



**STUDI *IN VITRO* DAN *IN SILICO* AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BUBUK ESTRAK
KEPALA UDANG SEBAGAI KANDIDAT ANTIATEROSKLEROSIS**

Putri Nurul Azizah, Feby Maharani

West Al-Qorni, S.Sos, M.Pd

MAN 5 Jakarta

*Jl. Marunda Baru III No.30, RT.4/RW.6, Kel. Marunda, Kec. Cilincing, Jakarta Utara,
Jakarta 14150*

malbir95@gmail.com

Abstrak - Jakarta memiliki tingkat perikanan yang tinggi terutama dalam sector udang. Banyaknya populasi udang di Jakarta membuat banyaknya limbah yang dapat menyebabkan pencemaran udara. Udang memiliki banyak manfaat, salah satu udang yang memiliki banyak manfaat adalah udang vanname. Udang memiliki nilai antioksidan yang tinggi untuk menangani penyakit aterosklerosis. Dalam penelitian potensi bubuk ekstrak kepala udang sebagai kandidat antiaterosklerosis ini menggunakan dua metode yaitu *in vitro* untuk membuktikan tingkat antioksidan pada udang dan metode *in silico* untuk melihat potensi antioksidan bubuk ekstrak kepala udang ini untuk aterosklerosis. Penelitian ini terbukti bahwa bubuk ekstrak kepala udang ini memiliki antioksidan yang baik. Bubuk ekstrak kepala udang ini juga dapat meredakan aterosklerosis.

Kata kunci: udang, antioksidan, astaxanthin, aterosklerosis

A. Pendahuluan

Indonesia memiliki potensi perikanan secara lestari sekitar 17 ton per tahun (Wantimpers, 2024). Salah satu provinsi di Indonesia yang memiliki perairan luas dengan banyak pulau, salah satunya Jakarta terdapat 113 pulau (BPS, 2023). Salah satu daerah yang sentral perikanan adalah Jakarta Utara dengan hasil perikanan utama yaitu udang. Hasil budidaya udang di daerah DKI Jakarta mencapai 183 ton (BPS, 2021).

Sekitar 40% berat udang dianggap sebagai limbah, seperti kepala udang. Bagian kepala udang memiliki berat 36% - 46% dan cangkang udang 17% - 23% dari total keseluruhan tubuh (BSIP, 2023). Salah satu udang yang kaya akan nutrisi adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan kadar protein 19,38%, karbohidrat 6,10%, lemak 0,82%, dapat mendukung kesehatan jantung dan otak berkat kandungan asam lemak omega-3 dan antioksidan *astaxanthin* (Verdian *et al.*, 2020).

Asam lemak Omega-3 yang jenuh dapat mengatur profil lemak, mengurangi

biomarker yang bersifat radang, stresitasi oksigen yang lebih rendah, dan mencegah trombosit, sehingga meningkatkan fungsi pembuluh darah (Burke *et al.*, 2017; Innes & Calder, 2018). Menurut Sekikawa *et al.*, (2019) dosis tinggi asam lemak omega-3 diketahui memperlambat perkembangan aterosklerosis dan memberikan efek anti-aterosklerosis. *Astaxanthin* dapat mengurangi ekspresi gen lipogenik, menghambat sitokin pro-inflamasi, melindungi tubuh dari peroksidasi lipid dan kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif, serta meningkatkan kadar *glutathione* dan *superoxide dismutase* sebagai antioksidan internal pada hewan percobaan (Ni *et al.*, 2015; Halim *et al.*, 2019; Hormozi *et al.*, 2019). *Astaxanthin* memiliki kemampuan antioksidan yang sepuluh kali lebih besar dari karotenoid lainnya, sehingga mereka efektif dalam melawan radikal bebas dari berbagai sumber (Klein *et al.*, 2012). Manfaat *astaxanthin* diharapkan untuk meningkatkan kesehatan keseluruhan melalui berbagai mekanisme.

Antioksidan meredakan radikal bebas dengan mengisi kekosongan elektron serta menghambat proses berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif melalui mekanisme pertahanan sekunder dan primer (Wibawa *et al.*, 2020; Malekmohammad *et al.*, 2019). Radikal bebas yang berlebihan tidak dapat dihancurkan secara bertahap, penumpukannya di dalam tubuh menyebabkan kondisi yang dikenal sebagai stres oksidatif (Mauludia *et al.*, 2021). Stres merupakan salah satu faktor terjadinya aterosklerosis, karena ketidaksesuaian untuk mengatasi beban psikologi atau beban fisik serta meningkatnya aktivitas fisik. Aterosklerosis dapat terjadi karena aktivitas fisik yang berlebihan, yang dapat meningkatkan ROS. Aterosklerosis merupakan peradangan kronis yang dipicu oleh infiltrasi lipoprotein di dinding arteri. Meningkatnya kemerosotan darah LDL dan HDL erat kaitannya dengan perkembangan penyakit tersebut (Wei *et al.*, 2021). Oleh karena itu, antioksidan bermanfaat untuk melawan radikal bebas dan mencegah kerusakan (Tarigan, 2020). Antioksidan alami yang bermanfaat untuk melawan radikal bebas, penyebab penuaan dini, dan berbagai jenis kanker yaitu vitamin E dan vitamin C.

Vitamin E bertindak sebagai antioksidan yang melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas, dengan demikian mempertahankan integritas sel dan mencegah penyakit dini dan penuaan (Saras, 2023). Menurut Amalia & Triyono (2018), vitamin E dapat menghambat proses oksidasi dengan cara memberikan elektronnya. Vitamin C adalah vitamin yang paling umum digunakan sebagai antioksidan oleh masyarakat. Vitamin C memiliki sifat antioksidan yang dapat melindungi jaringan tubuh dari kerusakan akibat oksidasi. Menurut Wibawa *et al.* (2020), vitamin C dalam dosis yang tepat bertindak sebagai antioksidan yang efektif dengan menghambat aktivitas radikal

bebas dalam tubuh. Vitamin C dapat mencegah kematian sel-sel otot yang tidak bersalah dalam pembuluhnya dan melindungi otot-otot yang tidak bersalah dari efek LDL negatif yang dioksidasi dengan meningkatkan produksi antioksidan glutathione dalam sel (Santosa & Baharuddin, 2020). Selain kandungan antioksidan yang terkandung dalam kepala udang, limbah kepala udang juga berpotensi menjadi flavor karena memiliki komponen asam glutamat. Asam glutamat pada kepala udang terdapat 246 mg/g, yang dapat memberikan efek gurih pada masakan (Umah *et al.*, 2021). Pemanfaatan kepala udang sebagai penyedap alami pada masakan, dapat mengurangi penggunaan garam yang memiliki kandungan natrium yang dapat berbahaya jika digunakan dalam jumlah banyak. Mengonsumsi garam melebihi 5 gram/hari dalam jangka panjang dapat menyebabkan penyakit hipertensi yang menyebabkan timbulnya aterosklerosis (Grillo *et al.*, 2019). Berdasarkan skor *Atherosclerotic Cardiovascular Disease (ASCVD)*, perkiraan risiko penyakit ini memperhitungkan usia, jenis kelamin, etnis, kadar LDL, tekanan darah, penggunaan obat-obatan, keberadaan diabetes, dan kebiasaan merokok (Cahyono *et al.*, 2024). Dengan adanya beberapa risiko yang dapat ditimbulkan oleh penggunaan garam, kami ingin mengembangkan bubuk ekstrak kepala udang sebagai kandidat antioksidan untuk pencegahan dini aterosklerosis.

1. Rumusan Masalah

Dengan adanya penelitian karya ilmiah ini, maka kami membuat rumusan masalah, yaitu:

- a. Bagaimana potensi bubuk ekstrak kepala udang untuk antioksidan?
- b. Bagaimana aktivitas antioksidan dari bubuk ekstrak kepala udang terhadap pencegahan dini aterosklerosis?

2. Tujuan Penelitian

Kami melakukan penelitian ini, karena bertujuan untuk:

- a. Untuk menganalisis potensi bubuk ekstrak kepala udang untuk antioksidan.
- b. Untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari bubuk ekstrak kepala udang terhadap pencegahan dini aterosklerosis.

3. Manfaat Penelitian

Dengan keberhasilan kandidat aterosklerosis yang berbasis ekstrak kepala udang dengan antioksidan, penelitian ini dapat membantu mencegah masalah aterosklerosis. Ditinjau dari segi pelestarian lingkungan, pengembangan bubuk ekstrak kepala udang dapat mengurai peningkatan limbah dan pencemaran udara akibat limbah udang yang tidak diolah. Dari sisi ekonomi dan bisnis, hasil penelitian ini dapat menjadi ide bisnis

dengan membuka peluang pekerjaan baru. Untuk masyarakat sendiri, penelitian ini memiliki potensi dalam mengidentifikasi kepala udang sebagai salah satu sumber alami antioksidan yang dapat membantu mencegah mengurangi risiko aterosklerosis. Penelitian ini juga dapat turut berkontribusi dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

B. Kajian Teori dan Tinjauan Pustaka

1. Kajian Teori

- a. Udang merupakan sumber nutrisi yang sangat kaya, terutama pada bagian kulit dan kepala. Menurut Ngitung *et al.*, (2022), kepala udang mengandung protein sebanyak 14,67% dan lemak sekitar 0,93%. Salah satu jenis udang yang dikenal kaya nutrisi adalah jenis udang vanname. Selain itu, cangkang udang mengandung berbagai zat penting, seperti protein (25%-44%), kitin (20%-30%), dan kalsium karbonat (45%-50%) (Mahatmain *et al.*, 2022).
- b. Antioksidan adalah molekul yang dapat menghambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain. Antioksidan dalam tubuh manusia melindungi sel-sel dari kerusakan akibat radikal bebas. Radikal bebas terbentuk secara alami selama proses metabolisme tubuh dan dapat berasal dari sumber eksternal seperti polusi udara, asap rokok, pestisida, atau obat-obatan. Antioksidan berfungsi sebagai penangkal radikal bebas serta pelindung bagi kulit, tetapi penting dalam industri makanan untuk mengurangi kerusakan pada makanan yang mengandung lemak (Marhaeni, 2021). Menurut Siagian *et al.* (2022), antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya, sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil dan tidak merusak metabolisme tubuh, karena jumlah antioksidan alami di dalam tubuh terbatas, maka paparan radikal bebas yang berlebihan membutuhkan tambahan antioksidan dari luar untuk mencegah terjadi oksidasi berlebihan.
- c. *Astaxanthin* adalah pigmen lipofilik yang termasuk dalam kelompok karotenoid (oksikarotenoid) dan tergolong sebagai xantofil. Senyawa ini, yang juga dikenal sebagai terpen, memiliki dua cincin terminal yang dihubungkan oleh rantai poliena. Salah satu cincin memiliki sifat larut dalam air, sedangkan cincin lainnya larut dalam lemak di dalam sel. *Astaxanthin* dapat menetralkan radikal bebas dan oksidasi dengan efektif, baik dengan menerima maupun menyumbangkan elektron, tanpa berfungsi sebagai pro-oksidasi (Sundalian *et al.*, 2021). *Astaxanthin* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, dengan kekuatan 50-100 kali lebih besar dibandingkan vitamin E. Selain itu, *astaxanthin* juga dapat mendukung fungsi vitamin E dan

C sebagai antioksidan (Ekpe *et al.*, 2018; Oh *et al.*, 2020). *Astaxanthin* juga dapat meningkatkan ekspresi gen apoptosis, sehingga memiliki potensi dalam pencegahan dan pengobatan kanker (Hormozi *et al.*, 2019). Selain itu, *astaxanthin* juga memiliki manfaat antiaging, dengan kemampuannya untuk mengurangi pembentukan kerutan pada wajah dan menjaga sawar epidermis pada kulit, sehingga menjadi bahan yang cocok untuk produk kecantikan (Cheng *et al.*, 2019; Sztretye *et al.*, 2019).

- d. Teknik penelitian *in vitro* melibatkan eksperimen yang dilakukan di luar organisme hidup, biasanya dalam lingkungan laboratorium seperti tabung reaksi atau cawan petri. Metode penelitian ini mencakup berbagai eksperimen yang melibatkan sel, jaringan, mikroorganisme, atau molekul aktif secara biologis, semuanya dilakukan di luar lingkungan biologis normal. Studi *in vitro* ini sering melibatkan estimasi biokimia, pengujian kerentanan obat, dan pengujian toksisitas (Kumar & Jha, 2023). Dengan demikian, metode ini dapat dengan mudah menghindari masalah etika yang sering muncul dalam penelitian *in vivo*. Selain itu, studi *in vitro* menawarkan tingkat kontrol yang tinggi terhadap parameter dan lingkungan eksperimen, termasuk konsentrasi faktor pertumbuhan, populasi sel target, serta durasi pemaparan (Eltorai *et al.*, 2023).
- e. Dengan kemajuan teknologi informasi dan akses ke database biologis terbuka, penggunaan metode *in silico* semakin berkembang dalam berbagai bidang penelitian kesehatan. Hal ini mencakup pengembangan vaksin dan penanganan penyakit menular seperti COVID-19, di mana kecepatan dalam menemukan kandidat obat menjadi sangat penting. Metode *in silico* tidak hanya mempercepat proses penelitian, tetapi juga mengurangi kebutuhan akan hewan percobaan, sesuai dengan prinsip etika penelitian modern. Oleh karena itu, pendekatan ini diharapkan akan terus berkembang dan semakin dominan dalam pengembangan obat di masa depan. *In silico* mencakup basis data, hubungan struktur aktivitas kuantitatif, farmakofor, model homologi dan pendekatan pemodelan molekuler lainnya, pembelajaran mesin, penggalian data, alat analisis jaringan, dan alat analisis data yang menggunakan komputer (Low *et al.*, 2020). Salah satu tahapan yang terdapat pada *in silico* yaitu *molecular docking*. Metode ini memanfaatkan algoritme untuk menghitung energi afinitas pengikatan ligan pada reseptor dan menentukan posisi yang paling efektif. Hasil dari proses docking molekuler umumnya dinilai berdasarkan tingkat afinitas pengikatan dan kestabilan ligan pada reseptor (Setiawan & Irawan, 2017). Docking dapat membantu dalam menemukan senyawa baru untuk aplikasi terapeutik dengan

memprediksi interaksi antara protein target dan ligan pada tingkat molekuler, serta menjelaskan hubungan antara struktur dan aktivitasnya (Frimayanti *et al.*, 2021).

2. Tinjauan Pustaka

Hasil penelitian Rahmalia *et al.* (2024), menunjukkan bahwa limbah kulit udang, setelah melalui proses saponifikasi tanpa kehadiran air, menghasilkan ekstrak dengan kandungan astaxanthin yang lebih tinggi dan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan limbah kepala udang. Untuk meningkatkan aktivitas antioksidan dari limbah kepala udang, disarankan untuk melakukan pengeringan lebih lama guna mengurangi kandungan air, yang dapat menghindari hidrolisis asam lemak. Penelitian sebelumnya menunjukkan nanopartikel dari kitosan kepala udang memiliki nilai IC50 sekitar 2731,9 ppm (Lukiyono *et al.*, 2020). Selain itu, kepala udang yang digunakan sebagai media kultur *Bacillus licheniformis* OPL-007 menunjukkan bahwa hasil fermentasinya kaya akan asam amino esensial dan asam amino non-protein yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan yang kuat (Mao, X., *et al.*, 2013). Selain itu, protein dari kulit kepala udang yang memiliki aktivitas antioksidan (Yuan, G., *et al.*, 2019). Menurut penelitian Malekmohammad *et al.*, (2019), antioksidan alami dan sintetis berperan penting dalam mencegah dan mengobati aterosklerosis melalui berbagai mekanisme. Ini termasuk penghambatan oksidasi LDL, pengurangan pembentukan ROS, penghambatan sekresi sitokin, serta pencegahan pembentukan plak aterosklerosis dan agregasi trombosit.

Aterosklerosis adalah penyakit peradangan kronis pada dinding arteri dimulai dengan kerusakan pada lapisan endotel, yaitu lapisan paling dalam pembuluh darah, yang disebabkan oleh tingginya kadar *low-density lipoprotein* (LDL) atau kolesterol jahat. Penelitian Meydani (2001), menunjukkan bahwa mengonsumsi suplemen vitamin E dapat mengurangi risiko aterosklerosis. Vitamin E tidak hanya dapat menghambat oksidasi LDL, tetapi juga dapat mencegah perkembangan aterosklerosis melalui berbagai mekanisme molekuler dan seluler, termasuk fungsi nonantioksidannya. Pada aterosklerosis, terdapat perubahan dalam ekspresi dan aktivitas enzim penghasil ROS, serta kegagalan atau kelebihan sistem antioksidan endogen yang memicu stres oksidatif. Sistem antioksidan utama dalam pembuluh darah termasuk superoksida dismutase (SOD), katalase, *thioredoxin*, *paraoxonase*, *glutathion peroksidase* (GPX), dan protein pelepas mitokondria (UCP). Dalam kondisi normal, produksi ROS rendah dan kelebihanannya diserap oleh sistem antioksidan. Namun, pada aterosklerosis, produksi ROS meningkat secara signifikan sementara sistem antioksidan menurun, menyebabkan

ketidakseimbangan produksi ROS dan stres oksidatif (Lubrano & Balzan, 2015). Menurut Meydani (2001), penelitian *in vitro* telah menunjukkan bahwa peningkatan kadar vitamin E dalam partikel LDL meningkatkan resistensi LDL terhadap oksidasi dan mengurangi penyerapannya oleh makrofag.

C. Metode Penelitian

1. Alat & Bahan

a. Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini, antara lain : oven, ayakan 60, blender, alat destilasi, botol kaca bode, botol vial, labu erlenmeyer, corong kaca, neraca analitik, reservoir, mikropipet 1000 μL dan 100 μL , vortex, sentrifus, multichannel pipettor 100 μL , microplate reader.

b. Bahan

Bahan yang diperlukan meliputi kepala udang vannamee, petroleum jelly, kertas saring, aseton, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, asam askorbat, methanol p.a, aquadest one med, Pelarut (methanol/etanol), DMSO 100%, aluminium foil.

2. Preperasi sampel

Metode ini mengacu pada Laksono (2022). Pembuatan bubuk kepala udang dimulai dengan kepala udang dibersihkan dan dikukus, lalu didinginkan dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 125°C. Dilanjutkan dengan penggilingan menggunakan blender dan pengayakan.

3. Ekstraksi

Metode ekstraksi mengacu pada Laksono (2022). Ekstraksi dimulai dengan bubuk kepala udang ditambahkan, lalu dimaserasi selama 5 hari, lalu disaring menggunakan kertas saring.

4. Pemekatan ekstrak menggunakan destilasi

Pemekatan menggunakan alat destilasi dilakukan melalui beberapa tahapan. Pertama, alat destilasi sederhana dirakit dan sambungan kaca disegel dengan petroleum jelly untuk mencegah kebocoran. Campuran yang akan dipisahkan ditempatkan dalam flask destilasi dan dipanaskan. Saat dipanaskan, aseton menguap dan uapnya naik ke bagian atas alat destilasi, melewati kondensor, di mana uap didinginkan dan dikondensasi menjadi cairan. Cairan hasil kondensasi kemudian dikumpulkan dalam wadah terpisah. Setelah semua tahapan selesai, hasil pemekatan dianalisis untuk memastikan pemisahan komponen yang diinginkan, dengan suhu pengerjaan sekitar 60-65 °C.

5. Uji *in vitro*

Metode uji antioksidan mengacu pada metode Tang *et al.* (2020).

- a. Persiapan reagen. Pertama, pembuatan larutan Induk DPPH (1 mM), timbang DPPH 39.4 mg, larutkan dengan 100 mL metanol dan homogenkan larutan, lapisi tabung dengan aluminum foil dan simpan pada freezer. Kedua, pembuatan larutan kerja DPPH (0,1 mM), pipet larutan induk kedalam tabung 15 mL, tambahkan methanol p.a sampai volume yang diinginkan, lapisi tabung dengan aluminum foil dan simpan pada freezer.
- b. Persiapan standar. Pertama, pembuatan larutan Induk Asam askobat (1.000 ppm), timbang asam askorbat 10 mg, larutkan dengan 10 mL aquadest, homogenkan larutan, lapisi tabung dengan aluminum foil dan simpan pada freezer jika belum digunakan digunakan.

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 100 \text{ ppm} \times 1.000 \mu\text{L}$$

$$V1 = 100 \mu\text{L} \text{ (Larutan 1000 ppm)} + 900 \mu\text{L pelarut}$$

Kedua, pembuatan larutan Kerja Asam askobat (100 ppm), pipet larutan induk kedalam tabung 1,5 mL sebanyak 100 μ L, tambahkan aquadest one med sebanyak 900 μ L, lapisi tabung dengan aluminum foil dan simpan pada freezer jika belum digunakan.

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 25 \text{ ppm} \times 500 \mu\text{L}$$

$$V1 = 125 \mu\text{L} \text{ (Larutan 100 ppm)} + 375 \mu\text{L pelarut}$$

Ketiga, pembuatan arutan Deret Asam Askorbat (25 ppm s/d 0,39 ppm), pipet larutan kerja kedalam microtube 1,5 mL, tambahkan aquadest one med, homogenkan.

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$25 \text{ ppm} \times V1 = 12,5 \text{ ppm} \times 500 \mu\text{L}$$

$$V1 = 250 \mu\text{L} \text{ (Larutan 25 ppm)} + 250 \mu\text{L pelarut}$$

Keterangan :

C1 = Konsentrasi larutan induk/larutan kerja

V1 = Volume larutan induk/larutan kerja yang akan di pipet C2 = Konsentrasi larutan yang akan dibuat

V2 = Volume larutan yang akan di buat

- c. Persiapan sampel. Pertama, preparasi Sampel (100.000 ppm), sampel ditimbang 100 mg, sampel dilarutkan dengan pelarut / pelarut universal (DMSO) sebanyak 1mL,

campuran dihomogenkan dengan vortex. Kedua, larutan deret sampel, pipet larutan sampel 100.000 ppm kedalam tabung 1,5 mL, tambahkan pelarut sesuai volume yang telah di hitung, homogenkan.

- d. Pengujian sampel. Buat plate map untuk pengujian, lalu pipet 80 μ L larutan sampel dan standar ke 96 well plate dari konsentrasi tertinggi ke terendah, dengan setiap konsentrasi diulang dalam 3 well (triplo). Kosongkan 3 well untuk blanko media yang terdiri dari 80 μ L pelarut dan 80 μ L larutan DPPH 0,1 mM. Pindahkan larutan DPPH 0,1 mM ke wadah plastik secukupnya, lalu pipet 80 μ L DPPH ke well plate yang berisi standar dan sampel dalam kondisi gelap. Tutup microplate dengan aluminium foil dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 25°C. Setelah itu, baca campuran larutan menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 492 nm selama 30 detik dengan fibrition shake medium.
- e. Analisis Kurva Regresi Hasil Uji Antioksidan DPPH. Membuat template untuk melakukan pemrosesan data pada file raw data original bawaan dari mesin microplate-reader (umumnya dibuat tepat di bawah raw data original). Pindahkan data absorbansi (Standar, Sampel, dan Blanko) yang ada pada row data ke template absorbansi sesuai dengan konsentrasi yang di buat. Buat Kurva Regresi pada standar dengan syarat $R \geq 0,95$, dengan catatan jika IC50 yang diminta maka data yang digunakan adalah konsentrasi dengan % Inhibisi rata – rata.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Absorbanasi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel})}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100$$

Hitung nilai %Inhibisi rata – rata dan nilai standar deviasinya. Buat kurva regresi pada sampel (Jika IC50). Tentukan nilai

- Untuk Standar

$$IC50 = \frac{(50 - \text{Intersep Standar})}{\text{Slope Standar}}$$

- Untuk Sampel

$$IC50 = \frac{(50 - \text{Intersep Sampel})}{\text{Slope Sampel}}$$

6. Uji *In Silico*

- a. Penentuan senyawa dan pencarian bioaktivitas. Berdasarkan hasil studi literatur bubuk kepala udang yang dimaserasi aseton kaya akan senyawa astaxanthin. Oleh karena itu, senyawa yang dipilih astaxanthin. Senyawa astaxanthin dipilih yang akan diuji dari bubuk ekstrak kepala udang. Struktur astaxanthin didapatkan melalui

PubChem.ncbi.nih.gov. dan data SMILE. Astanxanthin diprediksi bioaktivitas menggunakan website wey2drug.com/passonline/.

- b. Identifikasi target protein yang berkaitan dengan penyakit aterosklerosis. Target protein didapatkan melalui swisstargetprediction.ch dan SuperPred. Interaksi antar protein dapat dilihat melalui string-db.org. Protein target ditentukan yang sesuai melalui swisstargetprediction.ch dan STRING-DB.
- c. Modeling struktur protein pada ekstrak kepala udang dan protein yang berkaitan dengan penyakit aterosklerosis. FASTA dicari dari masing-masing protein target melalui ncbi.nlm.nih.gov. Protein target dimodelkan dan divalidasi menggunakan swissmodel.expasy.org dan saves.mbi.ucla.edu. visualisasi dengan dilihat menggunakan aplikasi PyMol.
- d. Docking molekular dengan mencocokkan struktur protein dengan protein yang berkaitan aterosklerosis (Barizi *et al.*, 2024). Ligan didapatkan menggunakan aplikasi PyRex. Air dihilangkan pada visualisasi protein menggunakan aplikasi PyMol. Senyawa 2D dan proteinnya didapatkan menggunakan proteins.plus.
- e. Analisis Kemiripan Obat, Farmakokimia, Fisikokimia dan Toksisitas. Struktur 2D dan grafik Radar Bio Availability (Lipo, Size, Polaritas, Insoluble Water, In Saturation, Flexibility) didapatkan menggunakan swissadme.ch. Potensi senyawa dilihat menggunakan ProTox.

D. Hasil Dan Pembahasan

1. Pembuatan bubuk ekstrak kepala udang

Pengeringan kepala udang menggunakan oven selama 1 jam 45 menit pada suhu 125°C menghasilkan bubuk kepala udang sekitar 162 gram yang menunjukkan bahwa proses pengeringan efektif dalam mengurangi kadar air dan meningkatkan berat bubuk dengan warna coklat muda dan beraroma seperti terasi udang menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam bubuk masih relatif stabil dan tidak terlalu teroksidasi, yang penting untuk kualitas dan keamanan konsumsi. Beraroma seperti terasi udang menunjukkan bahwa proses pengeringan telah berhasil melestarikan aroma alami dari kepala udang.



Gambar 1. Bubuk kepala udang.

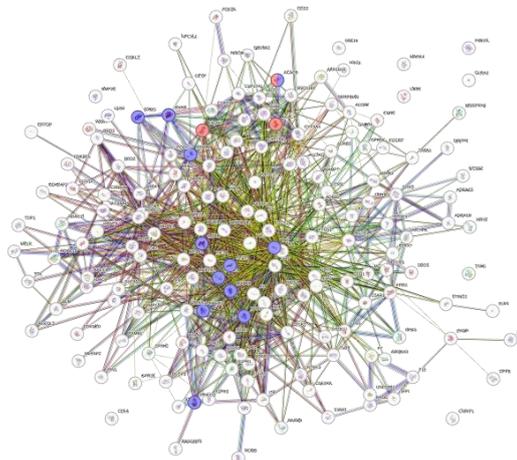
Ekstraksi bubuk kepala udang sebanyak 5 gram dengan tambahan aseton 50 ml menghasilkan ekstrak berwarna coklat kehitaman, yang menunjukkan bahwa proses ekstraksi berhasil mengeluarkan senyawa-senyawa yang terlarut dalam pelarut organik tersebut. Warna coklat kehitaman ini dapat diindikasikan oleh keberadaan karotenoid, termasuk astaxanthin, yang dikenal sebagai senyawa antioksidan kuat yang banyak.



Gambar 2. Ekstrak bubuk kepala udang.

2. Target Potensial dari Astaxanthin

Target potensial yang dapat berikatan dengan astxanthin didapatkan dari dua database yaitu swisspredict (100 protein target) dan superpred (114 protein target). Dengan demikian, total protein target 214.



Gambar 3. Interaksi protein-protein dari astaxanthin yang berkaitan dengan aterosklerosis

KEGG pathways adalah bagian dari KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), yang merupakan basis data yang menyimpan informasi tentang jalur biologis, interaksi molekuler, dan jaringan reaksi dalam organisme. KEGG PATHWAY berfungsi sebagai peta jalur yang menggambarkan hubungan antara gen, protein, senyawa kimia, dan reaksi biokimia yang terlibat dalam berbagai proses biologis. Berdasarkan analisis KEGG pathways didapatkan target potensial yang dapat berhubungan dengan astaxanthin yaitu TNF, RXRB, RXRG, RXRA, PRKCQ, ACCA, FASN, MAPK9, MAPK8, NFKB1.

ACCA (*Acetyl-CoA carboxylase alpha*) berperan dalam mengkatalisis reaksi yang mengendalikan laju pembentukan asam lemak rantai panjang (Singh *et al.*, 2015). TNF (*Tumor Necrosis Factor alpha*) adalah sitokin pleiotropik yang berperan dalam proses inflamasi dengan menginisiasi dan mengaktifkan sel polimorfonuclear, dan berkontribusi positif dalam respons imun terhadap infeksi bakteri, virus, jamur, dan parasit (Supit *et al.*, 2015). RXRB (*retinoid x receptor beta*) berperan dalam pengaturan respons inflamasi dengan mempengaruhi aktivitas sel imun, termasuk makrofag yang membantu mengelola proses inflamasi dalam aterosklerosis, dan terlibat dalam pembentukan sel busa dan ekspresi sitokin pro-inflamasi (Barizi *et al.*, 2024). RXRG (*protein retinoid x receptor gamma*) mempengaruhi polaritas makrofag, di mana makrofag yang terpolarisasi dengan baik dapat membantu membersihkan kolesterol dan mengurangi peradangan (Hou *et al.*, 2023). PRKQ (*protein kinase c, q family*) tidak secara langsung disebutkan dalam konteks aterosklerosis namun aktivasinya dapat mempengaruhi ekspresi gen terkait lipid yang penting untuk transportasi kolesterol dari makrofag ke HDL (Lien *et al.*, 2021). FASN (*fatty acid synthase*) defisiensinya mengakibatkan pengurangan akumulasi lipid dan menghambat transisi ke fenotipe sel busa setelah paparan kolesterol (Bogan *et al.*, 2024). MAPK9 (*mitogen-activated protein kinase 9*) aktivasinya dapat meningkatkan ekspresi sitokin pro-inflamasi yang berkontribusi pada proses inflamasi di dinding pembuluh darah (Barizi *et al.*, 2024). NFKB1 penghambatan aktivasinya seperti yang ditunjukkan oleh penelitian tentang *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) dapat mencegah progresifitas aterosklerosis dengan mengurangi inflamasi dan kerusakan dinding pembuluh darah (Rohman *et al.*, 2006). RXRA (*protein retinoid x receptor alpha*) berperan dalam menghambat ekspresi gen pro-inflamasi di makrofag yang berkontribusi pada pengurangan inflamasi di dinding pembuluh darah (Cassim *et al.*, 2022). MAPK8 (*Mitogen-Activated Protein Kinase 8*) berperan dalam respons sel terhadap stres oksidatif yang selanjutnya

berkontribusi pada kerusakan seluler dan inflamasi di dinding pembuluh darah (Reustle, A., & Torzewski, M., 2018).

3. Molecular Docking Astaxanthin dengan 10 protein-protein target

Tabel 1. 10 protein target

Senyawa	Target	Binding energy (kcal/mol)
Astaxanthin	TNF	-6,6
	RXRB	-8,1
	RXRG	-7,5
	RXRA	-6,9
	PRKCQ	-8,5
	ACCA	-8,3
	FASN	-8,5
	MAPK9	-8,1
	MAPK8	-8,2
	NFKB1	-7.4

Berdasarkan hasil molecular docking menggunakan PyRx didapatkan hasil target terbaik yaitu PRKCQ dengan binding energy -8,5 kcal/mol dan FASN dengan binding energy -8,5 kcal/mol. Astaxanthin memiliki kemampuan untuk mengikat lipid dan memodulasi aktivitas enzim Fatty Acid Synthase (FASN) melalui mekanisme yang berhubungan dengan perubahan konformasi membran atau pengaruh terhadap lingkungan lipid di sekitar enzim tersebut. Penelitian menunjukkan bahwa astaxanthin dapat menurunkan akumulasi lipid dalam sel adiposit 3T3-L1 dengan cara menurunkan ekspresi gen yang terkait dengan lipogenesis, termasuk FASN, serta mempengaruhi jalur sinyal yang berperan dalam metabolisme lipid (Tsai *et al.*, 2020). Hubungan antara astaxanthin dan PRKCQ dalam konteks aterosklerosis menunjukkan potensi mekanisme anti-inflamasi dan perlindungan kardiovaskular. Astaxanthin, yang merupakan karotenoid dengan sifat antioksidan yang kuat, telah terbukti memiliki efek positif dalam mencegah perkembangan aterosklerosis melalui beberapa jalur biologis. Penelitian menunjukkan bahwa astaxanthin dapat meningkatkan transportasi kolesterol terbalik (reverse cholesterol transport/RCT), yang merupakan proses penting dalam mengurangi akumulasi plak aterosklerotik di arteri. Dalam konteks ini, PRKCQ berperan dalam jalur sinyal yang mengatur respons inflamasi dan metabolisme lipid, yang keduanya berkontribusi pada perkembangan aterosklerosis (Zou *et al.*, 2017).

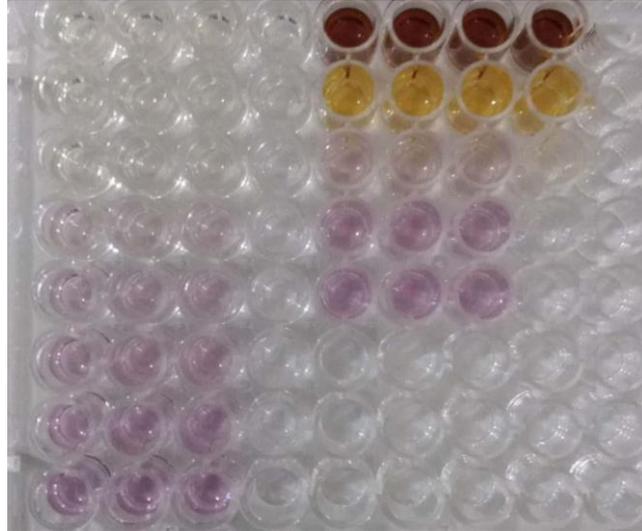
4. Farmakokinetik Astaxanthin

Lipofilisitas	8,24
Kelarutan Air	
Log S	-9.35
Kelarutan	2.66e-07 mg/ml ; 4.46e-10 mol/l
Kelas	Sulit Larut

Kelarutan air yang dinyatakan dengan log S sebesar -9.35 dan nilai kelarutan 2.66e-07 mg/ml (atau 4.46e-10 mol/l) menunjukkan bahwa senyawa ini sangat sulit larut dalam air. Kelas kelarutan yang ditentukan sebagai "sulit larut" mengindikasikan bahwa pada konsentrasi tersebut, hanya sedikit dari senyawa ini yang dapat terdispersi dalam air. Hal ini juga dapat mempengaruhi bioavailabilitas senyawa ketika digunakan dalam aplikasi farmakologis atau nutrisi, karena senyawa yang sulit larut cenderung memiliki penyerapan yang rendah dalam sistem gastrointestinal. Kombinasi dari sifat lipofilisitas yang tinggi dan kelarutan yang sangat rendah dalam air menunjukkan bahwa senyawa ini mungkin lebih efektif dalam formulasi berbasis lipid, seperti emulsi atau formulasi kapsul, untuk meningkatkan penyerapan dan efektivitasnya. Dalam hal ini, lipofilisitas yang terukur sebesar 8,24 menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki kecenderungan yang tinggi untuk larut dalam lipid dibandingkan dengan air. Ini berarti senyawa ini lebih bersifat hidrofobik, yang dapat mempengaruhi cara senyawa tersebut berinteraksi dalam sistem biologis dan lingkungan.

5. Aktivitas antioksidan ekstrak kepala udang

Berdasarkan analisis antioksidan DPPH screening didapatkan % inhibition sekitar $54,02 \pm 0,69$ pada konsentrasi 1000 ppm. Aktivitas antioksidan sebesar 54% menunjukkan kemampuan menetralkan radikal bebas yang cukup kuat, tetapi tanpa nilai IC50, sulit untuk membandingkannya secara langsung dengan standar lainnya. Jika dibandingkan dengan penelitian Tahar et al., (2023) pada penelitiannya mendapatkan pernyataan bahwa ekstrak kaumba turate menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, dengan nilai IC50 di bawah 50 mg/L atau 50 ppm. Hal ini berarti membuktikan bahwa nilai antioksidan bubuk kepala udang dengan nilai IC50 5,39 ppm bernilai kuat.



Gambar 3. Hasil analisis DPPH screening

E. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat dua simpulan yang menjawab tujuan penelitian yaitu sebagai berikut:

- a. Hasil uji *in silico* menunjukkan astaxanthin berpotensi berikatan dengan protein yang berkaitan dengan aterosklerosis yaitu PRKCQ dan FASN. Ekstrak kepala udang menunjukkan potensi yang signifikan sebagai sumber antioksidan, terutama karena kandungan astaxanthin yang tinggi. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak ini tidak hanya memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, tetapi juga dapat berfungsi sebagai agen perlindungan terhadap kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Nilai IC₅₀ yang rendah yaitu 5,39 ppm mengindikasikan bahwa bubuk ekstrak ini efektif dalam menetralkan radikal bebas bahkan pada konsentrasi yang relatif rendah. Hal ini membuktikan bahwa senyawa tersebut lebih efektif dalam menetralkan radikal bebas.
- b. Berdasarkan hasil analisis *in silico*, ekstrak kepala udang menunjukkan potensi yang signifikan sebagai agen antioksidan dalam pencegahan aterosklerosis. Aktivitas antioksidan ekstrak bubuk kepala udang sekitar 54% penghambatan dalam 1000 ppm. Astaxanthin dalam bubuk ekstrak kepala udang dapat berperan dalam pencegahan dini aterosklerosis melalui aktivitas antioksidannya. Oksidatif lipid yang berlebihan adalah salah satu faktor yang memicu perkembangan aterosklerosis. Astaxanthin dapat menghambat proses oksidatif lipid, sehingga mengurangi akumulasi lipid dalam dinding arteri dan mencegah pembentukan plak aterosklerotik

2. Saran

Menggunakan metode *in vitro* perlu gunakan beberapa metode uji antioksidan, seperti uji DPPH, ABTS, atau FRAP, agar hasil lebih komprehensif dan dapat dibandingkan dengan penelitian lain. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai formulasi terbaik bubuk kepala udang dengan kadar yang pasti untuk mencegah maupun menangani penyakit aterosklerosis.

Daftar Pustaka

- Amalia, I. P. R., & Triyono, E. A. (2018). Asupan Vitamin A, C, E, Dan IMT (Indeks Massa Tubuh) Pada Lansia Hipertensi dan Non Hipertensi Di Puskesmas Banyu Urip, Surabaya. *Amerta Nutrition*, 2(4), 382-391.
- Badan Pusat Statistik. (2021). "Produksi Perikanan Budidaya Menurut Komoditas Utama (Ton) 2019-2020". <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/MTUxMyMy/produksi-perikanan-budidaya-menurut-komoditas-utama.html>. Diakses pada 08 Juni 2024.
- Badan Pusat Statistik. (2023). "Produksi dan Nilai Produksi Perikanan Budidaya Menurut Provinsi dan Komoditas Utama, 2021". <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/3/TkdGeFN5OUJVmxVTjBScIzrbFR0aIUzVW5KQmR6MDkjMw==/pr-oduksi-dan-nilai-produksi-perikanan-budidaya-menurut-provinsi-dan-komoditas-utama-2021.html?year=2021>. Diakses pada 08 Juni 2024.
- Balai Penerapan Standar Instrumen Pertanian. (2023). "Pengolahan Bahan Limbah Menjadi Bahan Pakan Ternak Sebagai Penerapan SNI 8079:2014". <https://babel.bsip.pertanian.go.id/berita/pengolahan-limbah-udang-menjadi-bahan-pakan-ternak-sebagai-penerapan-sni-80792014>. Diakses pada 08 Juni 2024
- Barizi, A. Z. M., Azman, A. N. S. S., Saad, M. F. S., Abdullah, M. N. H., Lim, V., & Yong, Y. K. (2024). Network Pharmacology and Molecular Docking Approaches of Astaxanthin (ATX) against Atherosclerosis. *Pharmacognosy Research*, 16(3).
- Barizi, A. Z. M., Azman, A. N. S. S., Saad, M. F. S., Abdullah, M. N. H., Lim, V., & Yong, Y. K. (2024). Network Pharmacology and Molecular Docking Approaches of Astaxanthin (ATX) against Atherosclerosis. *Pharmacognosy Research*, 16(3).
- Bogan, B. J., Williams, H. C., Holden, C. M., Patel, V., Joseph, G., Fierro, C., ... & San Martin, A. (2024). The Role of Fatty Acid Synthase in the Vascular Smooth Muscle Cell to Foam Cell Transition. *Cells*, 13(8), 658.
- Burke, M. F., Burke, F. M., & Soffer, D. E. (2017). Review of cardiometabolic effects of prescription omega-3 fatty acids. *Current atherosclerosis reports*, 19, 1-12.

- Cahyono, E. B., Zahra, P. T., & Abduh, M. S. (2024). Hubungan Skor Atherosclerotic Cardiovascular Disease (ASCVD Score) dengan Derajat Stenosis Berdasarkan One Vessel, Two Vessel, Three Vessel Disease Score Angiografi. *JMHSA: Journal of Midwifery and Health Science of Sultan Agung*, 3(1).
- Cheng, X. Y., Xiong, Y. J., Yang, M. M., & Zhu, M. J. (2019). Preparation of astaxanthin mask from *Phaffia rhodozyma* and its evaluation. *Process Biochemistry*, 79, 195-202.
- Ekpe, L., Inaku, K., & Ekpe, V. (2018). Antioxidant effects of astaxanthin in various diseases—A review. *J. Mol. Pathophysiol*, 7(1), 1-6.
- Eltorai, A., Bakal, J. A., DeFroda, S., & Owens, B. D. (Eds.). (2023). *Translational Sports Medicine*. Elsevier.
- Grillo, A., Salvi, L., Coruzzi, P., Salvi, P., & Parati, G. (2019). Sodium intake and hypertension. *Nutrients*, 11(9), 1970.
- Halim, A., Handini, M., Armyanti, I., & Novianry, V. (2019). The effect of astaxanthin on glutathione levels in damaged liver tissues of male wistar rats induced by oral formaldehyde. *KnE Life Sciences*, 147-154.
- Hormozi, M., Ghoreishi, S., & Baharvand, P. (2019). Astaxanthin induces apoptosis and increases activity of antioxidant enzymes in LS-180 cells. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 891-895.
- Hou, P., Fang, J., Liu, Z., Shi, Y., Agostini, M., Bernassola, F., ... & Melino, G. (2023). Macrophage polarization and metabolism in atherosclerosis. *Cell Death & Disease*, 14(10), 691.
- Innes, J. K., & Calder, P. C. (2018). The differential effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiometabolic risk factors: a systematic review. *International journal of molecular sciences*, 19(2), 532.
- Klein, E. A., Thompson, I., Tangen, C. M., Lucia, M. S., Goodman, P., Minasian, L. M., ... & Baker, L. H. (2012). Vitamin E and the risk of prostate cancer: Updated results of the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial.
- Kumar, A., & Jha, A. (2023). *Anticandidal Therapeutics: Discovery and Development*. Elsevier
- Laksono, E. F. Pengembangan Bubuk Ekstrak Kepala Udang Peci (*Penaeus merguensis* de Man) dengan Foam Mat Drying menggunakan Maltodekstrin.
- Lien, C. F., Chen, S. J., Tsai, M. C., & Lin, C. S. (2021). Potential role of protein kinase C in the pathophysiology of diabetes-associated atherosclerosis. *Frontiers in pharmacology*, 12, 716332.
- Low, L. A., Sutherland, M., Lumelsky, N., Selimovic, S., Lundberg, M. S., & Tagle, D. A.

- (2020). Organs-on-a-Chip. Biomaterials-and Microfluidics-Based Tissue Engineered 3D Models, 27-42.
- Lubrano, V., & Balzan, S. (2015). Enzymatic antioxidant system in vascular inflammation and coronary artery disease. *World journal of experimental medicine*, 5(4), 218.
- Lukiyono, Y. T., Sudjarwo, G. W., Haq, M., Ariful, N., & Mahmiah, M. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Kitosan dari Limbah Kulit Udang *Litopenaeus vannamei* Menggunakan Metode DPPH. In *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya (Vol. 2, No. 1, pp. 1-5)*. PoltekKes Kemenkes Surabaya.
- Mahatmanti, F. W., Kusumastuti, E., Jumaeri, J., Sulistyani, M., Susiyanti, A., Haryati, U., & Dirgantari, P. S. (2022). Pembuatan Kitin Dan Kitosan Dari Limbah Cangkang Udang Sebagai Upaya Memanfaatkan Limbah Menjadi Material Maju. *Inovasi Kimia*, (1), 1-38.
- Malekmohammad, K., Sewell, R. D., & Rafieian-Kopaei, M. (2019). Antioxidants and atherosclerosis: mechanistic aspects. *Biomolecules*, 9(8), 30.
- Mao, X., Zhang, J., Kan, F., Gao, Y., Lan, J., Zhang, X., ... & Lin, H. (2013). Antioxidant production and chitin recovery from shrimp head fermentation with *Streptococcus thermophilus*. *Food Science and Biotechnology*, 22, 1023-1032.
- Marhaeni, L. S. (2021). Daun Kelor (*Moringa oleifera*) sebagai Sumber Pangan Fungsional dan Antioksidan.
- Mauludia, M., Usman, T., Rahmalia, W., Prayitno, D. I., & Nurbaeti, S. N. (2021). Ekstraksi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Astaxanthin dari Produk Fermentasi Udang (Cincalok). *Jurnal kelautan tropis*, 24(3), 311-322.
- Meydani, M. (2001). Vitamin E and atherosclerosis: beyond prevention of LDL oxidation. *The Journal of nutrition*, 131(2), 366S-368S.
- Ngitung, R., Sahribulan, S., & Rahmadani, A. (2022). Pemanfaatan Tepung Cangkang dan Kepala Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) terhadap Penurunan Hiperkolesterolemia secara In Vivo. *Bionature*, 23(2), 77-83.
- Ni, Y., Nagashimada, M., Zhuge, F., Zhan, L., Nagata, N., Tsutsui, A., ... & Ota, T. (2015). Astaxanthin prevents and reverses diet-induced insulin resistance and steatohepatitis in mice: A comparison with vitamin E. *Scientific reports*, 5(1), 17192.
- Oh, S., Kim, Y. J., Lee, E. K., Park, S. W., & Yu, H. G. (2020). Antioxidative effects of ascorbic acid and astaxanthin on arpe-19 cells in an oxidative stress model. *Antioxidants*, 9(9), 833.

- Rahmalia, W., Adhitiyawarman, A., Prayitno, D. I., & Lubis, Y. N. B. (2024). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Astaxanthin dari Limbah Kulit dan Kepala Udang Dogol (*Metapenaeus ensis*). *Jurnal Kelautan Tropis*, 27(2), 380-390.
- Reustle, A., & Torzewski, M. (2018). Role of p38 MAPK in atherosclerosis and aortic valve sclerosis. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 3761.
- Rohman, M. S., Rastini, E. K., Sarbini, D., Titi, A. W., Widodo, W., & Sargowo, D. (2006). PENGHAMBATAN AKTIFASI NF- κ B OLEH CAPE (CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER), KOMPONEN AKTIF MADU LEBAH (HONEYBEE HIVES), PADA HUVECTM S (HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS) YANG DIPAPAR LDL TEROKSIDASI. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 22(1), 1-5.
- Santosa, W. N., & Baharuddin, B. (2020). Penyakit jantung koroner dan antioksidan. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*, 1(2), 95-100.
- Saras, T. (2023). *Vitamin E: Kunci Kesehatan dan Keindahan*. Tiram Media.
- Sekikawa, A., Cui, C., Sugiyama, D., Fabio, A., Harris, W. S., & Zhang, X. (2019). Effect of high-dose marine omega-3 fatty acids on atherosclerosis: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutrients*, 11(11), 2599.
- Setiawan, H., & Irawan, M. I. (2017). Kajian Pendekatan Penempatan Ligan pada Protein Menggunakan Algoritma Genetika. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 6(2), A68-A72.
- Siagian, D. D., Kepel, B. J., Manampiring, A., Bodhi, W., & Budiarmo, F. D. (2022). Analisis Antioksidan Senyawa Bioaktif Ekstrak Lidah Buaya Secara In silico. *E Biomedik*, 10(2): 129–135.
- Singh, S., Arcaroli, J., Chen, Y., Thompson, D. C., Messersmith, W., Jimeno, A., & Vasiliou, V. (2015). ALDH1B1 is crucial for colon tumorigenesis by modulating Wnt/ β -catenin, Notch and PI3K/Akt signaling pathways. *PloS one*, 10(5), e0121648.
- Sundalian, M., Gustini, S. G. S., & Rishadi, F. F. (2021). Kajian Metode Ekstraksi dan Analisis Senyawa Astaxanthin yang Terkandung dalam Udang: Study of Extraction Methods and Analysis of Astaxanthin Compounds Contained in Shrimp. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(4), 601-610.
- Supit, I. A., Pangemanan, D. H., & Marunduh, S. R. (2015). Profil tumor necrosis factor (TNF- α) berdasarkan indeks massa tubuh (IMT) pada mahasiswa fakultas kedokteran UNSRAT angkatan 2014. *eBiomedik*, 3(2).
- Sztretye, M., Dienes, B., Gönczi, M., Czirják, T., Csernoch, L., Dux, L., Szentesi, P., & Keller-Pintér, A. (2019). Astaxanthin: A Potential Mitochondrial-Targeted

- Antioxidant Treatment in Diseases and with Aging, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–14. doi: 10.1155/2019//3849692.
- Tang, J., Dunshea, F. R., & Suleria, H. A. (2019). Lc-esi-qtof/ms characterization of phenolic compounds from medicinal plants (hops and juniper berries) and their antioxidant activity. *Foods*, 9(1), 7.
- Tarigan, C. Y. (2020). The Benefit of An Antioxidant on Atherosclerosis. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(4), 23-28.
- Tsai, M. C., Huang, S. C., Chang, W. T., Chen, S. C., & Hsu, C. L. (2020). Effect of astaxanthin on the inhibition of lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes via modulation of lipogenesis and fatty acid transport pathways. *Molecules*, 25(16), 3598.
- Umah, L., Agustini, T. W., & Fahmi, A. S. (2021). Karakteristik perisa bubuk ekstrak kepala udang vanamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan penambahan konsentrat tomat (*Lycopersicum esculentum*) menggunakan metode foam mat drying. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 3(1), 50-58.
- Verdian, A. H., Witoko, P., & Aziz, R. (2020). Komposisi kimia daging udang vanamei dan udang windu dengan sistem budidaya keramba jaring apung. *Jurnal Perikanan Terapan*, 1(1).
- Wei, T., Liu, J., Zhang, D., Wang, X., Li, G., Ma, R., ... & Guo, X. (2021). The relationship between nutrition and atherosclerosis. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 635504.
- Wibawa, J. C., Arifin, M. Z., & Herawati, L. (2020). Mekanisme vitamin C menurunkan stres oksidatif setelah aktivitas fisik. *JOSSAE (Journal of Sport Science and Education)*, 5(1), 57-63.
- Yuan, G., Pan, Y., Li, W., Wang, C., & Chen, H. (2019). Effect of extrusion on physicochemical properties, functional properties and antioxidant activities of shrimp shell wastes protein. *International journal of biological macromolecules*, 136, 1096-111.
- Zou, T. B., Zhu, S. S., Luo, F., Li, W. Q., Sun, X. R., & Wu, H. F. (2017). Effects of astaxanthin on reverse cholesterol transport and atherosclerosis in mice. *BioMed Research International*, 2017(1), 4625932.