol.....	20
Gambar 5.10. Fraksi hasil kolom kromatografi fase gerak petroleum eter : etanol.....	20
Gambar 5.11. KLT Fraksi hasil kolom kromatografi yang menunjukkan adanya astaxanthin	21
Gambar 5.12. Kurva standar astaxanthin.....	23
Gambar 5.13. Neutrofil dan limfosit pada sampel darah tikus yang diberlakukan dengan fraksi astaxanthin.....	26

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

LAMPIRAN 1 : Hasil KLT ekstrak kasar kulit udang menggunakan fase gerak benzene : etil asetat (1:1), aseton : heksana (3:7) dan etil asetat : heksana (2,5 : 1)	28
LAMPIRAN 2 : Hasil KLT ekstrak kasar kulit udang menggunakan fase gerak petroleum eter : etanol (9:1,8:2,7:3,6:4,5:5,1:9,2:8,3:7,4:6,5:5) dan spreji penanda noda ninhidrin.....	29
LAMPIRAN 3: Hasil KLT ekstrak kasar kulit udang menggunakan fase gerak acetone : heksana dengan perbandingan (9:1,8:2,7:3,6:4,5:5,1:9,2:8,3:7,4:6,5:5) dan semprotan penanda noda ninhidrin.....	30
LAMPIRAN 4: Hasil KLT ekstrak kasar kulit udang menggunakan fase gerak petroleum eter : etanol (9:1,8:2,7:3,6:4,5:5,1:9,2:8,3:7,4:6,5:5) menggunakan semprotan anisaldehyd.....	31
LAMPIRAN 5: Hasil KLT menggunakan sampel ekstraksi kedua dengan pelarut petroleum eter : etanol (9:1,8:2,7:3,6:4,5:5,1:9,2:8,3:7,4:6,5:5) dengan semprotan anisaldehyd.....	32
LAMPIRAN 6: Hasil KLT standar astaxanthin (Giffarine Astaxanthin) menggunakan fase gerak petroleum eter : etanol (9:1,8:2,7:3,6:4,5:5,1:9,2:8,3:7,4:6,5:5) dan spreji penanda noda anisaldehyd	35
LAMPIRAN 7: Hasil KLT kolom kromatografi , fase gerak yang digunakan adalah petroleum eter : etanol (8:2) dan spreji penanda noda yaitu anisaldehyd.....	36
LAMPIRAN 8: Hasil pengamatan mikroskopis neutrofil dan limfosit.....	43
LAMPIRAN 9: Perlakuan untuk membuat hewan uji tikus DM	47
LAMPIRAN 10: Draft Artikel 1.....	48

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Astaxanthin (3,3'-dihydroxy- β,β -carotene-4,4'-dione) merupakan pigmen karotenoid seperti zeaxanthin, lutein, dan β -karoten namun secara khusus sebagai pigmen berwarna merah-oranye dan termasuk kelompok Xantofilyang memiliki gugus fungsional hidroksil dan karbonil yang menjadikannya sebagai sumber antioksidan yang sangat baik. Senyawa ini dapat ditemukan pada biota laut seperti salmon, udang, udang karang dan banyak ditemukan pada mikro alga *Haematococcus pluvialis*. Astaxanthin memiliki efek farmakologis yang potensial, yaitu antikanker, antidiabetik, antioksidan, efek neurologis, kardiovaskular, okular, dan pelindung kulit serta sebagai anti inflamasi (Davinelli et al, 2018).

Indonesia merupakan negara maritim dan memiliki potensi sumberdaya alam hayati kelautan yang tinggi bagi kehidupan masyarakat. Berbagai keanekaragaman hayati laut tersebut dapat memberikan nilai ekonomis yang tinggi dan dapat digunakan untuk pembangunan negara. Dalam beberapa tahun terakhir, para peneliti memfokuskan penelitian terhadap senyawa aktif yang terdapat pada berbagai biota laut, yang memiliki potensi dalam pengembangan di bidang industri maupun kesehatan (Stamatios *et al.*, 2013). Sebagai negara maritim, dengan perairan yang sangat luas Indonesia memiliki banyak peluang untuk memanfaatkan sumber daya kelautan sebagai sumber senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai obat dan Indonesia dapat mandiri dengan penyediaan obat-obatan dimasa yang akan datang.

Salah satu biota laut yang menyimpan potensi senyawa bioaktif dan merupakan salah satu komoditas ekspor yang utama dan potensial adalah udang. Kementerian Kelautan dan Perikanan Indonesia menyatakan proyeksi produksi perikanan budidaya udang pada tahun 2020 adalah 18.440.000 ton dan potensi lahan untuk budidaya udang mencapai 2.964.331,24 Ha, selain itu udang merupakan komoditas penting dengan volume produksi nasional sebesar 886.520 ton. Produksi, pemanfaatan dan ekspor udang dalam bentuk olahan menghasilkan limbah dari bagian yang tidak digunakan yaitu kulit ataupun kepala udang. Limbah yang dihasilkan berupa kepala, kulit, ekor dan kaki adalah sekitar 35%-50% dari berat awal dan untuk limbah dari proses pembekuan udang, pengalengan udang dan pengolahan kerupuk udang berkisar antara 30% - 75% dari berat udang (Swastawati *et al.*, 2008). Sachindra *et al.*, 2007 dalam L.M-A.J. Seabradan L.F.C. Pedrosa, 2010), menyatakan bahwa limbah udang segar *Panaeus indicus* (cephalothorax dan kulit) memiliki kadar astaxanthin berkisar dari

4,79mg/100g berat basah. Vaname (*Litopenaeus vannamei*) adalah jenis udang yang paling banyak dibudidayakan di Gunungkidul selain udang windu (*Panaeus monodon*) dan udang putih (*Panaeus merguensis*). Udang Vaname juga merupakan udang favorit para pembudidaya karena memiliki keunggulan antara lain kemampuan dalam beradaptasi terhadap berbagai kondisi lingkungan. Produksi, pemanfaatan dan ekspor udang dalam bentuk olahan menghasilkan limbah dari bagian yang tidak digunakan yaitu kulit ataupun kepala udang, sehingga potensial mencemari lingkungan.

Radang atau yang dikenal sebagai inflamasi dan Diabetes adalah penyakit yang sering ditemukan dalam dunia kesehatan. Inflamasi merupakan respon normal tubuh untuk merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan, dan mengatur derajat perbaikan jaringan (Agustina et al, 2015), namun dalam keadaan tertentu inflamasi dapat menyebabkan sakit yang parah. Astaxanthin merupakan salah satu senyawa aktif yang berpotensi sebagai anti inflamasi dengan menekan produksi sitokin dan mediator inflamasi, selain itu dapat mengurangi stress oksidatif yang disebabkan oleh *Hyperglycemia* pada β -cells pankreatis dan meningkatkan kadar glukosa dan insulin serum, sehingga dapat membantu melindungi pankreas β – Cells melawan keracunan glukosa. Astaxanthin juga merupakan agen imunologi yang baik dalam pemulihan gangguan limfosit yang terakit diabetes pada tikus (Ambati et al, 2014).

Berdasarkan latar belakang diatas maka dalam penelitian ini, dilakukan usaha untuk memanfaatkan Astaxanthin yang terdapat pada limbah udang yaitu kulit udang menjadi antiinflamasi melalui identifikasi jumlah limfosit dan neutrophil dan pengobatan diabetes pada Tikus Winstar.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian sementara yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstraksi Astaxanthin menggunakan pelarut minyak bunga matahari memberikan hasil yang baik dengan metode magnetic stirrer (0,11 $\mu\text{g/g}$ astaxanthin/ berat ekstrak) dibandingkan dengan metode pemanasan (0,05 $\mu\text{g/g}$ astaxanthin/ berat ekstrak) dan positif mengandung terpenoid.
2. Ekstraksi kulit udang menggunakan metode maserasi dengan etanol 70% memberikan hasil lebih tinggi dengan rerata hasil = 0,700 μg astaxanthin / 1 gram berat ekstrak
3. Hasil fraksinasi pada kolom kromatografi, yang terbaik adalah menggunakan pelarut petroleum eter : etanol (8:2) karena memberikan pemisahan senyawa yang terbanyak (6 noda) dibandingkan dengan komposisi yang lain.
4. Dari hasil fraksi tersebut. yang menunjukkan adanya Astaxanthin adalah pada fraksi 6 dan fraksi 5.
5. Konsetrasi terbaik dari hasil fraksi untuk mengatasi adanya antiinflamasi dengan indicator penurunan neutrofil dan limfosit adalah konsentrasi 150 mg/kgberta tikus.
6. Penggunaan Streptozotocin dengan dosis referensi 150 mg/kg dapat menyebabkan kematian hewan uji.

7.2. Saran

1. Ekstraksi dengan maserasi disarankan untuk bertingkat selama 3 hari atau lebih tergantung dari keberadaan senyawa, supaya hasilnya lebih baik.
2. Tikus sebagai hewan uji sebaiknya diambil dari laboratorium supaya benar-benar seragam.

3. Dalam penggunaan Streptozotocin untuk mendapatkan tikus DM, sebaiknya diuji coba dahulu pada beberapa tikus, sebagai upaya apabila dosis yang diberikan terlalu tinggi, mengingat harga bahan tersebut sangat mahal.
4. Dari hasil penelitian anti inflamasi pada tikus, sebaiknya konsentrasi perlakuan dinaikkan lebih dari 150 mg/kgbb, mengingat hasil penelitian ini pada 150 mg/kgbb hasilnya paling baik.



DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, Ri., D. T. Indrawati, dan M. A. Masruhin. (2015). *Aktivitas Ekstrak Daun (Eugenia poyantha) Sebagai Antiinflamasi Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. J. Trop. Pharm. Chem. 3(2):120-123.
- Ambati, Dr. Ranga Rao & Phang, Siew-Moi & Ravi, Sarada & Gokare, Ravishankar. (2014). *Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications—A Review*. Marine drugs. 12. 128-152. 10.3390/md12010128.
- Davinelli, Sergio, Nielsen E. Michael, Scapagnini Giovanni. (2018). *Astaxanthin in Skin Health, Repair, and Disease: A Comprehensive Review*. Nutrients, 10:4 522; doi:10.3390/nu10040522.
- Guerin, M.; Huntley, M.E.; Olaizola, M. (2003). *Haematococcus astaxanthin: Applications for human health and nutrition*. Trends Biotechnol. 21, 210–216.
- Ghufron., M, Lamdi., M, Wulan Sari., D., P, Suprpto Hari. (2017). *Teknik Pembesaran Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) pada Tambak Pendampungan PT. Central Proteina Prima Tbk di Desa Randutatah Kecamatan Paiton, Probolinggo, Jawa Timur*. Journal of Aquaculture and Fish Health Vol. 7 No.2.
- Higuera-Ciapara, I.; Felix-Valenzuela, L.; Goycoolea, F.M. (2006). *Astaxanthin: A review of its chemistry and applications*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 46, 185–196.
- Izzaty, A., Dewi, N., Pratiwi Noviana, I.D. (2014). *Ekstrak haruan (Channa striata) secara efektif menurunkan jumlah limfosit fase inflamasi dalam penyembuhan luka (Extract of haruan (Channa striata) decreases lymphocyte count in inflammatory phase of wound healing process effectively)*. Dentofasial, Vol.13, No.3:176-181. ISSN:1412-8926.
- Judhaswati, D., Ratna., Damayanti, O., Herna. (2018). *Kelayakan Usaha Pengolahan Limbah Kulit Udang dan Rajungan (Studi di Kabupaten Situbondo dan Banyuwangi Provinsi Jawa Timur)*. Cakrawala, 12(2) 2018: 118-136. DOI: <https://doi.org/10.32781/cakrawala.v12i2.253>.
- Kiemer, A. K., Hartung, T., Huber, C., and Vollmar, A. M. (2003). *Phyllanthus amarus has anti-inflammatory potential by inhibition of iNOS, COX-2, and cytokines via the NF- κ B pathway*. J. Hepatol. 38, 289–297.
- Kenneth, K. et al. (2010). William Hematology 8th Edition. Ebook p.38-39
- Kusumastuti, E., Handajani, J., Susilowati, H. (2014). *Eksresi COX-2 dan Jumlah Neutrofil Fase Inflamasi pada Proses Penyembuhan Luka Setelah Pemberian Sistemik Ekstrak Etanolik Rosela (Hibiscus sabdariffa) (studi in vivo pada Tikus Wistar)*. Maj Ked Gi 21(1): 13 – 19.

- Lim K.C., Yusoff F.M., Shariff M., Kamarudin M.S. (2017). *Astaxanthin as feed supplement in aquatic animals*. Rev. Aquacult. doi: 10.1111/raq.12200.
- L,M-A.J, Seabra ., L,F,C, Pedrosa. (2010). *Astaxanthin : Structural and Fungsional Aspect*. Rev. Nutr., Campinas, 23(6):1041-1050, nov./dez.
- Purnamasari, Indah., Purnama, Dewi., Utami ,Fajar,M,A.(2017). *Pertumbuhan Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) di Tambak Intensif* .Jurnal Enggano Vol. 2, No. 1. EISSN: 2527-5186.
- Suman dan Satria.(2013).*Strategi Pengelolaan Udang Laut Dalam Secara Berkelanjutan di Indonesia*. J. Kebijak. Perikan. Ind. Vol.5 No. 1, p 47-55.
- Stamatios P., Thomais V., Athanasios V. 2013. Bioactive Natural Substances from Marine Sponges: New Developments and Prospects for Future Pharmaceuticals. University of Athens, Greece.
- Swastawati, Fronthea & Wijayanti, Ima & Susanto, Eko.(2008). *Pemanfaatan Limbah Kulit Udang Menjadi Edible Coating untuk Mengurangi Pencemaran Lingkungan*.puslit2.petra.ac.id/ejournal/index.php/jtl/article/viewFile/17554/17469.4:1 01-106.

