

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Sumber Daya Lobster di Indonesia

Perairan Laut Jawa berada di urutan kelima di Indonesia berdasarkan potensi penangkapan lobster. Tingginya permintaan dan harga jual lobster yang terus meningkat menjadikan komoditas ini sebagai salah satu sumber pendapatan yang penting bagi Indonesia. Pada tahun 2018, Indonesia berhasil mengekspor sebanyak 1.958 ton lobster, meskipun angka tersebut sedikit lebih rendah dibandingkan dengan ekspor pada tahun 2017 yang tercatat mencapai 2.167 ton. Meskipun demikian, usaha perikanan lobster tetap memiliki potensi besar dalam meningkatkan kesejahteraan masyarakat, terutama karena harga lobster yang terus mengalami kenaikan, khususnya jika lobster yang diekspor dalam kondisi yang baik (Irwani *et al.*, 2019).

Lobster yang diekspor umumnya adalah jenis yang memiliki harga tinggi, seperti lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*), lobster pasir (*Panulirus homarus*), dan lobster mutiara (*P. ornatus*). Selain itu, perairan Indonesia juga menyimpan berbagai jenis lobster lainnya, termasuk lobster batu (*P. penicillatus*), lobster Pakistan (*P. polyphagus*), lobster batik (*P. femoristriga*) dan lobster bambu (*P. versicolor*). Jenis-jenis lobster ini memiliki penyebaran yang luas dan dapat ditemukan hampir di seluruh perairan karang di Indonesia (Ernawati *et al.*, 2014)

2.2 Lobster Air Tawar

2.2.1 Klasifikasi Lobster Air Tawar

Klasifikasi lobster air tawar menurut Munis (2012) sebagai berikut:

Phylum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Ordo	: Decapoda
Family	: Parastacidae
Genus	: Cherax
Species	: Cherax quadricarinatus

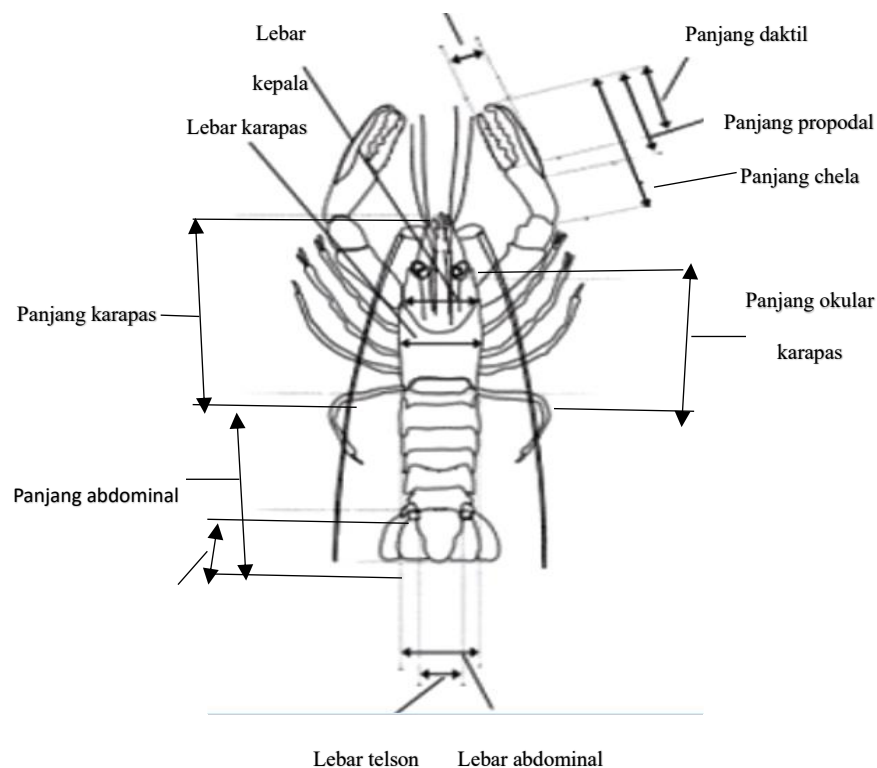


Gambar 2.1 *Cherax quadricarinatus*
(Tampubolon & Maitindom, 2023)

2.2.2 Morfologi Lobster

Secara umum, lobster air tawar memiliki ciri-ciri morfologi tubuh terbagi menjadi dua bagian, yakni kepala (*Chepalothorax*) dan badan (*Abdomen*). Diantara kepala depan dan bagian belakang dikenal dengan nama sub *Chepalothorax*. Cangkang yang menutupi kepala disebut karapas (*Carapace*) yang berperan dalam melindungi organ tubuh seperti otak, insang, hati dan

lambung. Karapas berbahan zat tanduk atau kitin yang tebal dan merupakan nitrogen polisakarida yang disekresikan oleh kulit epidermis dan dapat mengupas saat pergantian cangkang tubuh Tubuh lobster dibagi menjadi dua bagian, yaitu kepala dada (*chepalothoraks*) dan badan (*abdomen*).



Gambar 2.2. Morfologi lobster

(Rigg *et al.*, 2020)

Chepalothoraks diselubungi oleh karapas yang memanjang dari somit terakhir sampai mata, kadang-kadang membentuk rostrum yang menonjol di atas mata. Pada bagian lateral, karapas menutupi ruang branchial sehingga melindungi insang. *Chepalothoraks* terdiri atas 14 somit yang mengalami fusi, masing-masing dengan sepasang kaki gerak, enam somit pertama terdiri dari

chepalon, dan delapan terakhir pada thoraks (Gambar 2). Kaki gerak pada thoraks mencakup mata, antena dan antenula, mulut, serta lima pasang kaki jalan (Butler, 2001)

Mata lobster air tawar cukup besar, berupa mata majemuk yang terdiri dari ribuan mata yang didukung oleh tangkai mata (*stalk*). Pergerakan mata bisa dilakukan dengan cara memanjang dan memendek. Namun pada beberapa jenis lobster yang matanya tidak bisa digerakkan sama sekali atau bahkan sama sekali tidak ada. Lobster air tawar memiliki dua pasang antena (*sungut*), satu pasang berukuran pendek (*antennula*) dan satu pasang lainnya berukuran lebih panjang yang berada dibagian luar. Antena pendek berfungsi sebagai sensor kimia dan mekanis, yaitu alat perasa air atau makanan. Antena panjang berfungsi sebagai alat peraba, perasa dan pencium. Selain itu antena juga digunakan sebagai alat proteksi (Situmorang, 2021).

Ciri lain yang terdapat pada lobster air tawar adalah rostrumnya hampir berbentuk segitiga memipih, lebar, dan terdapat duri di sekeliling rostrum sepuluh tersebut. Dilihat dari organ tubuh luar, lobster air tawar memiliki beberapa alat pelengkap sebagai berikut:

- a. Sepasang antena sebagai perasa dan peraba terhadap pakan dan kondisi lingkungan.
- b. Sepasang antenula untuk mencium pakan, 1 mulut dan sepasang capit (*cheliped*).

- c. Enam ruas badan (*abdomen*). Empat ekor, satu ekor tengah (*telson*) terletak di semua bagian tepi ekor. serta dua pasang ekor samping (*uropod*).
- d. Enam pasang kaki renang (*pleopod*) yang berperan dalam melakukan gerakan renang.
- e. Enam pasang kaki untuk berjalan (*pereiopod*) (Aulina, 2013).

Lobster air tawar tidak memiliki tulang dalam (internal skeleton), tetapi seluruh tubuhnya terbungkus oleh cangkang (eksternal skeleton). Bagian mulut pada lobster air tawar mencakup mandibel, maksila, dan maksiliped. Mulut berfungsi untuk menghancurkan makanan dengan cara menggerakkan dari samping kiri ke samping kanan. Pada bagian perut terdapat lima pasang kaki renang. Dibandingkan kaki jalan dan capit, ukuran kaki renang jauh lebih kecil dan pendek. Pada lobster betina, empat pasang kaki renangnya bisa digunakan untuk memegang telur yang melekat pada perutnya. Masing-masing kaki tersebut akan bertautan melingkari kumpulan telurnya. Saat menggondong telur, kaki ini terkadang bergerak seperti gerakan mengipas. Gerakan tersebut dapat memberikan suplai oksigen yang dibutuhkan untuk telur yang digendongnya (Butler, 2001).

2.2.3 Pengertian Lobster Air Tawar

Lobster merupakan jenis udang yang memiliki potensi ekspor. Jenis lobster terbagi atas lobster air laut dan lobster air tawar. Lobster air tawar secara

latin *Cherax quadricarinatus*. Jenis lobster air tawar memiliki asal usul berasal dari benua Australia (Triarso & Putro, 2019). Selain itu lobster air tawar memiliki nilai jual sama dengan lobster air laut, dalam pengemasan tetap segar tanpa air sampai tujuan. Dilihat dari makanan, jenis lobster air tawar termasuk dalam kategori, sehingga mudah dalam menyediakan makanan (Cokrowati *et al.*, 2020).

Di kalangan peternak dan pembudidaya ikan, lobster air tawar populer karena memiliki nilai jual yang tinggi dan mudah dalam perawatannya. Awalnya lobster air tawar dibudidayakan untuk binatang hias yang diletakkan didalam akuarium, karena prospek yang menjanjikan. Lobster lebih unggul dibandingkan udang windu dan udang galah bila dilihat dari presentase daging yang tinggi, tahan terhadap penyakit, daya memijah 3-5 kali dalam setahun, bertahan dalam kondisi air yang keruh (Junaidi *et al.*, 2021).

Semakin meningkatnya permintaan lobster air tawar sebagai komoditas perikanan konsumsi, lobster air tawar ini pun mempunyai keunggulan-keunggulan bila dibandingkan dengan komoditas perikanan lainnya yang sudah berjalan (Takril, 2017).

2.2.4 Komponen Cangkang Lobster Air Tawar

Cangkang lobster memiliki komposisi kimia yang kompleks, terdiri dari beberapa komponen utama yang berperan penting dalam struktur dan fungsinya. Komponen-komponen tersebut meliputi:

- a. Kitin adalah polisakarida utama yang membentuk struktur keras pada cangkang lobster. Kitin merupakan polimer N-asetilglukosamin yang memiliki kekuatan dan kekakuan tinggi, sehingga memberikan perlindungan mekanis bagi lobster. Selain itu, kitin dapat diolah menjadi kitosan melalui proses deasetilasi, yang memiliki berbagai aplikasi dalam industri farmasi, pertanian, dan pengolahan limbah (Pramesti *et al.*, 2022)
- b. Protein, dalam cangkang lobster berfungsi sebagai matriks yang mengikat serat kitin, memberikan fleksibilitas dan kekuatan tambahan pada struktur cangkang. Beberapa protein ini juga berperan dalam pewarnaan cangkang melalui interaksi dengan pigmen tertentu (Isriani *et al.*, 2022)
- c. Mineral, terutama kalsium karbonat (CaCO_3), berkontribusi pada kekerasan dan kekuatan cangkang. Kandungan kalsium karbonat yang tinggi membuat cangkang lobster menjadi sangat keras dan tahan terhadap tekanan eksternal. Proses pengerasan cangkang ini penting bagi lobster untuk melindungi diri dari predator dan lingkungan eksternal (Supriyadi *et al.*, 2023).

- d. Pigmen, seperti astaxanthin dan karotenoid lainnya, memberikan warna pada cangkang lobster. Astaxanthin adalah pigmen merah-oranye yang, ketika terikat dengan protein, dapat menghasilkan berbagai warna mulai dari biru hingga hijau pada lobster hidup. Saat dimasak, ikatan antara astaxanthin dan protein terurai, sehingga cangkang berubah menjadi warna merah cerah yang khas (Ngginak *et al.*, 2013).

Secara keseluruhan, komposisi kimia cangkang lobster yang terdiri dari kitin, protein, mineral, dan pigmen bekerja secara sinergis untuk memberikan perlindungan, kekuatan, dan fungsi biologis lainnya yang esensial bagi kelangsungan hidup lobster (Muktitama *et al.*, 2023).

2.3 Astaxanthin

2.3.1 Definisi Astaxanthin

Dalam beberapa tahun terakhir, industri makanan, farmasi, dan kosmetik telah menunjukkan minat yang besar terhadap molekul bioaktif yang berasal dari laut dan berpotensi tinggi sebagai nutrasetikal dan agen terapeutik. (Galasso *et al.*, 2017). Astaxanthin merupakan karotenoid utama pada organisme akuatik seperti udang, kepiting, ikan salmon, dan lobster. Pada beberapa organisme tersebut diketahui bahwa astaxanthin memiliki fungsi biologis yang esensial yaitu pigmentsi, perlindungan terhadap efek sinar UV, perlindungan terhadap

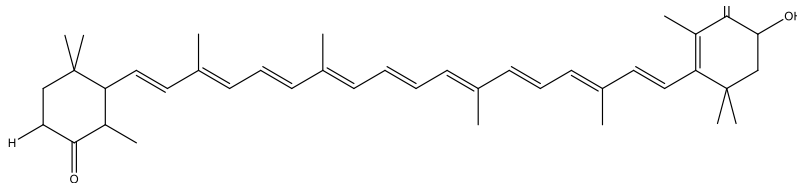
oksidasi asam lemak esensial tubuh, berhubungan dengan respon sistem imun, dan reproduksi (Karnila & Heriansyah, 2020).

Astaxanthin menunjukan aktivitas antioksidan jauh lebih kuat 52 kali daripada vitamin dan β karoten. Astaxanthin memiliki sifat kimia khusus karena struktur molekulnya. Adanya gugus fungsi hidroksil dan karbonil dalam ketoarotenoids membuat astaxanthin menjadi antioksidan yang sangat baik (Liu *et al.*, 2016).

Astaxanthin telah terbukti memiliki aktivitas biologi yang sangat baik berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan. Astaxanthin sebagai pigmen turunan dari xanthofil yang memiliki daya antioksidan dan antiinflamasi (Santos *et al.*, 2012). Gugus hidroksil dan keton pada cincin dalam molekul astaxanthin mengindikasikan bahwa senyawa tersebut lebih polar dibandingkan karotenoid lainnya dan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi. Pada astaxanthin mampu menetralkan radikal bebas dan oksidan secara baik dengan menerima atau menyumbangkan elektro tanpa menjadi pro-oksidan. Tidak hanya sebatas memiliki aktivitas sebagai antioksidan, penelitian terkait astaxanthin dan hasilnya menunjukkan bahwa astaxanthin memiliki aktivitas sebagai antidiabetes dan hipolipidemia (Karnila & Heriansyah, 2020).

2.3.2 Sifat kimia

Astaxanthin memiliki rumus molekul $C_{40}H_{52}O_4$ dan memiliki berat molekul 596,84 g/mol (Ambati *et al.*, 2014). Astaxanthin juga ditemukan dalam organisme air seperti udang, salmon, dan lobster (Da Silva *et al.*, 2015). Seperti karotenoid pada umumnya, astaxanthin (3,3'-dihidroksi- β,β -karoten-4,4'-dion) tersusun atas 40 atom karbon yang terhubung melalui ikatan tunggal dan rangkap bergantian membentuk rantai fitoen. Dalam bentuk serbuk murni, astaxanthin memiliki warna merah-oranye cerah yang khas, mirip dengan pigmen karotenoid lainnya, di mana intensitas warnanya dapat bervariasi tergantung pada tingkat kemurnian, bentuk kristal, serta kondisi penyimpanan seperti paparan cahaya, oksigen, dan suhu.



Gambar 2.3. Astaxanthin (3,3'-dihidroksi- β,β -karoten-4,4'-dion)

(Karnila & Heriansyah, 2020)

Struktur ini sangat penting untuk transfer dan disipasi energi serta memberikan warna yang khas. Rantai fitoen pada astaxanthin dimulai dan diakhiri dengan cincin ionon. Astaxanthin tergolong dalam kelompok xantofil karena adanya oksigen pada cincin ionon. Kehadiran gugus hidroksi dan keto

memungkinkan astaxanthin untuk mengalami esterifikasi, membuatnya lebih polar, dan memberikan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan karotenoid lainnya (Karnila & Heriansyah, 2020).

2.3.3 Sifat Fisik

Astaxanthin stabil dalam bentuk terikat dengan protein atau ketika membentuk ester dengan asam lemak seperti palmitat, oleat, atau linoleat. Karotenoid memiliki sifat tidak larut dalam air, sedikit larut dalam minyak, larut dalam hidrokarbon alifatik dan aromatik, serta larut dalam hidrokarbon terklorinasi seperti kloroform dan metilen klorida (Karnila & Heriansyah, 2020).

2.3.4 Manfaat Astaxanthin

Astaxanthin adalah karotenoid dengan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, yang telah diteliti secara luas dalam berbagai jurnal ilmiah. Berikut beberapa manfaat astaxanthin:

a. Antioksidan Kuat

Astaxanthin memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi, bahkan lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C dan E. Kemampuannya dalam menetralkan radikal bebas membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif (Aisoi, 2016).

b. Perlindungan Kulit

Paparan sinar ultraviolet (UV) dapat menyebabkan penuaan kulit dini atau photoaging. Astaxanthin memiliki kemampuan untuk menekan produksi Reactive Oxygen Species (ROS), mencegah penipisan lapisan kolagen, dan mengurangi pembentukan kerutan pada kulit. Hal ini menjadikannya efektif dalam mencegah kerusakan kulit akibat radiasi UV (Ekawati *et al.*, 2021).

c. Kesehatan Kardiovaskular

Astaxanthin berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang kuat, serta memiliki efek hipokolesterolemik. Penelitian menunjukkan bahwa astaxanthin dapat mengurangi stres oksidatif, mengatur profil lipid, dan melindungi dari iskemia reperfusi, sehingga berpotensi mencegah penyakit kardiovaskular seperti aterosklerosis dan hipertensi (Laja, 2021).

d. Aktivitas Antikanker

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa astaxanthin memiliki aktivitas antikanker pada mamalia. Mekanisme utamanya meliputi aktivitas antioksidan, peningkatan fungsi sistem imun, dan pengaturan ekspresi gen. Astaxanthin juga mampu

meningkatkan ekspresi gen apoptosis, sehingga memiliki potensi dalam pencegahan dan pengobatan kanker (Karnila & Heriansyah, 2020).

e. Perlindungan Terhadap Stres Oksidatif

Astaxanthin dapat membersihkan radikal bebas, memutus reaksi berantai, dan memodulasi sistem antioksidan tubuh. Sifat ini menjadikannya efektif dalam melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif, yang berperan dalam berbagai penyakit degeneratif (Laja, 2021).

2.4 UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*)

2.4.1 Definisi UAE

Ultrasonikasi telah banyak dimanfaatkan dalam industri makanan, baik untuk efek kimiawi maupun fisiknya. Gelombang ultrasonik yang digunakan untuk ekstraksi biasanya berkisar antara 20 hingga 100 kHz. Teknologi ekstraksi dengan ultrasonikasi (UAE) berfungsi untuk mempercepat waktu ekstraksi dan meningkatkan hasil dibandingkan dengan metode konvensional seperti hidrolisis dalam media asam. Pada metode UAE, gelombang suara bergerak melalui media cair, menghasilkan kompresi dan ekspansi. Proses ini menghasilkan kavitasi, yaitu pembentukan, perkembangan, dan penghancuran gelembung. Proses tersebut menciptakan gelembung mikroskopis yang sangat tidak stabil dengan

suhu dan tekanan tinggi, yang kemudian mempengaruhi matriks tanaman dan meningkatkan penetrasi pelarut ekstraksi, sehingga efisiensi ekstraksi pun menjadi lebih baik (Belkheiri *et al.*, 2021).

2.4.2 Keuntungan UAE

Keuntungan utama dari UAE meliputi pengurangan waktu ekstraksi, ukuran peralatan, konsumsi energi, serta peningkatan hasil ekstraksi, dan dianggap lebih ramah lingkungan jika dibandingkan dengan metode konvensional. Meski demikian, polisakarida yang diekstraksi melalui UAE umumnya memiliki viskositas, massa molekul, dan derajat esterifikasi yang lebih rendah. Beberapa faktor penting dalam UAE adalah frekuensi dan intensitas gelombang suara, waktu sonikasi, jenis pelarut, dan suhu. Peningkatan frekuensi dapat mengurangi produksi dan intensitas kavitasi dalam cairan. Intensitas adalah faktor kunci dalam proses ekstraksi, karena peningkatan intensitas dapat meningkatkan hasil ekstraksi pektin dengan merusak sel tanaman. Namun, intensitas daya yang sangat tinggi juga bisa menurunkan hasil pektin. Oleh karena itu, optimasi variabel ultrasonik sangat penting. Efisiensi ekstraksi UAE dapat ditingkatkan secara signifikan dengan menggabungkannya dengan teknologi lain, seperti pemanasan gelombang mikro (Belkheiri *et al.*, 2021).

2.4.3 Sonikasi

Sonikasi merupakan teknik yang memanfaatkan gelombang ultrasonik berfrekuensi tinggi untuk memberikan efek mekanik pada suatu sampel dan digunakan dalam berbagai bidang, seperti industri pangan, farmasi, bioteknologi, serta ilmu material. Teknologi ini bekerja dengan mengalirkan gelombang suara dengan frekuensi lebih dari 20 kHz ke dalam medium cair atau semi-padat. Saat gelombang ini merambat, terjadi perubahan tekanan secara berulang yang menghasilkan fenomena kavitasi akustik. Kavitasi ini ditandai dengan pembentukan dan pecahnya gelembung mikro dalam cairan, yang melepaskan energi dalam jumlah besar dan berkontribusi pada berbagai proses mekanis maupun kimiawi.

Energi yang dilepaskan dari kavitasi dapat menghancurkan struktur sel, mempercepat reaksi kimia, serta meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif dari berbagai bahan alami. Dalam bidang bioteknologi dan mikrobiologi, sonikasi sering digunakan untuk menguraikan dinding sel mikroorganisme atau jaringan tanaman agar senyawa aktif seperti protein, enzim, dan metabolit sekunder dapat diekstraksi dengan lebih optimal. Selain itu, teknologi ini juga berperan dalam homogenisasi, yaitu memperkecil ukuran partikel dalam suatu larutan guna meningkatkan

stabilitas dan bioavailabilitas produk. Dalam industri lingkungan, sonikasi dimanfaatkan dalam pemurnian air dengan mendekomposisi kontaminan organik serta membunuh mikroorganisme patogen, menjadikannya metode yang efisien dalam berbagai aplikasi industri dan penelitian (Candani *et al.*, 2018).

2.4.4 Prinsip Kerja Sonikasi

Prinsip kerja sonikasi didasarkan pada efek kavitasi akustik, di mana gelombang ultrasonik menciptakan gelembung-gelembung kecil dalam medium cair. Gelembung ini kemudian meledak, menghasilkan energi tinggi yang dapat memecah partikel atau struktur seluler (Candani *et al.*, 2018).

2.4.5 Sonikasi dalam Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Dalam konteks ekstraksi, sonikasi meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam jaringan tanaman melalui efek kapiler, sehingga transfer massa menjadi lebih efisien. Hal ini memungkinkan perolehan senyawa target, seperti flavonoid atau tanin, dengan lebih efektif dan dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan metode konvensional seperti maserasi. Terdapat manfaat sonikasi dalam proses ekstraksi sebagai berikut:

- a. Meningkatkan efisiensi ekstraksi dengan mempercepat pelepasan senyawa bioaktif
- b. Mengurangi penggunaan pelarut dibandingkan metode konvensional
- c. Memperoleh hasil ekstrak dengan kemurnian yang lebih tinggi (Saputro *et al.*, 2023).

2.4.6 Pengaruh Sonikasi terhadap Karakteristik Partikel

Menurut (Rusdiana *et al.*, 2018) sonikasi dapat menghasilkan partikel dengan ukuran yang sangat kecil, mencegah terjadinya proses creaming atau sedimentasi selama penyimpanan. Selain itu, sonikasi meningkatkan luas permukaan yang mempercepat penetrasi bahan aktif dan memudahkan penyebarannya. Produk yang dihasilkan juga cenderung lebih homogen dan transparan. Keberhasilan proses sonikasi dipengaruhi oleh beberapa parameter operasional yang perlu dioptimalkan, yaitu:

- a. Waktu: Berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi dan ukuran partikel.
- b. Amplitudo: Menentukan intensitas gelombang ultrasonik yang diterapkan.
- c. Jenis pelarut: Memengaruhi efektivitas ekstraksi senyawa bioaktif.

2.5 Kromatografi Lapis Tipis

2.5.1 Pengertian kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah metode pemisahan yang melibatkan dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas). Kromatografi lapis tipis adalah salah satu teknik analisis kualitatif yang digunakan untuk mendeteksi suatu sampel dengan cara memisahkan komponen-komponennya berdasarkan perbedaan kepolaran (*Yustian et al.*, 2022). Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan yang diterapkan dalam analisis berbagai jenis bahan, termasuk bahan alam, pangan, serta untuk identifikasi alkaloid, antosianidin, antrakuinon, antibiotik, amina, amida, asam amino, karbohidrat, flavonoid, lemak, fenol, pigmen, pewarna, racun, vitamin, dan berbagai senyawa lainnya (Sherma & Rabel, 2018).

Kelebihan metode KLT dibandingkan dengan kromatografi lainnya adalah kesederhanaannya dan ketelitian yang tinggi. Metode ini juga mampu menghasilkan pemisahan yang sangat baik terhadap komposisi senyawa yang ada dalam suatu bahan (*Asmawati et al.*, 2019). Fase diam yang digunakan adalah lapisan seragam pada permukaan bidang datar, seperti lempeng kaca, plat aluminium, atau plat plastik. Sedangkan fase gerak berupa pelarut pengembang yang bergerak sepanjang fase diam, dipengaruhi oleh kapiler, baik dengan cara menarik secara *ascending* atau menurun secara *descending*.

Metode KLT dan metode penarikan warna menggunakan benang wol, yang prinsipnya melibatkan penyerapan zat warna oleh wol dalam kondisi asam dengan pemanasan. Setelah itu, benang wol yang telah terwarnai akan dilarutkan. Wol akan melepaskan pewarna, yang kemudian masuk ke dalam larutan basa. Larutan basa yang terbentuk kemudian dipadatkan dan digunakan sebagai sampel untuk analisis selanjutnya (Retnantlya & Indrayudha, 2019). Keuntungan menggunakan Metode KLT yaitu:

- a. Kromatografi Lapis Tipis lebih mudanh pelaksanaannya dan lebih murah dibandingkan kromatografi kolom.
- b. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet.
- c. Dapat dilakukan elusi secara menaik (*ascending*), menurun (*descending*), atau dengan cara elusi dua dimensi
- d. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak.

2.5.2 Manfaat Kromatografi Lapis Tipis

Menurut Hujjatusnaini *et al.*, (2021) Manfaat lain dari KLT adalah untuk analisis kuantitatif dan isolasi skala preparatif. Lempeng kaca atau aluminium

digunakan sebagai pendukung fase diam. Fase gerak akan bergerak sepanjang fase diam, membentuk kromatogram, yang juga dikenal sebagai kromatografi kolom terbuka. Pada fase diam, jenis padatan yang digunakan pada dasarnya adalah:

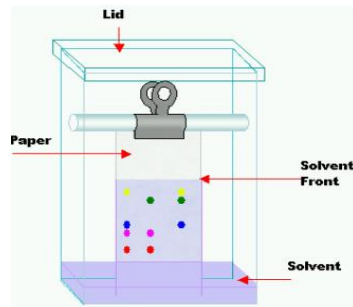
- a. Silica gel seperti asam amino, alkaloid, asam lemak dan lain-lain,
- b. Alumina seperti alkaloid, zat warna, fenol dan lainnya.
- c. Selulosa seperti asam amino, alkanoid dan lain-lain.

Pada fase diam dan fase gerak hanya digunakan bersama-sama dalam KLT ketika proses kromatografi berlangsung melalui kesetimbangan yang melibatkan lapisan tipis adsorben, fase pelarut, dan fase uap pelarut. Sifat-sifat ideal pelarut yang digunakan dalam KTL yaitu:

- a. Tersedia dalam bentuk yang sangat murni dengan harga yang memadai
- b. Tidak bereaksi dengan komponen dalam sampel maupun materialis fase diam
- c. Memiliki viskositas dan tegangan permukaan yang sesuai
- d. Memiliki titik didih yang rendah untuk memudahkan pengeringan setelah pengembangan
- e. Mempunyai kelarutan yang ideal pada berbagai campuran solvent.

2.5.3 Peralatan kromatografi Lapis Tipis

Peralatan yang digunakan dalam kromatologi lapis tipis antara lain:



Gambar 2.4 Kromatografi Lapis Tipis
(Noor *et al.*, 2021)

Bagian-bagian dari alat kromatografi lapis tipis antara lain:

- a. Lempengan kromatologi, lempeng terbuat dari aluminium atau kaca dengan ukuran umumnya 20 x 20 cm, tebal lapisan 0,10-0,25 mm. Lempeng siap pakai banyak tersedia dalam perdagangan, atau dapat disiapkan sendiri. Untuk tujuan preparatif, lempeng yang dipakai atau digunakan memiliki ketebalan lapisan hingga 1 mm.
- b. Rak penyimpanan, rak penyimpanan berfungsi untuk meletakkan lempeng apabila perlu pemanasan untuk mengaktifkan fase daun.
- c. Bejana Kromatografi. Bejana digunakan sebagai tempat untuk meletakkan lempeng pada posisi tegak, bagian bawahnya datar, tempat sejumlah fase pengembangan, sedangkan bagian atasnya dapat ditutup

dengan rapat. Ukuran bejana yang akan dipakai dapat disesuaikan dengan ukuran lempeng yang digunakan. Penjenuhan bejana diperlukan untuk memperoleh pemisahan yang baik.

- d. Pipet mikro. Pipet digunakan untuk menotolkan larutan bahan uji dan larutan pembanding dalam jumlah yang dihendaki, contohnya 10,20 μl .
- e. Alat penyemprot pereaksi atau larutan deteksi. Alat ini umumnya terbuat dari kaca dan digunakan untuk menyemprotkan pereaksi ke lempeng. Larutan yang keluar dalam bentuk butir-butir halus.
- f. Lampu ultraviolet. Lampu digunakan untuk melakukan pengamatan lempeng panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2.5.4 Deteksi Bercak

Deteksi bercak pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilakukan dengan berbagai metode, baik secara fisik maupun kimiawi. Secara fisik, bercak dapat diamati di bawah sinar ultraviolet (UV) pada panjang gelombang 254 nm atau 366 nm untuk mendeteksi senyawa yang memiliki sifat fluoresensi atau menyerap UV. Secara kimiawi, digunakan pereaksi penampak bercak yang spesifik untuk golongan senyawa tertentu (Lestari & Santoso, 2021). Faktor

Retardasi (Retention Factor, R_f) pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dihitung dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak noda}}{\text{Jarak Pelarut}}$$

Nilai R_f berkisar antara 0 hingga 1, di mana nilai yang lebih kecil menunjukkan interaksi yang lebih kuat antara senyawa dengan fase diam, sedangkan nilai yang lebih besar menunjukkan interaksi yang lebih kuat dengan fase gerak (Usman & Muin, 2023).

2.6 Spektrofotometri UV-Vis

2.6.1 Definisi Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur nilai absorbansi cahaya dengan melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya yang diserap kemudian diserap, dan sisa cahaya dilewatkan (Jati, 2018).

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet serta cahaya tampak yang diserap oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk memindahkan elektron dari kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektrofotometri UV-Vis umumnya digunakan untuk analisis molekul, ion anorganik, atau kompleks dalam larutan. Spektrum yang dihasilkan oleh

spektrofotometri UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif. Konsentrasi analit dalam larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu menggunakan hukum *Lambert-Beer* (Azira *et al.*, 2023).

2.6.2 Hukum Lambert Beer

Hukum *Lambert Beer* adalah rumus yang mendeskripsikan melemahnya intensitas pencahayaan saat melalui suatu medium dengan substansi yang dapat melakukan absorpsi. Hukum *Lambert-Beer* (Beer's law) adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit. Biasanya hukum *Lambert-beer* ditulis dengan :

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot C$$

A = absorban (serapan)

ε = koefisien ekstingsi molar (M-1 cm-1)

b = tebal kuvet (cm)

C = konsentrasi (M)

Pada beberapa buku ditulis juga:

$$A = E \cdot b \cdot C$$

E = koefisien ekstingsi spesifik (ml g-1 cm-1) b = tebal kuvet (cm)

C= konsentrasi (gram/100 ml)

Hubungan antara E dan ϵ adalah :

$$E = \frac{10 \cdot c}{\text{massa molar}}$$

Pada percobaan, yang terukur adalah transmittan (T), yang didefinisikan sebagai berikut:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

I = intensitas cahaya setelah melewati sampel

I_0 = adalah intensitas cahaya awal.

Hukum *Lambert-Beer* terbatas karena sifat kimia dan faktor instrumen. Penyebab non linearitas ini adalah:

- a. Deviasi koefisien ekstingsi pada konsentrasi tinggi ($>0.01M$), yang disebabkan oleh interaksi elektrostatik antara molekul karena jaraknya yang terlalu dekat
- b. Hamburan cahaya karena adanya partikel dalam sampel
- c. Fluoresensi atau fosforesensi sampel
- d. Berubahnya indeks bias pada konsentrasi yang tinggi
- e. Pergeseran kesetimbangan kimia sebagai fungsi dari Konsentrasi.
- f. Radiasi non-monokromatik; deviasi bisa dikurangi dengan

menggunakan bagian yang datar pada absorban yaitu pada panjang gelombang maksimum.

g. Kehilangan cahaya.

Instrumen modern dapat menampilkan data dalam bentuk persen transmittan (T) atau absorban (A). Untuk menentukan konsentrasi analit, pengukuran dilakukan dengan mengukur jumlah cahaya yang diserap oleh sampel menggunakan hukum Beer. Jika koefisien ekstingsi molar tidak diketahui, konsentrasi dapat dihitung menggunakan kurva kalibrasi yang menghubungkan absorban dengan konsentrasi larutan standar yang telah disiapkan. Larutan standar dibuat dengan berbagai konsentrasi yang diketahui, lalu absorbasinya diukur. Selanjutnya, hubungan antara konsentrasi dan absorban dibuat. Sebagai alternatif, koefisien ekstingsi molar (ϵ) dapat ditentukan dari larutan standar menggunakan persamaan garis lurus (Dachriyanus, 2004).

2.7 Landasan Pustaka

Pada penelitian terdahulu menurut (Afifah *et al.*, 2024) ditemukan bahwa astaxanthin adalah pigmen karotenoid dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan turunan β -karoten dan vitamin E lainnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar astaxanthin pada cangkang udang

vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang berasal dari Kecamatan Malangke Barat. Senyawa astaxanthin yang terdapat dalam cangkang udang vannamei diekstraksi menggunakan metode UAE dan ekstraksi cair-cair. Rendemen yang diperoleh adalah 0,486%. Analisis kualitatif dilakukan dengan uji kromatografi lapis tipis (KLT) dan analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil analisis KLT pada sampel menunjukkan nilai R_f 0,254. Sedangkan, analisis spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 203 nm menghasilkan persamaan $y = 0,1513x - 0,0819$, koefisien korelasi (r) = 0,9947, $V_{x0} = 4,64\%$, dan kadar rata-rata astaxanthin sebesar 73,2%.

Menurut (Karnila *et al.*, 2021) udang vanname (*Litopenaeus vannamei*) adalah komoditas bernilai tinggi dengan limbah karapas kaya astaxanthin, pigmen antioksidan potensial. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, Tepung karapas udang mempunyai kandungan gizi yaitu kadar air 10,46% (bb), kadar abu 32,32% (bk), protein 38,38% (bk), lemak 1,95% (wk) dan karbohidrat 27,35. Konsentrasi tertinggi ekstrak astaxanthin dari karapas udang vanname (*L.vanname*) dengan menggunakan minyak sawit terdapat pada menit ke 240 (5,0909 mg/g) dan terendah pada menit ke 120 (2,6351 mg/g). Rendemen hasil ekstrak tertinggi terdapat pada perlakuan waktu 240 menit yaitu sebesar 78,9233%

dan terendah pada menit ke 120 sebesar 50,9533% menggunakan Panjang gelombang 482 nm.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Rahmalia *et al.*, 2024), pada aktivitas antioksidan astaxanthin yang diekstraksi dari limbah kulit dan kepala udang, menghasilkan rendemen masing-masing dengan panjang gelombang 478 nm sebesar 3,05 dan 1,02% dari massa kering dari 60 gram kulit udang, sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan IC_{50} kulit udang sebelum dan setelah saponifikasi masing-masing dengan panjang gelombang 516 nm adalah 572,000 mg/L dan 186,583 mg/L