



<p>E-ISSN: 2579-4523</p>  <p>JITIPARI</p>	<p>JURNAL TEKNOLOGI DAN INDUSTRI PANGAN UNISRI</p> <p>http://ejurnal.unisri.ac.id/index.php/jtpr/index Terakreditasi sinta 4 sesuai dengan SK No. 200/M/KPT/2020 tanggal 23 Desember 2020 https://sinta.ristekbrin.go.id/journals/detail?id=7556</p>	
---	--	---

Physicochemical Characterization of *Simplicia Sambiloto* (*Andrographis paniculata*) Powder with Types and Concentrations of Reagents in the Formation of Zn-Chlorophyll Complexes

Karakterisasi Fisikokimia Bubuk Simplicia Sambiloto (Andrographis Paniculata) dengan Jenis dan Konsentrasi Reagen Dalam Pembentukan Kompleks Zn-Klorofil

M Rifqi Aziz¹, Chatarina Lilis Suryani², Ichlasia Ainul Fitri^{3*}

^{1,2,3}Prodi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta

*Corresponding author: ichlasia@mercubuana-yogya.ac.id

Article info

Keywords:
Sambiloto simplicia powder, heating, ZnCl₂, Zn acetate, oven

Kata kunci: Bubuk simplisia sambiloto, pemanasan, ZnCl₂, Zn asetat, oven

Abstract

During the process of making *sambiloto simplicia* which involves heat, it can cause degradation of chlorophyll. Increasing the stability of chlorophyll can be done by forming Zn-chlorophyll complexes with metals which are able to form complexes where more stable than Mg such as by using Zn. The aim of this research is to determine how the physical and chemical characteristics of the bitter *simplicia* powder produced are influenced by the type of reagent and the concentration of the reagent when heated in an oven. *Simplicia* bitter powder is made through a sorting, grinding and sieving process. Next, the zinc chloride and zinc acetate reagents were mixed with concentrations of 0, 200, 300, 400, and 500 ppm, and then dried. The results showed a real effect (p value <0.05) of the interaction between the types of ZnCl₂ and Zn acetate reagents and the reagent concentration on color intensity, color stability, water content, ash content and chlorophyll content. The higher the concentration of ZnCl₂ and Zn acetate, the higher the water content, ash content, chlorophyll content, L*, and -a*, while b* and ΔE decrease. At a concentration of 500 ppm ZnCl₂ showed an increase in water, ash, chlorophyll, ΔE, L*, and a* content while b* decreased. Meanwhile, Zn acetate 500 ppm moisture content, ash content, chlorophyll content, L*, and ΔE decreased, while a* and b* increased. *Sambiloto simplicia* powder which has the highest chlorophyll content is Zn acetate 400 ppm, with characteristics of water content 6.81% ww, ash content 15.74% ww, total chlorophyll 397.97 mg/100 g ww, green color intensity (-a) -2.93, and ΔE 5.48.

Abstrak

Selama proses pembuatan *simplisia sambiloto* yang melibatkan panas dapat mengakibatkan degradasi klorofil sehingga dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Peningkatan stabilitas klorofil dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks Zn-klorofil dengan logam yang mampu membentuk kompleks yang lebih stabil dibanding Mg seperti Zn. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana karakteristik fisik dan kimia bubuk *simplisia sambiloto* yang dihasilkan dipengaruhi oleh jenis reagen dan konsentrasi reagen saat dipanaskan dalam oven. Bubuk *simplisia sambiloto* dibuat melalui proses sortasi, penggilingan, dan pengayakan. Selanjutnya, reagen zinc chloride dan zinc asetat dicampur dengan konsentrasi 0, 200, 300, 400, dan 500 ppm, dan kemudian dikeringkan. Hasil penelitian menunjukkan pengaruh nyata (p value <0.05) dari interaksi antara jenis reagen ZnCl₂ dan Zn asetat dan konsentrasi reagen terhadap intensitas warna, stabilitas warna, kadar air, kadar abu, dan kadar klorofil. Semakin tinggi konsentrasi ZnCl₂ dan Zn asetat, semakin tinggi kadar air, kadar abu, kadar klorofil, L*, dan -a*, sedangkan b* dan ΔE menurun. Pada konsentrasi 500 ppm ZnCl₂ menunjukkan peningkatan kadar air, abu, klorofil, ΔE, L*, dan a* sementara b* mengalami penurunan. Sedangkan Zn asetat 500 ppm memiliki kadar air, kadar abu, kadar klorofil, L*, dan ΔE semakin menurun, sedangkan a* dan b* semakin meningkat. Bubuk *simplisia sambiloto* yang mempunyai kadar klorofil tertinggi adalah Zn asetat 400 ppm, dengan karakteristik kadar air 6,81% (bb), kadar abu 15,74% (bk), klorofil total 397,97 mg/100 g (bk), intensitas warna hijau (-a) -2,93, dan ΔE 5,48.

PENDAHULUAN

Perubahan pola makan masyarakat yang lebih banyak mengandung lemak dan kalori serta pertumbuhan industri meningkatkan paparan radikal bebas dalam tubuh. Asap kendaraan, asap rokok, dan paparan sinar matahari yang berlebihan juga termasuk sumber radikal bebas. Radikal bebas menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif seperti neurodegeneratif, diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, penuaan dini, bahkan kanker. (Phaniendra et al., 2015).

Peningkatan asupan antioksidan dari luar dapat membantu mencegah akumulasi radikal bebas dengan menetralkan, mengurangi, dan mencegah pembentukan radikal bebas baru di dalam tubuh. Simplisia daun atau rempah-rempah, yang banyak mengandung fenolik dan flavonoid seperti sambiloto merupakan salah satu sumber antioksidan alami. Sambiloto memiliki beberapa manfaat antara lain tanaman obat yang memiliki khasiat antidiabetes, antidiare, antibakteri dan antiinflamasi, karena kandungan utama sambiloto adalah terpenoid dan flavonoid (Dalimunthe, 2009).

Sambiloto biasanya digunakan dalam bentuk simplisia yang melewati berbagai proses seperti, sortasi, pencucian, pemotongan, atau penghancuran, dan pengeringan sebelum digunakan. Selama pembuatan kemungkinan terjadi kerusakan sehingga komponen klorofil dapat berkurang. Selama proses pembuatan simplisia mengakibatkan terdegradasinya senyawa klorofil pada sambiloto. Klorofil yang merupakan pigmen utama warna hijau pada tumbuhan mempunyai struktur yang mirip dengan haemoglobin (pigmen pada darah manusia), dimana atom sentral Fe^{2+} pada haemoglobin berganti menjadi Mg^{2+}

pada klorofil (Ernaini et al., 2012). Adanya enzim magnesium dechelatase dan enzim chlorophyllase menyebabkan mekanisme reaksi degradasi klorofil pada tumbuhan. Enzim-enzim ini akan mengkatalisis hidrolisis ikatan ester antara residu asam propionat pada cincin makrosiklik dengan fitol pada klorofil, sehingga menyebabkan hilangnya ion Mg^{2+} (Aryanti et al., 2016).

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan stabilitas klorofil yaitu pembentukan kompleks antara klorofil dengan logam, misalnya dengan logam Zn. Logam Zn dan Cu diketahui mampu membentuk kompleks yang lebih kuat dibandingkan Mg^{+} berdasarkan tingkat kestabilan kompleks yang terbentuk. kompleks Zn-klorofil lebih banyak dipilih dibandingkan kompleks Cu-klorofil yang lebih mudah terbentuk. Hal ini disebabkan oleh sifat ion Cu yang bersifat toksik (Humphrey 2004). Nurusholah et al. (2014) menyatakan bahwa konsentrasi Zn, konsentrasi pigmen, dan pH adalah beberapa faktor yang memengaruhi pembentukan senyawa kompleks. Sebaliknya, Canjura et al. (1999) menyatakan bahwa konsentrasi Zn yang digunakan menentukan pengikatan kadar Zn dalam jaringan selama pembentukan senyawa kompleks. Secara umum, semakin tinggi konsentrasi reagen pembentuk senyawa kompleks Zn-klorofil, semakin banyak senyawa kompleks yang dibentuk, dan lebih hijau warna buah atau daunnya. Namun, pembentukan kompleks Zn-klorofil dibatasi oleh jumlah klorofil dalam bahan (Bohn et al., 2004), sehingga perlu dilakukan penelitian konsentrasi yang tepat.

Selain dipengaruhi oleh jenis logam, pembentukan kompleks klorofil juga dipengaruhi oleh jenis reagen sumber Zn

misalnya garam $ZnCl_2$ dan Zn asetat. $ZnCl_2$ merupakan garam anorganik dari asam kuat dan garam Zn asetat merupakan garam organik dari asam lemah, sehingga keduanya mempunyai reaktivitas yang berbeda. Selain itu residu Cl_2 dan asetat juga akan mempengaruhi stabilitas klorofil. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pembentukan kompleks klorofil dengan ion Zn^{2+} dapat mempertahankan aktivitas antioksidan klorofil daun pandan (Suryani et al., 2020). Menurut Rachmawati dan Ramdanawati (2020) konsentrasi $ZnCl_2$ sebesar 3% dapat menjaga stabilitas warna klorofil. Udiarta et. al. (2015), menyatakan bahwa penambahan $ZnCl_2$ menyebabkan laju degradasi yang lebih kecil dari $MgCO_3$. Menurut Nurusholah (2014) stabilitas ekstrak kasar pigmen klorofil rumput laut *Sargassum* sp. dipengaruhi oleh lama penyimpanan dan penambahan perbedaan konsentrasi $ZnCl_2$. Rohmat et. al. (2014), menyatakan bahwa pemberian panas akan mempengaruhi terjadinya penurunan klorofil, mekanismenya dengan mengubah warna hijau pucat dari pheophytin menjadi warna kecoklatan. Penggunaan blanching suhu $100^\circ C$ memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap total klorofil ekstrak daun suji (Putri, 2012).

Penelitian sebelumnya menggunakan jenis reagen dan pemanasan dengan blanching, namun sangat banyak klorofil yang terlarut dalam media, sehingga kemampuan mengikat Zn-klorofil terbatas. Maka dari itu, perlu dilakukan evaluasi pengaruh jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks metaloklorofil dalam simplisia sambiloto agar diperoleh bubuk simplisia sambiloto yang kaya klorofil.

METODE PENELITIAN

Alat

Dalam penelitian ini peralatan yang digunakan meliputi tabung reaksi (pyrex iwaki), labu ukur (pyrex), colorimetri NH 300, Spektrofotometer UV Vis, Vortex (tipe 37600 mixer), ayakan, dan cabinet dryer.

Bahan

Dalam penelitian ini bahan yang digunakan yaitu simplisia sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu. Pelarut dan bahan kimia yang digunakan $ZnCl_2$ (Merck), Zn asetat (Merck), *aquadest*, kertas saring (*withaman* no 42), dan *aseton* (Merck). Bahan-bahan ini didapat dari Chem-Mix Pratama Sapen.

Metode

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa langkah yaitu :

1. Perlakuan pendahuluan

Simplisia sambiloto disortasi dengan membuang tangkai daun yang keras dan kotoran. Selanjutnya dilakukan penggilingan dengan blender kering selama 1 menit, kemudian bubuk simplisia diayak, bahan yang tidak lolos ayakan 60 mesh digiling kembali, hasil ayakan yang kedua dan ketiga dicampur dan ditimbang 50 g untuk setiap unit perlakuan.

2. Perlakuan pembentukan metaloklorofil Zn-klorofil

Tahap selanjutnya adalah proses pencampuran bubuk simplisia dengan konsentrasi reagen 0, 200, 300, 400 dan 500 ppm. Perbandingan antara bahan dengan reagen adalah 50:15 (b/v). Untuk menjamin homogenitas, pencampuran dilakukan dengan *di-spray* sambil dilakukan pengadukan hingga merata. Hasil campuran kemudian dipanaskan dalam dengan oven selama 10 menit pada suhu $110^\circ C$. Proses pemanasan dilakukan untuk

meningkatkan efektivitas pembentukan kompleks metaloklorofil. Proses selanjutnya dikeringkan Kembali pada suhu 50°C selama 3 jam menggunakan *cabinet dryer*. Bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan disimpan pada platik kedap udara dengan dibungkus dengan *aluminium foil* sebelum dianalisis.

3. Analisis penelitian

Pada penelitian ini dilakukan analisis fisik dan kimia. Analisis fisik yaitu pengujian stabilitas warna (Permatasari & Afifah, 2020), dan analisis kimia yaitu pengujian kadar air metode AOAC, kadar abu metode AOAC, dan kadar klorofil dengan metode Vernon.

Pengujian kadar air dilakukan dengan metode AOAC (2012). Cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama \pm 3 jam. Cawan ditimbang sebagai bobot kosong, sampel ditimbang sebanyak 1g kemudian dimasukkan dalam oven dengan suhu 100°C selama \pm 3 jam. Cawan kemudian ditimbang. Jika belum diperoleh berat konstan, maka dilakukan 3 kali pemanasan hingga diperoleh berat konstan.

Stabilitas warna Ngamwonglumlert et. al. (2017), dengan parameter warna bubuk yang diukur adalah intensitas warna L, a, b dengan alat *colorimeter*. Bubuk simplisia ditimbang sebanyak 2 g dalam *petri dist* diratakan, kemudian dipanaskan pada inkubator pada suhu 50 °C selama 24 jam. Kemudian bubuk simplisia diukur kembali tingkat stabilitas warna.

4. Rancangan percobaan dan analisis data

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah jenis reagen ZnCl₂ dan Zn Asetat. Faktor kedua adalah konsentrasi reagen ZnCl₂ dan Zn Asetat (0, 200, 300, 400, dan 500 Ppm). Data yang diperoleh dianalisis dengan bantuan *software* SPSS dan jika terdapat pengaruh

yang nyata ($P < 0,05$) dilanjutkan dengan uji DMRT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya jumlah kandungan air dalam suatu bahan pangan. Nilai aktivitas air yang tinggi atau rendah memengaruhi kualitas dan waktu penyimpanan bahan pangan. Semakin rendah nilai aktivitas air, semakin lama daya simpan bahan pangan (Wilandika & Vita, 2017). Kadar air bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 1. Dari hasil uji statistik kadar air menunjukkan bahwa interaksi antara jenis dan konsentrasi reagen berpengaruh nyata terhadap kadar air bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan ($P < 0,05$).

Berdasarkan pada Tabel 1 diketahui bahwa kadar air bubuk simplisia sambiloto berkisaran antara 6,23 % (b/b) – 7,46 % (b/b). Kadar air tertinggi reagen Zn asetat 300 ppm sebesar 7,45% (b/b), sedangkan kadar air terendah diperoleh dari Zn asetat 500 ppm sebesar 6,23% (b/b). Kadar air bubuk simplisia sambiloto meningkat seiring dengan peningkatan jumlah konsentrasi, tetapi pada Zn asetat kadar air menurun kembali pada konsentrasi 500 ppm.

Rendahnya kadar air bubuk simplisia sambiloto menunjukkan bahwa kandungan air terikat yang terdapat dalam bahan telah menguap selama proses pemanasan. Hal ini menunjukkan bahwa jenis dan konsentrasi reagen yang bervariasi berpengaruh terhadap kadar air bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan. Kadar air reagen Zn asetat yang dihasilkan lebih rendah daripada reagen ZnCl₂. Hal ini karena pada bubuk simplisia sambiloto dengan proses pemanasan oven

menggunakan udara panas sehingga sampel tidak mengalami rehidrasi uap air. Menurut hasil penelitian Az-Zahra (2022), menyatakan bahwa kadar air bubuk simplisia sambiloto dengan reagen $ZnCl_2$ yang dihasilkan lebih rendah dari pada Zn asetat dengan perlakuan autoklaf. Pada proses pemanasan dengan autoklaf menggunakan uap bertekanan sehingga bubuk simplisia sambiloto mengalami rehidrasi uap air, hal ini dapat meningkatkan kadar air dalam bubuk simplisia sambiloto pada perlakuan pemanasan dengan menggunakan autoklaf (Putra, 2022).

Penambahan reagen pada bubuk simplisia menyebabkan meningkatnya kadar air. Semakin banyak bahan pengisi yang ditambahkan, semakin tinggi total padatan bahan yang dikeringkan sehingga akan berpengaruh pada kadar air (Fatin, 2017). Pital et al. (2021), menyatakan bahwa $ZnCl_2$ dan Zn asetat mudah larut dalam air tanpa meninggalkan residu. Pada

$ZnCl_2$ 500 ppm kadar air meningkat kembali, hal ini diduga pada konsentrasi tinggi sisa reagen akan menghidrolisis komponen lain pada bubuk simplisia sambiloto seperti serat (soluble fiber). Serat larut dalam larutan zink klorida berasid hidroklorik (Melwita & Kurniadi, 2014). Adanya serat (polisakarida) dalam bahan juga memengaruhi proses penyerapan air. Ini karena banyaknya gugus hidroksil bebas yang bersifat polar di dalam serat (Usman et al., 2022). Komponen pada simplisia sambiloto banyak mengandung gugus hidrofilik yang bersifat polar yang mampu mengikat molekul air. Pada saat proses pengeringan dengan pemanasan yang lama menyebabkan terjadinya pelunakan jaringan akibat adanya penyerapan air yang menyebabkan terjadinya peningkatan kadar air suatu bahan (Dewanto et al., 2002). Tabel 1. Kadar air bubuk simplisia sambiloto (%bk) pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kadar air bubuk simplisia sambiloto (%bk) pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil.

Jenis reagen	Konsentrasi (ppm)				
	0	200	300	400	500
$ZnCl_2$	6,46±0,09 ^{ab}	6,96±0,87 ^{bcd}	6,85±0,12 ^{bcd}	6,63±0,52 ^{abc}	7,17±0,11 ^{de}
Zn Asetat	6,46±0,09 ^{ab}	7,04±0,33 ^{cde}	7,45±0,39 ^e	6,81±0,53 ^{bcd}	6,23±0,04 ^a

Keterangan: Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan, Nilai mean ± standar deviasi pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-e) menunjukkan perbedaan yang signifikan (P < 0,05)

2. Kadar Abu

Kadar abu adalah zat organik sisa pembakaran suatu bahan organik. Kadar abu erat kaitannya dengan kandungan mineral yang terdapat dalam bahan, kemurnian dan tingkat kebersihan suatu bahan yang dihasilkan (Atmawikarta, 2009). Kadar abu bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 2. Dari hasil uji statistik kadar

abu menunjukkan bahwa interaksi antara jenis dan konsentrasi reagen berpengaruh nyata terhadap kadar abu bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan (P < 0,05). Tabel 2. Kadar abu bubuk simplisia sambiloto (%bk) pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil dapat dilihat pada tabel berikut.

Berdasarkan pada Tabel 2 diketahui bahwa kadar abu bubuk simplisia sambiloto

meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi reagen, sedangkan pada Zn asetat kadar abu menurun kembali pada konsentrasi 500 ppm. kadar abu bubuk simplisia sambilanoto berkisaran antara 15,34

% (bk) – 15,74 % (bk). Kadar abu tertinggi reagen Zn asetat 400 ppm sebesar 15,74 % (bk) dan kadar abu terendah reagen pada perlakuan kontrol ZnCl₂ dan Zn asetat 0 ppm sebesar 15,34 % (bk).

Tabel 2. Kadar abu bubuk simplisia sambilanoto (%bk) pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil

Jenis reagen	Konsentrasi (ppm)				
	0	200	300	400	500
ZnCl ₂	15,34±0,13 ^a	15,51±0,12 ^{abc}	15,59±0,20 ^{abc}	15,48±0,14 ^{abc}	15,65±0,23 ^{bc}
Zn asetat	15,34±0,13 ^a	15,38±0,32 ^{ab}	15,64±0,31 ^{bc}	15,74±0,29 ^c	15,51±0,10 ^{abc}

Keterangan: Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan, Nilai mean ± standar deviasi pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-c) menunjukkan perbedaan yang signifikan (P < 0,05)

Semakin tinggi konsentrasi reagen yang digunakan, semakin banyak kompleks klorofil Zn yang terbentuk. Akibatnya, ion logam yang terikat semakin banyak dan kadar abu yang terdeteksi semakin tinggi. Pada jenis reagen ZnCl₂ dan Zn Asetat tidak memberikan beda nyata pada kadar abu. Sehingga kadar abu bubuk simplisia sambilanoto tidak memenuhi syarat (Depkes RI, 2000) yang menyatakan bahwa kadar abu simplisi tidak lebih dari 14,0%. Tingginya

kadar abu menunjukkan tingginya kandungan mineral dalam bubuk simplisia sambilanoto. Jenis bahan, metode pengabuan, waktu, dan suhu yang digunakan memengaruhi kadar abu. Selain itu, proporsi kadar abu dalam suatu bahan pangan dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor, termasuk spesies, kondisi unsur hara tanah, kondisi kematangan tanaman, iklim, daerah tempat tumbuh, dan perlakuan penanaman (Saadilah, 2018).

3. Kadar klorofil

Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang banyak terdapat pada daun. Salah satu tumbuhan yang mengandung klorofil

yaitu sambilanoto. Pada penelitian ini dilakukan analisis kadar klorofil total. Nilai kadar klorofil dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar klorofil

Jenis Reagen	Konsentrasi Reagen (ppm)				
	0	200	300	400	500
ZnCl ₂	282,22±22,05 ^a	354,12±16,25 ^c	340,58±29,90 ^{bc}	346,92±2,07 ^{bc}	347,88±7,00 ^{bc}
Zn Asetat	282,22±22,05 ^a	390,13±44,37 ^d	323,97±28,75 ^b	397,97±6,46 ^d	350,65±12,85 ^{bc}

Keterangan: Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan, Nilai mean ± standar deviasi pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-d) menunjukkan perbedaan yang signifikan (P < 0,05)

Berdasarkan hasil uji statistik kadar klorofil menunjukkan bahwa interaksi antara jenis dan konsentrasi reagen berpengaruh nyata terhadap kadar klorofil bubuk

simplisia sambilanoto yang dihasilkan (P <0,05). Semakin tinggi konsentrasi reagen, semakin banyak kompleks Zn-klorofil yang terbentuk dan kadar klorofil total dalam

bubuk simplisia sambiloto meningkat. Kadar klorofil tertinggi reagen Zn asetat 400 ppm sebesar 397,97 mg/100 g bk dan kadar klorofil terendah kontrol ZnCl₂ dan Zn asetat 0 ppm sebesar 282,22 mg/100 g bk. Penggunaan jenis reagen Zn asetat menghasilkan kadar klorofil yang lebih tinggi dibandingkan ZnCl₂. Tabel 3. Kadar klorofil total bubuk simplisia sambiloto (mg/100 g bk) pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil.

Klorofil bersifat sangat labil dan mudah terdegradasi oleh beberapa faktor seperti reaksi enzimatik, kondisi asam, dan adanya oksigen (Yilmaz & Gokmen, 2016). Zn asetat dengan 400 ppm yang digunakan dapat membentuk kompleks Zn- klorofil menggantikan ion Mg²⁺ yang hilang, sehingga meningkatkan stabilitas klorofil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Canjura et. al. (1999), bahwa tujuan pengikatan logam oleh klorofil adalah untuk meningkatkan kestabilan klorofil dan mengembalikan warna hijau turunan klorofil (*regreening effect*). ZnCl₂ merupakan garam dari asam kuat, akan membentuk asam yang sangat kuat sehingga semakin tinggi konsentrasi semakin banyak klorofil yang tergradasi, sedangkan larutan Zn asetat dalam air mendekati netral yaitu 6-8 (Suryani, 2021). Selain itu, residu Cl₂ dalam air juga membentuk hipoklorit, yang memiliki kemampuan untuk mengoksidasi klorofil, yang menyebabkan penurunan kadar klorofil (Zvezdanovic et al., 2014 1995).

Reagen ZnCl₂ berfungsi sebagai fiksator yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan stabilitas kandungan klorofil secara keseluruhan. Reaktan ini dapat membentuk senyawa gabungan dengan klorofil menjadi Zn-klorofil, yang meningkatkan stabilitas klorofil. Hal ini

didasarkan pada LaBorde dan von Elbe (1990), menyatakan bahwa berbagai faktor, termasuk konsentrasi seng, konsentrasi pigmen, dan pH, memengaruhi pembentukan senyawa gabungan. Selain itu, ditambahkan oleh Canjura et al. (1999), bahwa penyerapan seng dalam jaringan selama pembentukan senyawa gabungan bergantung pada konsentrasi ion seng yang tersedia. Perlakuan dengan jenis reagen ZnCl₂, Zn asetat dan konsentrasi yang berbeda yang dihasilkan melebihi standar kontrol klorofil total sebesar 282,22 mg/100 g (bk), sehingga dapat membentuk kompleks Zn-klorofil dan meningkatkan stabilitas klorofil bubuk simplisia sambiloto.

4. Tingkat Kecerahan (L*)

Berdasarkan data pada Tabel 4 diketahui bahwa tingkat kecerahan (L) bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan hasil uji statistik bahwa interaksi antara jenis dan konsentrasi reagen berpengaruh nyata terhadap warna L* bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan ($P < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi reagen maka nilai kecerahan bubuk simplisia sambiloto semakin meningkat. Namun pada Zn asetat nilai kecerahan menurun kembali pada konsentrasi 500 ppm. Nilai kecerahan tertinggi ZnCl₂ 500 ppm sebesar 51,06 dan nilai kecerahan terendah ZnCl₂ 200 ppm sebesar 49,60.

Nilai kecerahan bubuk simplisia sambiloto pada ZnCl₂ lebih tinggi dari Zn asetat. Karena penurunan tersebut berkorelasi dengan nilai intensitas warna hijau, yang juga semakin tinggi. Menurut Yuwono (1998), intensitas warna *Lightness* (L) dinyatakan dengan kisaran 0-100 dimana nilai 0 menunjukkan kecenderungan warna hitam atau sangat gelap, sedangkan nilai 100 menunjukkan kecenderungan warna putih atau terang. Sehingga dari hasil

analisis, bahwa warna L^* dengan perlakuan jenis dan konsentrasi reagen cenderung berwarna gelap. Warna L^* sangat berhubungan dengan kadar klorofil bahan. Semakin tinggi kadar klorofil bubuk simplisia sambiloto maka warna cenderung gelap. Pemanasan bubuk simplisia sambiloto juga akan menyebabkan pembentukan pheophytin, yang

menyebabkan warna hijau klorofil menjadi lebih pucat atau pudar. Akibatnya, nilai kecerahan akan meningkat. Rohmat et al., (2014) menyatakan bahwa pemberian panas akan mempengaruhi terjadinya penurunan klorofil, mekanismenya dengan mengubah warna hijau pucat dari *pheophytin* menjadi warna kecoklatan.

Tabel 4. Intensitas warna *Lightness* (L^*) bubuk simplisia sambiloto pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil

Jenis reagen	Konsentrasi (ppm)				
	0	200	300	400	500
ZnCl ₂	49,75±0,17 ^a	49,60±0,39 ^a	50,40±0,87 ^{abc}	50,33±0,98 ^{abc}	51,06±0,01 ^c
Zn Asetat	49,75±0,17 ^a	50,02±0,80 ^{ab}	49,88±0,60 ^a	50,70±0,65 ^b	49,76±0,49 ^a

Keterangan: Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan, Nilai mean ± standar deviasi pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-c) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$)

5. Redness (a^*)

Berdasarkan data pada Tabel 5 stabilitas warna *Redness* (a^*) bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa interaksi antara jenis dan konsentrasi reagen berpengaruh nyata terhadap warna a^* bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan ($P < 0,05$). Nilai a^* menunjukkan besaran yang menunjukkan warna mulai dari hijau

hingga merah. Semakin rendah nilai a^* (negatif) maka warna hijau makin pekat dan semakin tinggi nilai a^* (positif) maka warna merah semakin pekat (Ulyarti & Fortuna, 2016). Intensitas warna *Redness* (a^*) bubuk simplisia sambiloto pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Intensitas warna *Redness* (a^*) bubuk simplisia sambiloto pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil

Jenis reagen	Konsentrasi (ppm)				
	0	200	300	400	500
ZnCl ₂	0,94±0,04 ^f	-2,66±0,09 ^e	-2,84±0,02 ^d	-2,90±0,03 ^{bc}	-2,91±0,02 ^{abc}
Zn Asetat	0,94±0,04 ^f	-2,87±0,01 ^{cd}	-2,91±0,01 ^{abc}	-2,93±0,00 ^{ab}	-2,96±0,01 ^a

Keterangan: Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan, Nilai mean ± standar deviasi pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-f) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$). Nilai a^* menunjukkan besaran yang menunjukkan warna mulai dari hijau hingga merah. Semakin rendah nilai $-a^*$ maka warna hijau makin pekat dan semakin tinggi nilai $+a^*$ maka warna merah semakin peka.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai a^* negatif tertinggi adalah Zn asetat 500 ppm sebesar -2,96 dan nilai a^* negatif terendah adalah perlakuan kontrol Zn asetat

dan ZnCl₂ sebesar 0,94. Nilai warna a^* negatif menunjukkan adanya peningkatan warna hijau akibat perlakuan jenis dan konsentrasi reagen. Reagen Zn asetat lebih

meningkatkan warna a*negatif simplisia sambiloto dibandingkan dengan dengan reagen ZnCl₂. Hal ini karena semakin tinggi konsentrasi menyebabkan Zn asetat menggantikan Mg²⁺ yang hilang akibat proses pengolohan simplisia sambiloto, sehingga kadar klorofil bubuk simplisia sambiloto juga meningkat, nilai klorofil yang meningkat juga akan meningkatkan nilai warna a* negatif pada bubuk simplisia sambiloto.

6. Yellowness (b*)

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa interaksi antara jenis dan konsentrasi reagen berpengaruh nyata pada warna b* bubuk simplisia sambiloto, seperti yang ditunjukkan oleh data pada Tabel 6 (p <0,05). Nilai b* adalah besaran yang menunjukkan warna kuning hingga kebiruan. Semakin tinggi nilai warna b* (positif) maka semakin pekat warna kuning dan semakin rendah nilai b* (negatif) menunjukkan warna biru semakin pekat (Ulyarti & Furtuna, 2016).

Hasil penelitian warna b* bubuk simplisia sambiloto menunjukkan bahwa nilai warna b* turun seiring dengan meningkatnya konsentrasi reagen. Nilai warna b* tertinggi adalah perlakuan kontrol 0 ppm Zn asetat dan ZnCl₂ sebesar 9,00 dan nilai b* terendah adalah Zn asetat 200 ppm sebesar 7,99.

Warna kuning pada bubuk simplisia sambiloto disebabkan oleh pigmen karotenoid. Karotenoid merupakan zat alami yang berasal dari tumbuhan yang memiliki gugus hidroksil yang memiliki kelompok pigmen berwarna orange, merah atau kuning. Karotenoid bersifat stabil pada pH netral dan alkali, tetapi tidak setabil pada kondisi asam, oksigen, cahaya dan panas. Berdasarkan uraian, nilai warna b* bubuk simplisia sambiloto pada Zn asetat tinggi dari ZnCl₂. Hal ini disebabkan oleh ZnCl₂ yang merupakan garam dari asam kuat akan membentuk asam yang sangat kuat, sehingga semakin tinggi konsentrasi semakin menurun warna b*, sedangkan larutan Zn asetat dalam air mendekati netral yaitu 6-8. Residu klorin (Cl₂) akan membentuk hipoklorit yang dapat mengoksidasi karotenoid sehingga menurunkan kadar karotenoid. Pada proses pemanasan menggunakan oven dengan udara panas yang tinggi selama waktu yang lama dapat mengurangi kadar karotenoid, menyebabkan warna kuning bubuk simplisia sambiloto menunjukkan semakin kebiruan. Warna *Yellowness (b*)* bubuk simplisia sambiloto pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Warna *Yellowness (b*)* bubuk simplisia sambiloto pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil.

Jenis reagen	Konsentrasi (ppm)				
	0	200	300	400	500
ZnCl ₂	9,00±0,06 ^f	8,46±0,22 ^{cd}	8,18±0,23 ^{ab}	8,70±0,29 ^d	8,34±0,15 ^{bc}
Zn Asetat	9,00±0,06 ^f	7,99±0,12 ^a	8,53±0,16 ^{cd}	8,69±0,12 ^d	8,50±0,25 ^{cd}

Keterangan: Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan, Nilai mean ± standar deviasi pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-f) menunjukkan perbedaan yang signifikan (P < 0,05).

7. Stabilitas Warna

Stabilitas warna bubuk simplisia sambiloto diukur nilai L*, a* dan b* sebelum dilakukan pemanasan dan sesudah dilakukan pemanasan. Nilai total perubahan warna tersebut merupakan (ΔE). Berdasarkan data pada Tabel 7 hasil nilai total perubahan warna (ΔE) bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan menunjukkan bahwa interaksi antara jenis dan konsentrasi reagen berpengaruh nyata terhadap total perubahan warna (ΔE) bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan ($P < 0,05$). Tabel 7. Nilai (ΔE) bubuk simplisia sambiloto pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil dapat dilihat pada tabel berikut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai Total Perubahan Warna (ΔE) bubuk simplisia sambiloto menurun seiring bertambahnya konsentrasi, tetapi pada

ZnCl₂ dengan konsentrasi 500 ppm mengalami peningkatan sebesar 6,14. Pada ZnCl₂ semakin tinggi konsentrasi cenderung menurun, dengan nilai (ΔE) tertinggi 500 ppm sebesar 6,14 dan nilai (ΔE) terendah 200 ppm sebesar 4,23.

Warna bubuk simplisia sambiloto pada ZnCl₂ dengan konsentrasi 500 ppm cenderung meningkat atau menjadi lebih pekat secara keseluruhan sebagai akibat dari perubahan klorofil menjadi klorofilid seiring dengan peningkatan konsentrasi reagen. Seafast (2012) menyatakan bahwa klorofilid, salah satu produk degradasi klorofil, memiliki warna hijau biru sebelum berubah menjadi senyawa tidak berwarna pada tahap degradasi berikutnya. Menurut Fajar et al. (2014), degradasi klorofil dapat menghasilkan senyawa yang lebih terang (kuning atau tidak berwarna) sebagai hasil dari proses enzimatik dan oksidasi.

Tabel 7. Nilai (ΔE) bubuk simplisia sambiloto pada berbagai jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks Zn-klorofil

Jenis reagen	Konsentrasi (ppm)				
	0	200	300	400	500
ZnCl ₂	5,61±0,26 ^{cd}	4,23±0,17 ^a	4,75±0,82 ^{ab}	5,08±1,03 ^{bc}	6,14±0,35 ^d
Zn Asetat	5,61±0,26 ^{cd}	5,06±0,81 ^{bc}	5,22±0,54 ^{bc}	5,48±0,67 ^{bcd}	4,77±0,51 ^{ab}

Keterangan: Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan, Nilai mean ± standar deviasi pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-d) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Nilai total perubahan warna (ΔE) ialah nilai keseluruhan perubahan warna L*, a* dan b* sebelum dan sesudah dipanaskan. Semakin tinggi nilai ΔE menunjukkan besarnya total perubahan warna pada bubuk simplisia sambiloto, sedangkan semakin kecil nilai ΔE menunjukkan rendahnya perubahan warna pada bubuk simplisia sambiloto

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi jenis reagen, Zn asetat dan

konsentrasi reagen berpengaruh nyata (p value $< 0,05$) terhadap kadar air, kadar abu, kadar klorofil, intensitas warna dan kestabilan warna. Semakin tinggi konsentrasi ZnCl₂ dan Zn asetat maka semakin tinggi pula kadar air, kadar abu, kadar klorofil, L*, dan -a*, sedangkan b* dan ΔE mengalami penurunan. Pada ZnCl₂ 500 ppm menunjukkan kadar air, kadar abu, kadar klorofil, ΔE , L*, dan a* meningkat, sedangkan b* menurun. Sedangkan Zn asetat 500 ppm menyebabkan kadar air, kadar abu, kadar klorofil, L*, dan ΔE

menurun, sedangkan a* dan b* meningkat. Serbuk simplisia sambiloto yang mempunyai kandungan klorofil tertinggi adalah Zn asetat 400 ppm, dengan karakteristik kadar air 6,81% ww, kadar abu 15,74% ww, klorofil total 397,97 mg/100 g ww, intensitas warna hijau (-a) - 2,93, dan ΔE 5.48.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terimakasih untuk pendanaan yang kami dapatkan dari Universitas Mercu Buana Yogyakarta.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC, (2012). *Official methods of analysis of AOAC International, 19th Edition*. Apforgen.
- Aryanti,F., Aininu.N., Fathia M.W. (2016). Ekstraksi dan karakterisasi klorofil dari daun suji (*Pleomele angustifolia*) sebagai pewarna pangan alami. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 5, (4)
- Atmawikarta, A. (2009). *Kampus gizi*. Kompas. Media Nusantara. Jakarta.
- Az-Zahra E.P. (2023). Pengaruh jenis dan konsentrasi reagen pembentuk kompleks metaloklorofil terhadap karakteristik bubuk simplisia sambiloto (*Andrographis paniculata*) dengan perlakuan autoklaf. Skripsi. Universitas Mercu Buana Yogyakarta.
- Canjura, F. L., Watkins R. H., and Schwartz S. J. (1999). Color improvement and metallochlorophyll complexes in continuous flow aseptically processed peas. *Journal Food Science*, 64. 987-990.
- Dalimunthe, A. (2009). Interaksi sambiloto (*Andrographis paniculata*). Departemen Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Delgado-Vargas, Francisco, Paredes-Lopez, Octavio. (2003). *Natural colorants for food and nutraceutical Uses*. USA: CRC Press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1983). *Pemanfaatan tanaman obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1985). *Cara pembuatan simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope herbal Indonesia (Edisi I)*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewanto, V., Wu, X., and Liu, R. H. (2002). Processed sweet corn has higher antoxidat activity. *Jurnal of agricultural and food chemistry*, 50 (17), 4959-4964.
- Ernaini, Y., Agus, S., dan Rinto. (2012). Pengaruh jenis pelarut terhadap klorofil dan senyawa fitokimia daun kiambang (*Salvinia molesta* Mitchell) dari perairan rawa. *Jurnal Fishtech*, 1.1-12.
- Fajar A, I. Ratna, dan N.D. Eko. (2014). Stabilitas Ekstrak Kasar Pigmen Klorofil, Beta karoten, dan Caulerpin Alga Hijau Caulerpa racemosa pada Suhu Penyimpanan yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3 (1). 1-10.
- Humphrey AM. (2004). Chlorophyll as a color and functional ingredient.

- Journal of Food Science*. 69(5): C422-C425.
- LaBorde, L. F. and von Elbe J. H. (1990). Zinc complex formation in heated vegetable purees. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 42. 1100-1103.
- Melwita, E dan Effan, K. (2014). Pengaruh waktu hidrolisis dan konsentrasi H_2SO_4 pada pembuatan asam oksalat dari tongkol jagung . *Jurnal: Teknik Kimia*. 20 (2).
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S. and Chiewchan, N., (2017). Natural colorants: pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57 (15). 3243–3259.
- Nikolaeva, M.K., Maevskaya, S.N., Shugaev, A.G., dan Bukhov, N.G., (2010). Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity. *Russian Journal Plant Physl*. 57: 94-102.
- Nurusholah T, F.M. Widodo, dan I. Ratna. (2014). Pengaruh perbedaan penambahan konsentrasi $ZnCl_2$ dalam ekstrak kasar pigmen klorofil rumput laut sargassum terhadap stabilitasnya. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(1), 89-97.
- Permatasari, N.A & Afifah, Fitri. (2020). Pembuatan dan pengujian stabilitas bubuk pewarna alami dari daun bayam merah (*Alternanthera amoena voss.*). 8 (1), 409-422.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. and Periyasamy, L., (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*, 30 (1), 11-26.
- Putra, D. A. (2023). Pengaruh konsentrasi $ZnCl_2$ dan cara pemanasan dalam pembentukan kompleks metaloklorofil terhadap sifat fisik dan kimia bubuk simplisia sambiloto (*Andrographis paniculata*). Skripsi. Universitas Mercu Buana Yogyakarta.
- Putri, W.D.R., Elok, Z., dan N. Sholahudin. (2012). Ekstraksi pewarna alami daun suji, kajian pengaruh blanching dan jenis bahan pengekstrak. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 4(1) : 13 – 24.
- Rachmawati W., dan Liska R. (2020). Potensi daun singkong sebagai pewarna makanan alami. *Pharmacoscrypt*, 17(1).27-32.
- Rohmat, N., Ibrahim, R., & Riyadi, P. H. (2014). Pengaruh perbedaan suhu dan lama penyimpanan rumput laut sargassum polycystum terhadap stabilitas ekstrak kasar pigmen klorofil. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(1). 118–126.
- Saadilah M., Rostiati R., dan Syahraeni K. (2018). Karakteristik kimia tepung biji kelor (*Moringa oleifera iam.*) dari berbagai ketinggian tempat tumbuh. e-*J.Agrotekbis*. 6 (1). 100 –108.
- Seafast. (2012). *Pewarna Alami Untuk Pangan*; Jakarta.
- Suryani. (2020). Pengaruh variasi jenis pengering terhadap karakter fisik, kimia dan antioksidan tepung pandan wangi. Yogyakarta : UGM.
- Udiarta P., Eko N.D., dan Romadhon. (2015). Pengaruh penambahan $MgCO_3$ dan $ZnCl_2$ terhadap stabilitas kandungan pigmen klorofil pada mikroalga *Spirulina platensis*. *Jurnal Saintek Perikanan*. 10(2). 114-118.
- Usman, Fitri, I, A., Suryani, C, L. (2022). Pengaruh jenis medium sumber Zn^{2+}

- dan lama blanching terhadap aktivitas antioksidan bubuk Simplisia Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Prosiding Seminar Nasional Mini Riset Mahasiswa*. 1(2), 54 – 66.
- Wilandika, L., & Vita, P. (2017). Pengaruh suhu terhadap kadar air dan aktivitas air dalam bahan pada kunyit (*Curcuma longa*) dengan alat pengering electrical oven. *Jurnal Metana*. 13(2). 37-44.
- Yilmaz C, Gokmen V. (2016). *Chlorophyll in encyclopedia of food and health*. Caballero B, Finglas PM, Toldra F. Waltham (US): Academic Press.
- Zvezdanovic, J. B., Petrovic, S. M., Markovic, D. Z., Andjelkovic, T. D., and Andjejkovic, D. H. (2014). Electrospray ionization mass spectrometry combined with ultra high performance liquid chromatography in the analysis of in vitro formation of chlorophyll complexes with copper and zinc. *Journal of Serbian Chemical Society*. 79(6). 689–706.