

Potensi Antioksidan Ekstrak Cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus pelagicus*) dari Pekalongan, Jawa Tengah, Indonesia

Antioxidant Potential of Crab Shell Extract (Portunus pelagicus) from Pekalongan, Central Jawa, Indonesia

Nur Ermawati^{1*}, Khafid Mahbub¹, Sri Mumpuni Yuniarsih², Kharisma Wido Wiranti¹, Felicia Aurelia Octaviani¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pekalongan, Pekalongan, Indonesia

²Program Studi Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pekalongan, Pekalongan, Indonesia

*email korespondensi: nurermawati29@gmail.com

ABSTRAK

Radikal bebas dapat memicu stres oksidatif yang berperan besar dalam perkembangan berbagai penyakit degeneratif. Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas tersebut dan mencegah kerusakan pada sel. Penelitian ini bertujuan untuk menilai aktivitas antioksidan dari ekstrak cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) yang berasal dari daerah Wonokerto, Kabupaten Pekalongan, dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Proses ekstraksi dilakukan melalui tahapan demineralisasi, deproteinasi, dan maserasi menggunakan minyak kelapa murni. Hasil analisis fitokimia menunjukkan adanya kandungan terpenoid yang dikenal memiliki sifat antioksidan, namun senyawa astaxanthin tidak terdeteksi melalui metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji aktivitas antioksidan pada konsentrasi 5, 10, 50, dan 100 ppm menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 549,40 ppm, yang menunjukkan bahwa potensi antioksidan yang dimiliki sangat rendah. Tidak ditemukannya astaxanthin serta rendahnya aktivitas antioksidan ini kemungkinan disebabkan oleh keterbatasan dalam metode ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, atau rendahnya kadar senyawa aktif dalam sampel. Hasil penelitian ini menekankan pentingnya optimalisasi teknik ekstraksi untuk meningkatkan kandungan bioaktif dari cangkang kepiting rajungan. Studi ini juga mendukung pemanfaatan limbah laut dan memberikan pandangan baru dalam upaya pengembangan antioksidan untuk keperluan farmasi dan nutrasetikal.

Kata kunci: Antioksidan; Astaxanthin; Metode DPPH; *Portunus pelagicus*

ABSTRACT

Free radicals contribute to oxidative stress, which plays a key role in degenerative diseases. Antioxidants neutralize free radicals, preventing cellular damage. This study evaluates the antioxidant activity of Portunus pelagicus shell extract from Wonokerto, Pekalongan Regency, using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. Extraction was performed through demineralization, deproteinization, and maceration with virgin coconut oil. Phytochemical analysis confirmed the presence of terpenoids, which are known for their antioxidant properties, but Thin Layer Chromatography (TLC) did not detect astaxanthin. Antioxidant activity testing at concentrations of 5, 10, 50, and 100 ppm resulted in an IC₅₀ value of 549.40 ppm, indicating very weak antioxidant potential. The absence of astaxanthin and the weak activity may be due to extraction method limitations, solvent choice, or low concentrations of active compounds. These findings highlight the need for optimized extraction techniques to enhance the bioactive potential of crab shell-derived compounds. This study contributes to marine biowaste utilization and provides insights into improving antioxidant properties for pharmaceutical and nutraceutical applications.

Keywords: Antioxidants, astaxanthin, crab shell, DPPH method, *Portunus pelagicus*

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah molekul atau senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan. Radikal bebas menyebabkan stres oksidatif yang berperan penting dalam patofisiologi proses penuaan dan berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, diabetes, gangguan kardiovaskular, dan penyakit neurodegeneratif (Sharma dan Mehdi 2023). Antioksidan dapat mengatasi radikal bebas (Singh 2024). Antioksidan adalah zat yang dapat menghambat atau menetralkan proses oksidasi, bahkan dalam konsentrasi yang rendah (Samir, Youssef, dan Fouad 2025). Antioksidan dalam jumlah yang cukup dapat mengurangi risiko terjadinya penyakit degeneratif. Mengonsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologis dan mencegah munculnya penyakit degeneratif. Kecukupan antioksidan yang optimal dibutuhkan oleh semua kelompok usia (Fadlilah dan Lestari 2023). Penelitian mengenai antioksidan alami semakin mendapat perhatian besar dan menjadi topik yang banyak dikaji. Antioksidan alami umumnya lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintetis, yang dapat bersifat karsinogenik dan beracun bagi manusia. Antioksidan sintetis seperti BHT dan BHA diduga bersifat karsinogenik serta dapat membahayakan sistem imun, kulit, paru-paru, dan hati (Xu et al. 2021). Salah satu bahan alami yang berpotensi dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan adalah keping rajungan.

Keping Rajungan memiliki kandungan kolesterol dan lemak yang lebih rendah jika dibandingkan keping jenis lainnya, dan lebih banyak mengandung asam lemak omega-3. Keping rajungan adalah salah satu komoditas unggulan sektor perikanan Indonesia yang banyak diekspor ke mancanegara. Produksi keping rajungan di Indonesia pada tahun 2021 mencapai 58.106,54 ton. Salah satu komoditi unggulan perikanan di Wonokerto Kabupaten Pekalongan adalah keping rajungan (Fajriah 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak cangkang keping rajungan serta menganalisis komposisi senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Potensi antioksidan dinilai melalui berbagai uji *in vitro*, sementara komposisi senyawa bioaktif dianalisis menggunakan teknik kromatografi lapis tipis. Penelitian ini berperan dalam mengidentifikasi karakteristik fungsional serta komposisi kimia dari ekstrak cangkang keping rajungan. Saat ini penelitian terkait cangkang keping rajungan belum banyak dilakukan. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk menggali kandungan senyawa aktif dan antioksidan yang ada dalam ekstrak cangkang keping rajungan (*Portunus pelagicus*) yang diperoleh dari Pekalongan khususnya wilayah Wonokerto yang cukup melimpah. Cangkang keping rajungan diekstraksi terlebih dahulu agar diperoleh senyawa metabolit sekunder yang

optimal. Ketersediaan kepiting rajungan di daerah tersebut dapat dioptimalisasikan pemanfaatannya untuk sektor industri pangan, kosmetik, maupun kesehatan.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu spektrofotometri UV-Vis (*Shimadzu*), timbangan analitik (*Satorius*), oven (*Memmert*), alat-alat gelas (*Pyrex*), pH meter, blender, ayakan 40 mesh, alat pengaduk magnetik dan penangas air. Bahan yang digunakan yaitu cangkang kepiting rajungan, HCl (*Merck*), NaOH (*Merck*), kloroform anhidrat, DPPH (1,1-difenil pikrilhidrazil), minyak kelapa murni, astaxanthin (*Merck*), vitamin C, plat silika gel G60F254, aluminium foil, kain saring, aseton (*Merck*), n-heksana (*Merck*) dan aquadest.

Persiapan Cangkang Kepiting Rajungan

Cangkang kepiting rajungan yang digunakan berasal dari perairan wilayah Wonokerto, Kabupaten Pekalongan, Provinsi Jawa Tengah, Indonesia. Sampel diambil pada pagi hari saat rajungan sedang aktif mencari makanan di perairan dangkal. Cangkang dicuci hingga bersih dan dikeringkan dalam oven suhu 50 °C. Setelah kering, cangkang dihaluskan menggunakan *blender* dan diayak menggunakan ayakan berukuran 40 mesh (Tanasale, Killay, dan Laratmase 2012).

Demineralisasi

Tahapan ini bertujuan untuk menghilangkan kandungan mineral yang terdapat pada cangkang kepiting rajungan dengan penambahan larutan HCl. Sebanyak 30 gram serbuk cangkang didemineralisasi dengan 300 mL larutan HCl 1 N. Campuran diaduk menggunakan alat pengaduk magnetik selama 1 jam, didinginkan, lalu disaring. Residu hasil penyaringan dicuci dengan aquadest hingga pH-nya netral. Residu dikeringkan dalam oven pada suhu 80 °C selama 6 jam (Apriliani et al. 2023).

Deproteinasi

Tahapan ini bertujuan untuk menghilangkan kandungan protein dalam serbuk cangkang kepiting rajungan agar bahan tidak membusuk. Sebanyak 9,2 gram residu hasil demineralisasi dideproteinasi menggunakan 92 mL larutan NaOH 1 N. Campuran tersebut diaduk dengan pengaduk magnetik selama 1 jam, didinginkan, lalu disaring. Residu hasil penyaringan dicuci dengan air suling hingga pH-nya netral. Residu kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80 °C selama 5 jam (Apriliani et al. 2023).

Ekstraksi Cangkang Kepiting Rajungan

Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi menggunakan minyak kelapa dengan perbandingan 1:4 (b/v) dan diekstraksi selama 2 jam pada suhu 70 °C di atas penangas air. Filtrat disaring menggunakan kain saring dan disentrifugasi pada kecepatan 4500 rpm selama 5 menit. Sampel minyak yang mengandung astaxanthin kemudian disimpan dalam botol kaca yang telah dibungkus dengan aluminium foil (Maharani, Kurniasih, dan Sumardianto 2023).

Identifikasi Senyawa Astaxanthin

Identifikasi dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase diam yang digunakan adalah silica gel G60F254 (Merck) dan dielusi dengan pelarut campuran aseton:n-heksana dengan perbandingan 1:4. Pola pemisahan diamati berdasarkan noda warna yang terbentuk (Mauludia et al. 2021).

Uji Fitokimia Terpenoid

Sebanyak 0,3 gram ekstrak cangkang kepiting rajungan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 mL kloroform anhidrat. Selanjutnya, ditambahkan 1–2 tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat, kemudian terjadi perubahan warna dan terbentuk dua lapisan, warna coklat kemerahan menunjukkan hasil positif terhadap keberadaan terpenoid (Prasetyaningsih et al. 2021).

Penentuan *Operating Time*

Larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 mL ditambahkan dengan larutan standar vitamin C 9 ppm sebanyak 450 μ L, lalu diukur serapannya dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditetapkan dengan interval waktu 5 menit sampai 60 menit (Susiloningrum dan Mugita Sari 2021).

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Parameter hasil uji menggunakan metode DPPH adalah Konsentrasi Inhibisi (IC), yaitu konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas. Radikal DPPH merupakan senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan nilai serapan yang kuat pada panjang gelombang 516 nm dan berwarna ungu tua. Warna ungu pada DPPH akan berubah menjadi kuning ketika bereaksi dengan senyawa antioksidan. Tingkat perubahan warna yang terjadi diukur menggunakan spektrofotometer (Pangaribuan, Sitorus, dan Saleh 2016).

Pembuatan larutan DPPH 0,4 mM dilakukan dengan melarutkan 7,4 mg DPPH (BM 394,32 g/mol) ke dalam metanol p.a. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam labu takar 50 mL dan diencerkan hingga tanda batas. Sampel dibuat dalam bentuk larutan dengan berbagai konsentrasi, yaitu 5, 10, 25, 50, dan 100 μ g/mL. Kontrol positif yang digunakan adalah larutan

vitamin C. Kontrol positif dibuat dalam larutan dengan konsentrasi 3, 6, 9, 12, dan 15 µg/mL (Pangaribuan et al. 2016).

Setiap larutan sampel dan standar dengan berbagai konsentrasi kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dicampur dengan 1 mL larutan DPPH. Setelah dicampur, larutan diinkubasi dalam penangas air pada suhu 37 °C selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 516 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Persentase penghambatan dihitung menggunakan rumus berikut:

$$Inhibition = \frac{\text{Blank absorption} - \text{Sample absorption}}{\text{Blank absorption}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration 50*) adalah konsentrasi antioksidan (g/mL) yang dapat menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC₅₀ diperoleh dari titik potong garis antara 50% penghambatan dengan sumbu konsentrasi, kemudian dimasukkan ke dalam persamaan:

$$Y = a + bX$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 10 kg kepiting rajungan dilakukan sortasi basah untuk memisahkan bahan dari kotoran atau bahan asing serta biota lainnya. Pada tahapan ini, daging kepiting rajungan juga dipisahkan dari cangkangnya. Cangkang kepiting rajungan basah yang digunakan sebagai sampel penelitian sebanyak 595,85 gram. Selanjutnya sampel tersebut dikeringkan pada suhu 50 °C agar senyawa metabolit sekunder tidak rusak. Tahapan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam cangkang kepiting rajungan agar sampel tidak mudah ditumbuhi mikroba atau jamur.

Kadar air pada simplisia cangkang kepiting rajungan diukur menggunakan alat *moisture analyzer* dengan sampel sebanyak 1 gram pada suhu 105 °C. Batas maksimal kadar air yang diperbolehkan untuk simplisia berkualitas baik adalah kurang dari 10% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Hasil pengujian menunjukkan kadar air sampel sebesar 4,76%, yang berarti telah memenuhi standar yang ditetapkan. Setelah itu, simplisia dihaluskan untuk memperbesar luas permukaan guna mengoptimalkan proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder yang diinginkan. Serbuk yang dihasilkan kemudian disaring menggunakan ayakan berukuran 40 mesh agar diperoleh partikel yang seragam dengan tingkat kehalusan sedang, sehingga proses ekstraksi dapat berlangsung lebih efektif, karena semakin kecil ukuran serbuk maka proses penarikan senyawa metabolit sekunder akan semakin mudah. Jumlah serbuk cangkang rajungan yang dihasilkan sebanyak 312 gram, dan selanjutnya serbuk tersebut diproses lebih lanjut melalui tahap demineralisasi.

Tahap demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan kandungan mineral dalam cangkang kepiting rajungan. Sebagian besar kandungan mineral dalam cangkang kepiting rajungan adalah kalsium karbonat, dan sebagian kecil berupa kalsium fosfat. Keberadaan kedua jenis mineral ini sangat dipengaruhi oleh habitat tempat kepiting tersebut hidup (Rochima 2014). Kalsium karbonat lebih mudah dipisahkan dibandingkan protein karena garam anorganik tersebut hanya terikat secara fisik (Oyatogun et al. 2020). Proses demineralisasi umumnya dilakukan dengan menggunakan HCl atau asam lainnya seperti H_2SO_4 dalam kondisi tertentu (Oyatogun et al. 2020), namun HCl 10% lebih efektif dibandingkan H_2SO_4 . Selama proses demineralisasi, senyawa kalsium akan bereaksi dengan asam klorida dan larut dalam air (Apriliani et al. 2023). Penggunaan HCl dimaksudkan agar mineral (senyawa anorganik berupa garam) bereaksi dengan larutan dan membentuk garam klorida (Apriliani et al. 2023). HCl digunakan dengan konsentrasi 1N dan waktu perendaman selama 1 jam, dengan asumsi bahwa konsentrasi dan waktu perendaman tersebut tidak cukup kuat untuk menyebabkan hidrolisis. Larutan HCl yang ditambahkan ke dalam *beaker glass* berisi serbuk cangkang kepiting rajungan membentuk gelembung gas CO_2 , yang menunjukkan bahwa proses pelepasan mineral sedang berlangsung. Kandungan mineral utama dalam cangkang kepiting rajungan adalah kalsium karbonat dan kalsium fosfat. Garam mineral bereaksi dengan HCl membentuk gas CO_2 . Protein, lemak, fosfor, magnesium, dan zat besi juga ikut terbuang dalam proses ini. Adanya gas CO_2 atau gelembung tersebut menunjukkan bahwa telah terjadi proses pemisahan mineral pada cangkang kepiting (Irma, Karyani, dan Amarlita 2023).

Filtrat dicuci hingga pH-nya menjadi netral untuk mencegah kerusakan (pemutusan rantai) yang mungkin terjadi selama proses pengeringan, yang disebabkan oleh difusi asam ke dalam kisi kristal atau disosiasi asam dengan asam amino bebas dan residu protein (Pagarkar et al. 2017). Serbuk yang diperoleh dari proses demineralisasi kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu $80\text{ }^\circ\text{C}$ selama 6 jam untuk mengurangi kandungan air, menghasilkan 73,59 g serbuk cangkang kepiting rajungan. Selanjutnya, serbuk yang dihasilkan dari demineralisasi akan dilanjutkan ke tahap deproteinasi.

Deproteinasi adalah proses untuk menghilangkan protein dari cangkang kepiting rajungan. Melalui tahap ini, protein yang terikat kovalen dengan kitin pada cangkang akan dilepaskan dan membentuk natrium proteinat yang larut (Djaenudin et al. 2019). Tujuan dari proses deproteinasi adalah untuk mencegah pembusukan pada sampel serbuk cangkang rajungan. Sebanyak 73,59 gram serbuk cangkang demineralisasi dicampur dengan 735,9 mL NaOH 1 N. Secara umum, deproteinasi dilakukan dengan menerapkan kondisi basa yang diikuti dengan pemanasan selama waktu tertentu. NaOH dipilih sebagai basa karena lebih efisien,

relatif murah, dan mudah didapatkan. Tujuan penambahan basa adalah untuk mendenaturasi protein ke bentuk utamanya, yang kemudian mengendap. Larutan NaOH yang larut dalam air akan terdisosiasi menjadi Na^+ dan OH^- . Na^+ dari larutan NaOH akan berinteraksi dengan protein, mengikat ujung rantai protein yang bermuatan negatif, sehingga menyebabkan protein mengendap. Protein yang diekstraksi oleh NaOH disebut Na-proteinat (Djaenudin et al. 2019). Setelah itu, dilakukan proses filtrasi untuk memisahkan endapan dari supernatan. Sisa yang diperoleh dicuci dengan air distilasi hingga mencapai pH 7 untuk mencegah degradasi produk selama proses pengeringan (Djaenudin et al. 2019). Pengeringan dilakukan dalam oven pada suhu 80 °C selama 5 jam untuk mengurangi kandungan air dalam filtrat. Hasil dari deproteinasi cangkang kepiting rajungan adalah serbuk dengan berat 52,52 gram.

Serbuk cangkang kepiting rajungan yang telah dipisahkan dari proteinnya diekstraksi menggunakan teknik maserasi untuk memperoleh metabolit sekunder. Prinsip dasar dari teknik ini bergantung pada kemampuan pelarut untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif. Perbedaan konsentrasi antara dua pelarut yang digunakan menyebabkan senyawa aktif di dalam sel keluar dan bergerak hingga tercapai keadaan setimbang. Proses ini diulang hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Handoyo 2020). Astaxanthin dapat diekstraksi menggunakan berbagai jenis pelarut, salah satunya adalah minyak kelapa. Ekstraksi astaxanthin dengan minyak kelapa dan pemanasan merupakan metode yang sederhana, ramah lingkungan, dan aman (Maharani et al. 2023). Sebanyak 52,52 gram sampel dicampurkan dengan 208 mL minyak kelapa murni dengan perbandingan 1:4. Minyak dipilih sebagai pelarut karena metode ini ramah lingkungan dan cenderung menggunakan lebih sedikit energi. Proses ekstraksi kemudian dilakukan selama 2 jam dalam *waterbath* pada suhu 70 °C. Menurut (Maharani et al. 2023). Senyawa-senyawa seperti astaxanthin dan karotenoid yang memiliki sifat antioksidan dapat diekstraksi secara optimal pada suhu 70°C selama 2 jam. Ekstraksi metabolit sekunder yang diperoleh dari cangkang rajungan menghasilkan 112 gram. Ekstrak bertekstur kental, berwarna bening dan memiliki aroma minyak kelapa.

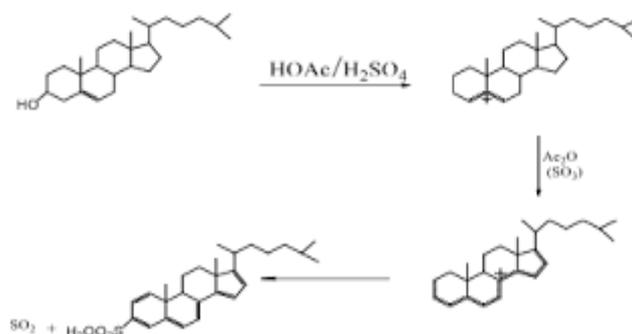
Kehadiran senyawa astaxanthin diidentifikasi menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan adalah campuran aseton dan n-heksana, yang dipilih berdasarkan efektivitasnya dalam memisahkan senyawa target dari senyawa karotenoid lainnya (Sherma dan Fried 2003). Hasil identifikasi astaxanthin ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Kromatogram Lapis Tipis Astaxanthin (A) dan Ekstrak Cangkang Rajungan (S)

Berdasarkan hasil KLT, dapat disimpulkan bahwa ekstrak cangkang kepiting rajungan dari daerah Wonokerto, Kabupaten Pekalongan, tidak mengandung senyawa astaxanthin. Astaxanthin merupakan jenis karotenoid dengan potensi antioksidan yang tinggi, Astaxanthin tidak hanya melindungi sel dari oksidasi, tetapi juga memperbaiki fungsi mitokondria dan menurunkan peradangan, sehingga memberikan efek kardioprotektif yang signifikan (Ketut, Utami, dan Noviyani 2024). Pernyataan ini bertentangan dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa cangkang kepiting rajungan mengandung senyawa karotenoid, yaitu sekelompok pigmen alami yang larut dalam lemak dan memberikan warna cerah pada organisme tersebut. Cangkang kepiting rajungan mengandung senyawa karotenoid yaitu sekelompok pigmen alami yang larut dalam lemak dan memberikan warna cerah pada organisme tersebut (Thamin et al. 2006). Kehadiran senyawa metabolit sekunder dalam suatu organisme dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti waktu panen, metode pemanenan, kondisi lingkungan tempat tumbuh, dan sumber nutrisi.

Pengujian senyawa terpenoid dilakukan menggunakan H_2SO_4 pekat karena asam ini menyebabkan oksidasi pada senyawa terpenoid, yang menghasilkan perubahan warna ekstrak menjadi coklat kemerahan (Prasetyaningsih et al. 2021). Reaksi kimia yang terjadi selama uji terpenoid dapat dilihat pada Gambar 2. Cangkang kepiting mengandung pigmen karotenoid yang termasuk dalam kelompok senyawa terpenoid dan berpotensi sebagai pewarna alami (Nasriani 2018).



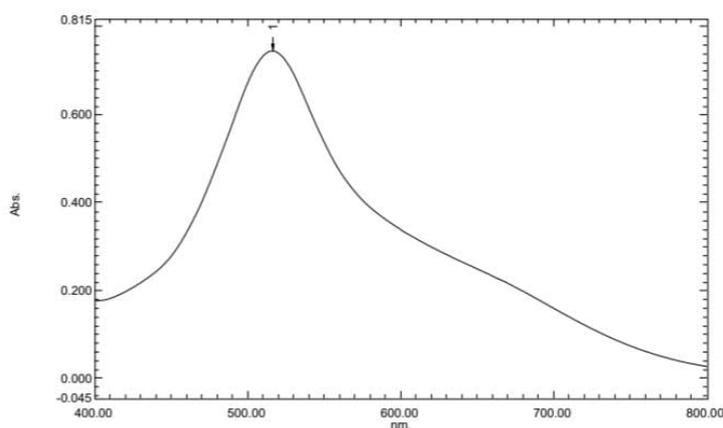
Gambar 2. Reaksi kimia pada uji terpenoid (Takaeb & Leo, 2023)

Ekstrak kasar cangkang udang *Litopenaeus vannamei* dari Pantai Gunung Kidul yang diberi perlakuan dengan kloroform dan asam sulfat pekat membentuk dua lapisan dengan warna coklat kemerahan, yang mengindikasikan adanya senyawa terpenoid (Prasetyaningsih et al. 2021). Astaxanthin merupakan senyawa terpenoid yang termasuk dalam kelompok xantofil dan golongan terpenoid (tetraterpenoid), yang terbentuk dari delapan unit isoprena dan mengandung 40 atom karbon.

Senyawa radikal bebas digunakan untuk mengukur aktivitas pemusnahan radikal bebas. Dalam penelitian ini, radikal bebas yang digunakan adalah DPPH. Metode DPPH dipilih karena keunggulannya, antara lain kesederhanaan, kepraktisan, kecepatan, sensitivitas dan hanya memerlukan sampel yang kecil untuk menilai aktivitas antioksidan dari senyawa alami. Oleh karena itu, metode ini banyak digunakan untuk menguji kemampuan senyawa yang bertindak sebagai donor elektron (Ridho 2013).

Prinsip dasar dari metode DPPH adalah bahwa senyawa antioksidan menyumbangkan atom hidrogennya kepada radikal DPPH, sehingga mereduksi DPPH menjadi bentuk non-radikal yang tereduksi. DPPH dalam bentuk non-radikal akan kehilangan warna ungunya, dan perubahan warna ini juga tercermin pada penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang maksimum, yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Rushing et al. 2011). Nilai pemusnahan radikal bebas DPPH diukur menggunakan Konsentrasi Inhibisi (IC_{50}), yaitu konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} yang lebih kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi, sementara nilai IC_{50} yang lebih besar menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah.

Langkah awal dalam uji aktivitas antioksidan adalah menentukan panjang gelombang absorpsi maksimum, yang bertujuan untuk mengidentifikasi panjang gelombang yang menghasilkan absorpsi tertinggi, yaitu ketika senyawa berwarna yang terbentuk mencapai kondisi optimalnya, sehingga mencapai sensitivitas maksimum. Spektrum dari panjang gelombang absorpsi maksimum DPPH dapat dilihat pada Gambar 3. Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel sebaiknya dilakukan pada panjang gelombang yang optimal untuk meningkatkan sensitivitas dan meminimalkan potensi kesalahan. Hal ini karena perubahan absorbansi pada setiap konsentrasi tergantung pada panjang gelombang yang digunakan (Hasan et al. 2022). Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 516 nm dengan absorbansi 0,743, yang konsisten dengan pernyataan Molyneux pada tahun 2004, yang menyebutkan bahwa DPPH dapat menunjukkan absorpsi maksimum pada panjang gelombang antara 515-520 nm.



Gambar 3. Panjang gelombang maksimum DPPH 0,4 mM.

Operating time menunjukkan bahwa reaksi antara larutan uji dan DPPH telah selesai yang diukur berdasarkan absorbansi larutan (Suharyanto dan Prima 2020). Dalam penentuan *operating time*, digunakan periode inkubasi selama 60 menit, dengan pengamatan absorbansi dilakukan setiap 5 menit. Stabilitas suatu senyawa dapat ditentukan dengan mengamati absorbansi dari awal reaksi hingga nilai absorbansi yang stabil tercapai. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum secara teoritis. Pada tahapan ini diperoleh waktu serapan stabil pada 5 hingga 60 menit, dengan selisih absorbansi yang konstan sehingga pengukuran dilakukan pada *operating time* pada menit ke 5 hingga 60 menit.

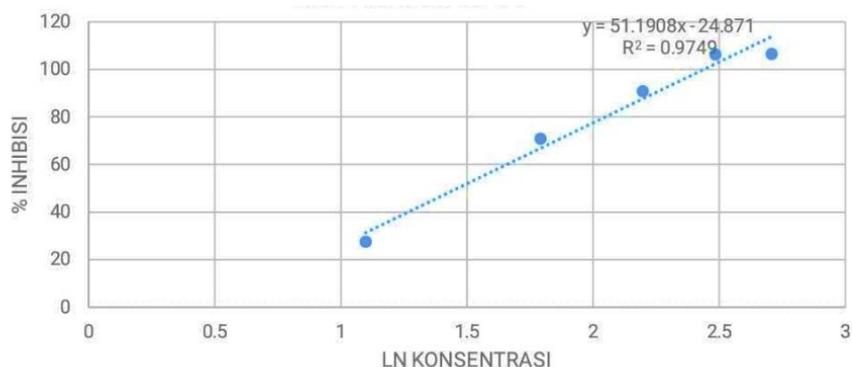
Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dalam uji aktivitas antioksidan untuk membandingkan potensi antioksidan ekstrak cangkang kepiting rajungan. Uji ini bertujuan untuk mengamati reaksi vitamin C terhadap radikal bebas DPPH, yang ditunjukkan dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Vitamin C, sebagai antioksidan sekunder, dapat menetralkan berbagai radikal bebas ekstraseluler. Kehadiran grup hidroksil bebas berfungsi untuk menangkap radikal bebas, sementara grup polihidroksil dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Syamsu dan Rachman 2023). Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C

Konsentrasi Vitamin C ($\mu\text{g/mL}$)	Ln Konsentrasi	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀	Keterangan
3	1.0986123	0.492	27.5405007		
6	1.7917595	0.198	70.8394698	1.6337648	Sangat Kuat
9	2.1972246	0.062	90.7952872		
12	2.4849066	-0.042	106.2592047		
15	2.7080502	-0.044	106.4801178		

Hasil perhitungan pada Tabel 1 dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier, dengan Ln konsentrasi vitamin C (ppm) sebagai sumbu x (absis) dan nilai % inhibisi sebagai sumbu y

(ordinat). Kurva dari persamaan regresi linier untuk aktivitas antioksidan vitamin C dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Persamaan Regresi Linear Vitamin C

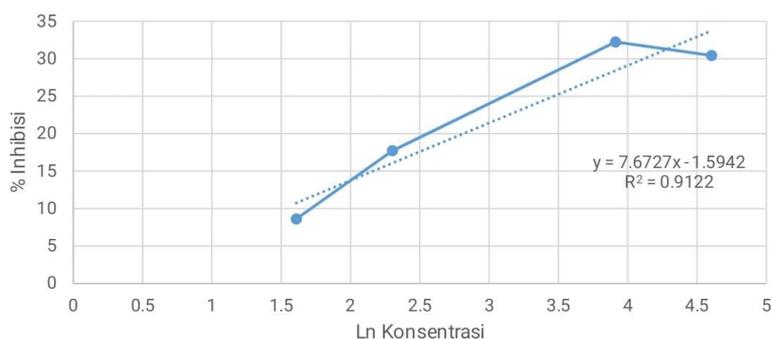
Berbagai konsentrasi larutan sampel vitamin C ditambahkan ke larutan DPPH dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit untuk memastikan reaksi antara senyawa uji dan radikal DPPH terjadi secara optimal. Reaksi ini ditunjukkan dengan perubahan warna larutan sampel vitamin C dari ungu menjadi kuning. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH, yaitu 516 nm.

Nilai IC_{50} vitamin C, yang sebesar 1,633764841 ppm, termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan yang sangat kuat, karena nilai IC_{50} -nya kurang dari 50 ppm. Temuan ini konsisten dengan penelitian yang dilakukan oleh Pangaribuan et al. pada tahun 2016, yang melaporkan nilai IC_{50} vitamin C sebesar 3,619 ppm, yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan vitamin A dan vitamin E, dengan nilai IC_{50} rata-rata sebesar 14,79 $\mu\text{g/mL}$ (Lung dan Destiani 2017).

Absorbansi dan persentase inhibisi pada ekstrak cangkang kepiting rajungan menunjukkan fluktuasi yang tidak signifikan, baik penurunan maupun peningkatan (Tabel 2 dan Gambar 5). Ketidakstabilan dalam hasil ini mungkin disebabkan oleh berbagai faktor, seperti kesalahan teknis (kesalahan manusia) selama penambahan larutan pada setiap replikasi atau kontaminasi dari zat lain, yang menyebabkan variasi pada nilai yang diperoleh (Pratiwi et al. 2023).

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cangkang Rajungan

Konsentrasi Ekstrak ($\mu\text{g/mL}$)	Ln Konsentrasi	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC_{50}	Keterangan
5	1.6094379	0.456	8.6086086		
10	2.3025851	0.411	17.7177177	549.404641	Sangat Lemah
50	3.9120230	0.338	32.2322322		
100	4.6051701	0.347	30.4304304		



Gambar 5. Persamaan Regresi Linear Ekstrak Cangkang Rajungan

Penelitian ini menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 549,404641 ppm untuk ekstrak cangkang kepiting rajungan, yang diklasifikasikan sebagai sangat lemah atau tidak aktif. Hasil penelitian ini konsisten dengan temuan dari (Karnila, Edison, dan Ramadhani 2021) yang melaporkan nilai IC_{50} untuk cangkang kepiting mangrove sebesar 805,837 $\mu\text{g}/\text{mL}$, yang juga dikategorikan sebagai lemah atau tidak aktif. Pada penelitian digunakan metode yang sama yaitu DPPH, namun pelarut yang digunakan pada ekstrak cangkang kepiting mangrove adalah aseton.

Sebuah senyawa dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat dengan rentang IC_{50} 51-100 ppm, sedang dengan IC_{50} 101-150 ppm, lemah jika $IC_{50} > 151$ ppm, dan sangat lemah/tidak aktif jika $IC_{50} > 500$ ppm (Ni Nyoman Yuliani, Jefrin Sambara 2016). Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak cangkang kepiting rajungan cukup tinggi, sehingga tidak akurat untuk menyatakan bahwa aktivitas antioksidannya sangat lemah atau tidak aktif. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan DPPH dalam uji ini adalah metanol, yang bersifat polar, sehingga dapat diasumsikan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak bersifat non-polar, yang mengakibatkan pelarutan senyawa tersebut dalam pelarut tidak sempurna. Jumlah senyawa aktif yang terlarut dalam pelarut tertentu akan bervariasi dan mempengaruhi nilai IC_{50} yang dihasilkan (Karnila et al. 2021).

KESIMPULAN

Penelitian ini menilai aktivitas antioksidan dari ekstrak cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) asal Wonokerto, Kabupaten Pekalongan, dengan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa meskipun ekstrak tersebut mengandung senyawa terpenoid, potensi antioksidannya sangat lemah, dengan nilai IC_{50} sebesar 549,40 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa limbah cangkang kepiting rajungan dari daerah ini memiliki potensi terbatas sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian ini memberikan kontribusi terhadap

pemahaman pemanfaatan limbah biota laut, namun juga menekankan perlunya penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan sifat bioaktifnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriliani, Dwi, Lia Handayani, Nadia Putri, Reza Zuhrayani, and Faisal Syahputra. 2023. "Isolasi Kitosan Dari Cangkang Udang Pisang (*Penaeus* Sp) Sebagai Spesies Endemik Di Pantai Barat Aceh." *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 17(3):599–607. doi: 10.21107/agrointek.v17i3.16242.
- Djaenudin, Djaenudin, Emil Budianto, Endang Saepudin, and Muhamad Nasir. 2019. "Ekstraksi Kitosan Dari Cangkang Rajungan Pada Lama Dan Pengulangan Perendaman Yang Berbeda." *Jurnal Teknologi Perikanan Dan Kelautan* 10(1):49–59. doi: 10.24319/jtpk.10.49-59.
- Fadlilah, Aida Roja, and Keri Lestari. 2023. "Review : Peran Antioksidan Dalam Imunitas Tubuh." *Farmaka* 21(2):171–78.
- Fajriah, Syarifah Dina. 2014. "7653-16661-1-Sm." 10(2):218–33.
- Handoyo, Diana Lady Yunita. 2020. "Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle*)." *Jurnal Farmasi Tinctura* 2(1):34–41. doi: 10.35316/tinctura.v2i1.1546.
- Hasan, Hamsidar, Nur Ain Thomas, Faramita Hiola, Fika Nuzul Ramadhani, and Anggun Sasmita Ibrahim. 2022. "Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia Pinnata*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2 Picrylhidrazyl (DPPH)." *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education* 2(1):67–73. doi: 10.37311/ijpe.v2i1.10995.
- Irma, Wa, M. Said Karyani, and Dhamas M. Amarlita. 2023. "Analisis Kitin Dari Cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus Pelagicus*)." *HORIZON: Indonesian Journal of Multidisciplinary* 1(2):105–16. doi: 10.54373/hijm.v1i2.941.
- Karnila, R., Edison, and N. R. Ramadhani. 2021. "Antioxidant Activity of Astaxanthin Flour Extract of Mud Crab (*Scylla Serrata*) with Different Acetone Concentrations." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 695(1). doi: 10.1088/1755-1315/695/1/012047.
- Ketut, Pande, Astri Utami, and Rini Noviyani. 2024. "Potensi Karotenoid Astaxanthin Pada Alga Sebagai Nutrasetikal Kardioprotektif." 3:240–50.
- Lung, Jackie Kang Sing, and Dika Pramita Destiani. 2017. "Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E Dengan Metode DPPH." *Farmaka Suplemen* 15(1):53–62.
- Maharani, Natasha Rizky, Retno Ayu Kurniasih, and Sumardianto. 2023. "Ekstraksi Astaxanthin Dengan Suhu Yang Berbeda Dari Karapas Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*) Menggunakan Pelarut Minyak Kelapa." *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan* 5(1):26–31.
- Mauludia, Mauludia, Thamrin Usman, Winda Rahmalia, Dwi Imam Prayitno, and Siti Nani Nurbaeti. 2021. "Ekstraksi, Karakterisasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Astaxanthin Dari

- Produk Fermentasi Udang (Cincalok).” *Jurnal Kelautan Tropis* 24(3):311–22. doi: 10.14710/jkt.v24i3.10497.
- Nasriani, Nasriani. 2018. “Ekstraksi Pigmen Karotenoid Pada Cangkang Kepiting Sebagai Pewarna Alami Yang Sehat.” *Akademika : Jurnal Ilmiah Media Publikasi Ilmu Pengetahuan Dan Teknologi* 7(1):27. doi: 10.31314/akademika.v7i1.95.
- Ni Nyoman Yuliani, Jefrin Sambara, Maria Alexandria Mau. 2016. “UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETILASETAT EKSTRAK ETANOL RIMPANG JAHE MERAH (*Zingiber Officinale* Var. *Rubrum*) DENGAN METODE DPPH(1,1-Diphenyl-2- Picrylhydrazyl) Ni.” *Informasi Kesehatan* 14.
- Oyatogun, G. M., T. A. Esan, E. I. Akpan, S. O. Adeosun, A. P. I. Popoola, B. I. Imasogie, W. O. Soboyejo, A. A. Afonja, S. A. Ibitoye, V. D. Abere, A. O. Oyatogun, K. M. Oluwasegun, I. E. Akinwole, and K. J. Akinluwade. 2020. “Chapter 11 - Chitin, Chitosan, Marine to Market.” Pp. 341–81 in, edited by S. Gopi, S. Thomas, and A. B. T.-H. of C. and C. Pius. Elsevier.
- Pagarkar, A., Bhavesh Gaikwad, Hukam Singh, Sachin Satam, Nikheel Rathod, Bhaskar Bhosale, and Krupesh Sawant. 2017. “Utilization Shellfish Waste in to Chitin, Chitosan and Its Application.” 37:12–15.
- Pangaribuan, Fransiscus X. Rico, Saibun Sitorus, and Chairul Saleh. 2016. “Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum*) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryhidrazyl).” *Jurnal Atomik* 1(2):81–85.
- Prasetyaningsih, Anik, Graciela Carina Najoan, Abner Wisaksono, and Djoko Rahardjo. 2021. “Ekstraksi Astaxanthin Kulit Udang (*Litopenaeus Vannamei*) Pantai Gunung Kidul Menggunakan Pelarut Minyak Bunga Matahari Dan Etanol.” *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)* 7(1):33–43. doi: 10.33474/e-jbst.v7i1.384.
- Pratiwi, A. ..., Yusran, Islawati, and Artati. 2023. “Analisis Kadar Antioksidan Pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis.” *Bioma : Jurnal Biologi Makassar* 8(August 2022):66–74.
- Ridho, Eri Al. 2013. *UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL BUAH LAKUM (Cayratia Trifolia) DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)*.
- Rochima, Emma. 2014. “Karakterisasi Kitin Dan Kitosan Asal Limbah Rajungan Cirebon Jawa Barat.” *Jurnal Buletin Teknologi Hasil Perikanan* X(1):9–22.
- Rushing, Justin, Caitlin Cassidy Deskins, Bernhard Vogler, and William Setzer. 2011. “Antioxidant Assay: The DPPH Method.” 50.
- Samir, Bikri, Aboussaleh Youssef, and Farida Fouad. 2025. “Chapter 11 - The Pathophysiology of Neurodegenerative Diseases: The Back Effects of Oxidative Stress and Antioxidants System.” Pp. 179–94 in, edited by W. M. Y. B. T.-E. G. to N. D. Mohamed. Academic Press.
- Sharma, Vinita, and Mohammad Murtaza Mehdi. 2023. “Oxidative Stress, Inflammation and Hormesis: The Role of Dietary and Lifestyle Modifications on Aging.” *Neurochemistry*

- International* 164(October 2022):105490. doi: 10.1016/j.neuint.2023.105490.
- Sherma, J., and B. Fried. 2003. *Handbook of Thin-Layer Chromatography*. CRC Press.
- Silverman, Milton, Philip R. Lee, and Mia Lydecker. 2023. "Formularies." *Pills and the Public Purse* 97–103. doi: 10.2307/jj.2430657.12.
- Singh, Sanjay. 2024. "Antioxidant Nanozymes as Next-Generation Therapeutics to Free Radical-Mediated Inflammatory Diseases: A Comprehensive Review." *International Journal of Biological Macromolecules* 260:129374. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129374>.
- Suharyanto, Suharyanto, and Dela Anding Nadia Prima. 2020. "Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) Yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis." *Cendekia Journal of Pharmacy* 4(2):110–19. doi: 10.31596/cjp.v4i2.89.
- Susiloningrum, Dwi, and Dessy Erliani Mugita Sari. 2021. "Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma Mangga* Valetton & Zijp) Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut." *Cendekia Journal of Pharmacy* 5(2):117–27. doi: 10.31596/cjp.v5i2.148.
- Syamsu, Rachmat Faisal, and Mochammad Erwin Rachman. 2023. "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ETANOL BUAH TIN (*Ficus Carica*) DENGAN METODE DPPH DAN FRAP." *As-Syifaa Jurnal Farmasi* 15(1):79–86. doi: 10.56711/jifa.v15i1.976.
- Tanasale, Matheis F. J. D. P., Amos Killay, and Marsela S. Laratmase. 2012. "Kitosan Dari Limbah Kulit Kepiting Rajungan (*Portunus Sanginolentus* L.) Sebagai Adsorben Zat Warna Biru Metilena." *Jurnal Natur Indonesia* 14(1):165. doi: 10.31258/jnat.14.1.165-171.
- Thamin, Aswan, Chairulwan Umar, and Darussadah Paransa. 2006. "Analisis Pigmen Dan Aktivitas Antibakteri In Vitro Pigmen Astaksantin Kepiting (*Grapsus Albolineatus* Lamarck) Jantan." *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada* 8(2):160. doi: 10.22146/jfs.133.
- Xu, Xiaoqing, Aimei Liu, Siyi Hu, Irma Ares, María-Rosa Martínez-Larrañaga, Xu Wang, Marta Martínez, Arturo Anadón, and María-Aránzazu Martínez. 2021. "Synthetic Phenolic Antioxidants: Metabolism, Hazards and Mechanism of Action." *Food Chemistry* 353:129488. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129488>.