



Antioxidant Activity and Total Carotenoids Level of *Litopenaeus vannamei* Muammar Fawwaz^{1*}, Muzakkir Baits, Mamat Pratama, Zainal Abidin

Laboratory of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Jl. Urip Sumihardjo km.5,
Kampus II UMI Makassar, Indonesia

Submitted 19 August 2022; Revised 8 June 2023; Accepted 7 July 2023; Published 28 October 2024

*Corresponding author: muammar.fawwaz@umi.ac.id

Abstract

White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is a Crustacean species whose shell contains carotenoid compounds. The carotenoid is a natural antioxidant with a high potential for scavenging free radicals. The purpose of this work is to quantify the total carotenoid content of *L. vannamei* shell extract and evaluate its antioxidant properties in a laboratory setting. The extraction method involved maceration with n-hexane. The extract's total carotenoid concentration was comparable to β -carotene. A UV-visible spectrophotometer was used to quantify, extract, and reference standard solutions at β -carotene's maximum wavelength (462 nm). The extract's antioxidant activity was determined using two methods: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and the ferric reducing antioxidant power (FRAP) method. The result showed that the total carotenoid in the *L. vannamei* shell extract was 5.87 mg/g, equivalent to β -carotene. The extract's half inhibitory concentration (IC_{50}) using the DPPH technique was 27.59 μ g/mL, indicating moderate antioxidant capability compared to standard quercetin at 1.28 μ g/mL. The extract's antioxidant potential was evaluated using FRAP and expressed as 1.65 mg of quercetin equivalents (QE) per gram of extract (mgQE/g). Thus, *L. vannamei* shrimp shell extract has great potential as a natural source of carotenoids with appropriate antioxidant properties.

Keywords: β -carotene, crustacean, DPPH, FRAP.

Aktivitas Antioksidan dan Kadar Karotenoid Total pada *Litopenaeus vannamei*

Abstrak

Udang putih (*Litopenaeus vannamei*) termasuk dalam spesies Crustacea yang cangkangnya mengandung senyawa karotenoid sehingga berpotensi tinggi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karotenoid total pada ekstrak cangkang *L. vannamei* dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya secara *in vitro*. Ekstrak diperoleh dengan cara maserasi menggunakan n-heksan. Tingkat total karotenoid dalam ekstrak ditentukan setara dengan β -karoten. Spektrofotometer visible mengukur ekstrak dan larutan standar referensi pada panjang gelombang maksimum β -karoten (462 nm). Dua metode berbeda digunakan dalam menentukan aktivitas antioksidan ekstrak; metode peredaman radikal 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) dan metode *ferric reducing antioxidant power* (FRAP). Hasil penelitian menunjukkan bahwa karotenoid total dalam ekstrak cangkang *L. vannamei* adalah 5,87 mg/g, setara dengan β -karoten. Konsentrasi hambat setengah (IC_{50}) ekstrak dengan metode DPPH adalah 27,59 μ g/mL menunjukkan potensi sedang sebagai antioksidan dibandingkan dengan quercetin standar sebesar 1,28 μ g/mL. Kapasitas antioksidan ekstrak dengan metode FRAP dinyatakan dalam mg Quercetin Ekuivalen per g ekstrak (mgQE/g), dan hasilnya menunjukkan potensi penghambatan sebesar 1,65 mgQE/g ekstrak. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak cangkang udang *vannamei* sangat potensial sebagai sumber karotenoid alami dengan efek antioksidan yang memadai.

Kata Kunci: β -karoten, crustacea, DPPH, FRAP.

1. Pendahuluan

Food and Agriculture Organization (FAO) menyatakan bahwa konsumsi udang di beberapa negara meningkat secara global. Total konsumsi udang di AS meningkat dari tahun sebelumnya menjadi 496.287 ton pada tahun 2019. Indonesia merupakan salah satu eksportir udang terbesar ke AS, dengan total lebih dari 240.000 ton pada tahun 2019.¹ Umumnya, udang diekspor dalam bentuk beku dengan atau tanpa cangkang. Dengan demikian, pengolahan udang akan menyisakan sekitar 50-60% limbah padat sebagai hasil samping.² Peningkatan ekspor udang sejalan dengan peningkatan limbah padat berupa cangkang udang; oleh karena itu, diperlukan pengolahan dan pemanfaatan limbah untuk mengurangi pencemaran lingkungan.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa limbah cangkang udang dapat dijadikan sebagai starting material untuk meningkatkan nilai suatu produk.^{3,5} Hal ini dikarenakan kandungan senyawa aktifnya antara lain 18 – 40% protein, 35% mineral, dan 14 – 30% kitin-kitosan.^{6,8} Beberapa penelitian melaporkan bahwa cangkang udang merupakan sumber glukosamin HCl dan karotenoid, terutama astaxanthin.^{9,11}

Karotenoid merupakan pigmen yang memberikan warna kuning hingga merah pada kulit udang, cangkang kepiting, dan ikan salmon. Zat warna ini berasal dari makanan (alga) yang dimakan hewan ini.^{12,13}; karena alga dapat mensintesis xanthophylls kelompok karotenoid, seperti loraxanthin, canthaxanthin, diatoxanthin, diadinoxanthin, astaxanthin dan fucoxanthin.^{13,14} Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa karotenoid berkontribusi sebagai antioksidan.^{15,16} Dengan demikian, eksplorasi potensi kandungan karotenoid total pada cangkang udang perlu dilakukan.

Pada penelitian ini kami menetapkan kadar karotenoid total pada ekstrak cangkang udang *Litopenaeus vannamei* kemudian mengevaluasi kemampuan ekstrak cangkang udang *L. vannamei* sebagai antioksidan alami dengan metode peredaman radikal 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) dan metode *ferric reducing antioxidant power* (FRAP). Metode analisis dalam penetapan

kadar dan penentuan aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Visible.

2. Metode

2.1. Alat

Pada penelitian ini digunakan peralatan gelas dengan standar laboratorium (Pyrex®), mikropipet, oven (Mettler®), pH meter (Jenco®), sentrifuge (OneMed®), spektrofotometer UV-Visible (Apel®), timbangan analitik (KERN®), dan vortex (IKA® Vortex Genius 3).

2.2. Bahan

Sampel penelitian berupa cangkang udang putih (*L. vannamei*). Air suling diperoleh dari hasil destilasi menggunakan Millipore-Q50. Pelarut *n*-heksan, etanol 70%, dan chloroform merupakan grade pro-analisis. Reagen untuk pengujian antioksidan dan penetapan kadar asam trikloroasetat 10%, FeCl₃ 0,1%, dapar fosfat (0,2 M, pH 6,6), KH₂PO₄, dan kalium ferrisianida 1%. Standard baku menggunakan quercetin dan β -karoten diperoleh dari Sigma-Aldrich (USA).

2.3. Prosedur

2.3.1. Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel cangkang udang putih sebanyak 1,5 kg diperoleh dari limbah yang berasal dari Kawasan Industri PT. KML (Kelola Mina Laut) dengan kode sampel DD – 1516, Jalan Kima No 17, Makassar. Selanjutnya cangkang udang dibersihkan dari kotoran menggunakan air mengalir, dan kemudian dikeringkan di daerah terbuka kurang lebih dua hari. Setelah kering, cangkang udang digiling dan diayak sehingga diperoleh serbuk. Hasil ayakan digunakan sebagai sampel dalam pengujian.

2.3.2. Ekstraksi

Cangkang udang diekstraksikan dengan cara mencampur 5 g serbuk cangkang, ditambahkan 50 mL *n*-heksan dan kemudian divorteks selama 30 detik lalu diletakkan diatas penangas air pada suhu 50°C selama 10 menit. Campuran kemudian di sentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan lapisan organik.

2.3.3. Uji antioksidan metode FRAP

a. Pembuatan kurva standar quercetin

Quercetin ditimbang sebanyak 25 mg dan dilarutkan dalam 25 mL etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi 1000 bagian per juta (bpj). Larutan stok quercetin dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol 96% hingga 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 bpj. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi quercetin dengan deret 3, 5, 7, 13, dan 15 bpj.

b. Pembuatan larutan dapar fosfat

Larutan dapar dibuat dengan melarutkan 2 g NaOH ke dalam air suling bebas CO₂ hingga mencapai 250 mL dengan menggunakan labu ukur. Ditimbang KH₂PO₄ sebanyak 6,8 g dan dilarutkan dalam air suling bebas CO₂ sebanyak 250 mL dalam labu ukur. Sejumlah 16,4 mL NaOH dicampurkan dengan 50 mL KH₂PO₄ dalam labu ukur. pH campuran diatur hingga pH 6,6 dan dicukupkan dengan air suling bebas CO₂ hingga 200 mL.

c. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks})

Sejumlah 10 mg quercetin ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% (1000 bpj). Selanjutnya diencerkan dengan etanol hingga diperoleh konsentrasi 6 bpj. Dari larutan standar quercetin 6 bpj dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan dapar fosfat (pH 6,6) dan K₃Fe(CN)₆ sejumlah masing-masing 1 mL. Selanjutnya, didiamkan pada suhu 50°C selama 20 menit. Campuran kemudian ditambahkan dengan TCA 1 mL lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuge lapisan atas atau supernatan dipipet 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan air suling dan FeCl₃ 0,05% sebanyak masing-masing 1 mL dan 0,5 mL. Campuran larutan didiamkan selama 10 menit dan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan instrument spektrofotometer visible pada panjang gelombang 700 – 800 nm.

d. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metode FRAP

Sebanyak 5 mg ekstrak cangkang

udang putih dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% (500 bpj), lalu dipipet 4 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol 96% (200 bpj). Sejumlah 1 mL larutan sampel ditambahkan dapar fosfat 0, 2 M (pH 6.6) dan K₃Fe(CN)₆ 1% sebanyak masing-masing 1 mL. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan 1 mL TCA lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuge, lapisan atas atau supernatan dipipet 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan air suling FeCl₃ 0,1% masing-masing sebanyak 1 mL dan 0,5 mL. Larutan didiamkan selama 10 menit kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer visible pada panjang gelombang maksimal yaitu 743 nm. Sedangkan untuk larutan blangko digunakan campuran larutan oksalat.

Kurva kalibrasi dibuat dengan menggunakan data absorbansi larutan quercetin sebagai pembanding dengan deret konsentrasi 3, 5, 7, 13, dan 15 bpj.

e. Analisis data

Data absorbansi menjadi variable dalam perhitungan kapasitas antioksidan dengan cara memasukkan absorbansi dalam persamaan regresi linear, $y = a + bx$ (y = absorbansi, x = konsentrasi, a = intersep, b = slop). Kapasitas antioksidan dinyatakan dalam mg Quercetin Ekuivalen/g (mgQE/g) ekstrak.

2.3.4. Uji antioksidan metode DPPH

a. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks})

Sejumlah 4 mL larutan DPPH (0,05 mM) ditambahkan dengan 1 mL metanol kemudian didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Setelah itu, absorbansi campuran diukur menggunakan alat spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 350 – 600 nm.

b. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metode peredaman radikal DPPH

Larutan stok ekstrak 1000 bpj dibuat dengan cara melarutkan sampel sebanyak

5 mg ke dalam metanol hingga mencapai volume 5 mL (1000 bpj). Campuran kemudian dipipet sebanyak 2,5 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol hingga 5 mL (500 bpj). Setelah itu, dilakukan pengenceran untuk menghasilkan konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 bpj.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sebagaimana penelitian sebelumnya dengan sedikit modifikasi.¹⁷ Disiapkan masing-masing konsentrasi sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL DPPH 0,4 mM dan 2 mL metanol. Campuran didiamkan selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi campuran diukur menggunakan instrument spektrofotometer visible pada panjang gelombang 517 nm. Prosedur yang sama dilakukan pada pembanding quercetin dengan seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 bpj.

c. Analisis data

Nilai absorbansi (Abs) DPPH dan ekstrak yang diperoleh kemudian digunakan dalam perhitungan % inhibisi dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs DPPH} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs DPPH}} \times 100 \%$$

Setelah diperoleh % inhibisi, kemudian dibuat persamaan regresi linier dengan memplotkan data % inhibisi dan konsentrasi.

Persamaan regresi linier yang diperoleh kemudian digunakan dalam perhitungan IC_{50} .

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

2.3.5. Penetapan kadar karotenoid total

a. Pembuatan larutan stok β -karoten

Larutan stok β -karoten dibuat dengan cara menimbang 10 mg β -karoten baku dan dilarutkan dengan kloroform hingga mencapai volume 10 mL (1000 bpj).

b. Pembuatan kurva baku β -karoten

Larutan stok β -karoten 1000 bpj yang telah dibuat sebelumnya kemudian diencerkan dengan kloroform dalam labu ukur 10 mL untuk memperoleh konsentrasi 100 bpj. Dari larutan stok 100 bpj dibuat seri konsentrasi larutan baku dengan konsentrasi

2, 3, 4, 5, dan 6 bpj, masing-masing larutan baku tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 462 nm menggunakan spektrofotometer visible. Data yang diperoleh berupa absorbansi kemudian dibuat persamaan regresi linear.

c. Penentuan panjang gelombang maksimum β -karoten

Deret konsentrasi larutan baku β -karoten yang telah dibuat kemudian diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 350-800 nm untuk menentukan Panjang gelombang maximum dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Visible.

d. Penetapan kadar karotenoid total

Ditimbang 10 mg ekstrak cangkang udang putih, kemudian dilarutkan dengan kloroform hingga mencapai volume 10 mL (1000 bpj). Dipipet 5 mL larutan 1000 bpj tersebut kemudian diencerkan dengan kloroform hingga 10 mL (500 bpj), faktor pengenceran/fp = 2x. Pengukuran absorbansi larutan sampel dilakukan pada panjang gelombang 462 nm dengan menggunakan instrument spektrofotometer visible (Pengujian dilakukan replikasi 3 kali).

e. Analisis data

Absorbansi sampel yang diperoleh kemudian diplotkan kedalam persamaan regresi linier dari standar β -karoten untuk menghasilkan konsentrasi awal. Selanjutnya, dilakukan perhitungan kadar β -karoten dengan rumus:

$$\text{Kadar} = \frac{[] \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{vol. ekstrak (mL)} \times \text{fp}}{\text{Berat ekstrak (g)}}$$

Keterangan:

[] = Konsentrasi awal

fp = Faktor pengenceran

3. Hasil dan Pembahasan

Salah satu komoditas perairan yang paling utama adalah udang. Udang diklasifikasikan ke dalam filum *Arthropoda*, subfilum *Crustaceae*, kelas *Malacostraca* dan ordo *Decapoda*.¹⁸

Proses pengolahan udang akan menghasilkan limbah yang pada umumnya berupa kepala dan *exoskeletons*. Limbah udang yang dihasilkan berkisar antara 40-60% dari berat udang, dengan demikian jumlah bagian yang terbuang cukup tinggi dan membutuhkan biaya tambahan untuk penanganannya.¹⁹

Volume produksi udang di Indonesia pada rentan tahun 2017-2022 mengalami fluktuasi dan mencapai 1,09 juta ton pada tahun 2022. Dengan peningkatan volume produksi udang ini diiringi dengan peningkatan jumlah udang yang diekspor yang mencapai 2,16 milyar dollar AS pada tahun 2022.²⁰ Hal ini tentunya berbading lurus dengan limbah pemrosesan udang yang meningkat termasuk limbah cangkang udang. Dengan demikian eksplorasi pemanfaatan cangkang udang sangat dibutuhkan agar dapat mengubah limbah industri menjadi produk yang bermanfaat. Salah satu pemanfaatan limbah cangkang adalah dengan menarik komponen kimia penting seperti glucosamine.^{9,10} Selain itu Fawwaz et al., juga telah melakukan analisis komponen karotenoid total dan aktivitas antioksidan pada cangkang udang windu (*Penaeus monodon*).¹⁷

Penelusuran aktivitas antioksidan cangkang udang putih *L. vannamei* dilakukan dengan dua metode yakni metode FRAP dan DPPH. Kedua metode ini menggunakan spektrofotometer UV-Visible dalam proses analisisnya.

Evaluasi dengan metode FRAP bertujuan untuk menentukan potensi antioksidan ekstrak yang didasarkan pada kemampuannya dalam mereduksi ion ferri (Fe^{3+}) menjadi ion ferro (Fe^{2+}) pada pH rendah. Proses reduksi ini membentuk kompleks berwarna biru sebagai penanda akan adanya aktivitas antioksidan pada sampel uji.

Dalam pengujian metode FRAP digunakan pembanding standar quercetin sebagai senyawa flavonoid yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Gambar 1 menunjukkan absorbansi seri konsentrasi senyawa quercetin yang kemudian digunakan untuk membuat persamaan regresi linier, $y = a + bx$. Hasil *plotting* absorbansi sampel (y) kedalam persamaan regresi linier diperoleh kapasitas antioksidan ekstrak cangkang udang putih *L. vannamei* sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 1 yang dinyatakan dalam mgQE/g ekstrak.

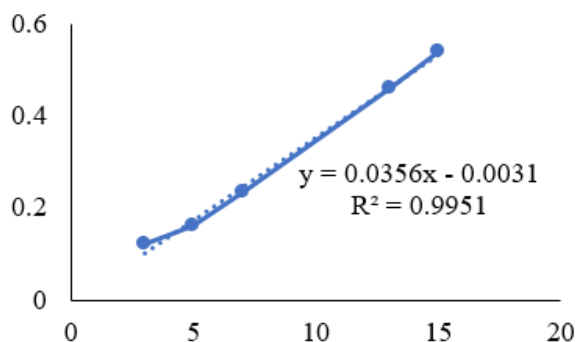
Pada pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH diperoleh IC_{50} 27,59 $\mu\text{g/mL}$ dari hasil *plotting* persamaan regresi linier pada Gambar 2. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak cangkang udang putih *L. vannamei* memiliki kemampuan peredaman radikal bebas yang sangat kuat karena memiliki IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan suatu sampel dikategorikan berdasarkan besaran IC_{50} sebagai berikut: sangat kuat (<50), kuat (50 – 100), sedang (100 – 150), dan lemah (151 – 200).²¹ Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan aktivitas antioksidan dinilai dari semakin kecilnya nilai IC_{50} . Kemampuan penangkalan radikal bebas oleh karotenoid terjadi melalui pendonoran elektron oleh karotenoid terhadap radikal bebas sehingga radikal yang kekurangan elektron menjadi stabil.¹⁵

Karotenoid menyuplai 70% kebutuhan manusia akan vitamin A, sehingga kelompok ini merupakan kelompok pigmen alami yang sangat penting. Khususnya β -karoten yang merupakan karotenoid dengan aktivitas sebagai pro-vitamin A yang tinggi dan juga berperan sebagai antioksidan.

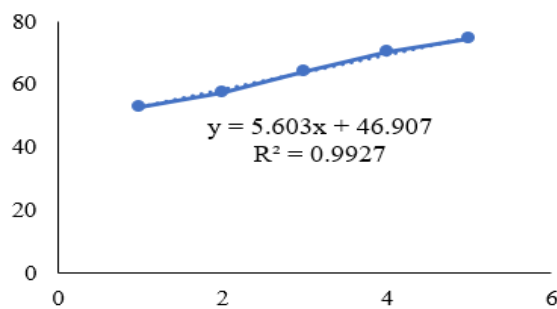
Proses ekstraksi cangkang udang putih *L. vannamei* menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cangkang Udang Putih

Replikasi	Berat Ekstrak (g)	Absorbansi (y)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel Sesungguhnya	Aktivitas Antioksidan (mgQE/g)	Rata-rata (mgQE/g)
1	0,042	0,238	0,008	0,230	1,578	1,648
2	0,042	0,262	0,006	0,256	1,747	
3	0,042	0,243	0,006	0,237	1,619	



Gambar 1. Persamaan Regresi Linier Standar Quercetin.



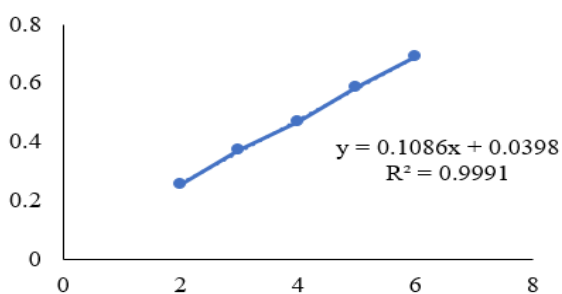
Gambar 2. Persamaan Regresi Linier % Inhibisi Standar Quercetin.

organik n-heksan sebagai cairan penyari karena kemampuannya dalam mengekstraksi senyawa-senyawa karotenoid dengan maksimal.¹⁷

Berdasarkan hasil penetapan kadar karotenoid total dengan menggunakan perhitungan regresi linier (Gambar 3) dapat disimpulkan bahwa ekstrak cangkang udang putih *L. vannamei* memiliki kadar karotenoid total sebesar 5,865 mg/g yang setara dengan kadar β -karoten sebagaimana ditampilkan pada Tabel 2. Adapun hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstraksi karotenoid dari cangkang udang *Parapenaeopsis stylifera* secara enzimatis menggunakan enzim papain diperoleh kadar β -karoten sebesar $114 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$.²²

4. Kesimpulan

Evaluasi potensi antioksidan dan penentuan kadar karotenoid pada ekstrak cangkang udang putih *L. vannamei* telah dilakukan dan dapat disimpulkan bahwa ekstrak cangkang udang putih memiliki potensi yang tinggi sebagai sumber antioksidan dan mengandung senyawa karotenoid yang memadai.



Gambar 3. Persamaan Regresi Linier Standar β -karoten.

Daftar Pustaka

1. FAO. Globefish Highlights January 2020 Issue, with Jan. – Sep. 2019 Statistics – A quarterly update on world seafood markets. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of United Nations; 2020.
2. Nirmal NP, Santivarangkna C, Rajput MS, Benjakul S. Trends in shrimp processing waste utilization: An industrial prospective. Trends in Food Science & Technology. 2020;103:20-35. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.001>.
3. Deng J-J, Zhang M-S, Li Z-W, Lu D-L, Mao H-H, Zhu M-J, et al. One-step processing of shrimp shell waste with a chitinase fused to a carbohydrate-binding module. Green Chemistry. 2020;22(20):6862-73. doi: <https://doi.org/10.1039/d0gc02611e>.
4. Hu X, Tian Z, Li X, Wang S, Pei H, Sun H, et al. Green, Simple, and Effective Process for the Comprehensive Utilization of Shrimp Shell Waste. ACS Omega. 2020;5(30):19227-35. Epub 2020/08/11. doi: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02705>. PubMed PMID: 32775926; PubMed Central PMCID: 32775926.

Tabel 2. Kadar Karotenoid Total Ekstrak Cangkang Udang Putih.

Berat Ekstrak (g)	Absorban (462 nm)	Kadar (mg/g)	Rata-rata (mg/g)
0,010	0,367	5,998	5,865
0,010	0,364	5,884	
0,010	0,373	5,714	

- PMC7409256.
5. Rengga WDP, Mubarak MA, Cahyarini NS. Utilization of Shrimp Shell Waste as Matrix Controller by Using Iontropic Gelation Method in Slow Release Fertilizer Based on Environmental Conservation. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2018;171:012036. doi: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/171/1/012036>
 6. Okabe Y, Inoue Y, Kanda Y, Katsumata T. Odor-active compounds contributing to the characteristic aroma of shrimp cooked whole, including shells and viscera. European Food Research and Technology. 2019;245(1):233-41. doi: <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3156-7>
 7. Saleh A, Mukhtar A, Fawwaz M, Pratama M, Kosman R, Naid T. Deacetylation degree of chitosan by various bases and its metal adsorption ability related on antioxidant activity. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2015;7(11):265-9.
 8. Suryawanshi N, Jujjavarapu SE, Ayothiraman S. Marine shell industrial wastes—an abundant source of chitin and its derivatives: constituents, pretreatment, fermentation, and pleiotropic applications—a revisit. International Journal of Environmental Science and Technology. 2019;16(7):3877-98. doi: <https://doi.org/10.1007/s13762-018-02204-3>
 9. Fawwaz M, Baits M, Saleh A, Rifqi MR, Pratiwi RE. Isolation of glucosamine HCl from *Penaeus monodon*. International Food Research Journal. 2018;25(5):2176-80.
 10. Fawwaz M, Vemilia P, Mutmainnah I, Baits M. *Scylla serrata* Forskal as natural source of glucosamine hydrochloride. Journal of Research in Pharmacy. 2019;23(2):259-66. doi: <https://doi.org/10.12991/jrp.2019.132>
 11. Hu J, Lu W, Lv M, Wang Y, Ding R, Wang L. Extraction and purification of astaxanthin from shrimp shells and the effects of different treatments on its content. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2019;29(1):24-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.11.004>
 12. Maoka T. Carotenoids as natural functional pigments. J Nat Med. 2020;74(1):1-16. doi: <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>
 13. Koyande AK, Chew KW, Rambabu K, Tao Y, Chu D-T, Show P-L. Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. Food Science and Human Wellness. 2019;8(1):16-24. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.03.001>
 14. Novoveska L, Ross ME, Stanley MS, Pradelles R, Wasiolek V, Sassi JF. Microalgal Carotenoids: A Review of Production, Current Markets, Regulations, and Future Direction. Mar Drugs. 2019;17(11). Epub 2019/11/27. doi: <https://doi.org/10.3390/md17110640>
 15. Hegazy GE, Abu-Serie MM, Abo-Elela GM, Ghazlan H, Sabry SA, Soliman NA, et al. In vitro dual (anticancer and antiviral) activity of the carotenoids produced by haloalkaliphilic archaeon *Natrialba* sp. M6. Scientific Reports. 2020;10(1):5986. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62663-y>
 16. Linnewiel-Hermoni K, Khanin M, Danilenko M, Zango G, Amosi Y, Levy J, et al. The anti-cancer effects of carotenoids and other phytonutrients resides in their combined activity. Arch Biochem Biophys. 2015;572:28-35. Epub 2015/02/26. doi: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.02.018>. PubMed PMID: 25711533
 17. Fawwaz M, Pratama M, Hasrawati A, Widiastuti H, Abidin Z. Total Carotenoids, Antioxidant and Anticancer Effect of *Penaeus monodon* Shells Extract. Biointerface Research in Applied Chemistry. 2021;11(4):11293 - 302. doi: <https://doi.org/10.33263/BRIAC114.1129311302>
 18. Said DS, Sadi NH. Beberapa Aspek Biologi Udang Asli Danau Sentani, Papua. LIMNOTEK Perairan darat Tropis di Indonesia. 2018; 25(2): 65–77.
 19. Abuzar, Sharif HR, Sharif MK, Arshad

- R, Rehman A, Ashraf W, Al-Sameen MA. Potential industrial and nutritional applications of shrimp by-products: a review. *International Journal of Food Properties*. 2023; 26(2), 3407–3432. doi: <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2283378>
20. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Indonesia Gandeng ADB Untuk Tingkatkan Produksi Udang Nasional. Jakarta. 2023.
21. Zongo E, Busuioc A, Meda RN-T, Botezatu AV, Mihaila MD, Mocanu A-M, Avramescu SM, Koama BK, Kam SE, Belem H, et al. Exploration of the Antioxidant and Anti-inflammatory Potential of *Cassia sieberiana* DC and *Piliostigma thonningii* (Schumach.) Milne-Redh, Traditionally Used in the Treatment of Hepatitis in the Hauts-Bassins Region of Burkina Faso. *Pharmaceuticals*. 2023; 16(1):133. doi: <https://doi.org/10.3390/ph16010133>
22. Pattanaik SS, Sawant PB, Xavier KAM, Dube K, Srivastava PP, Dhanabalan V, Chadha NK. Characterization of carotenoprotein from different shrimp shell waste for possible use as supplementary nutritive feed ingredient in animal diets. *Aquaculture*. 2020; 515: 734594. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734594>