

Pengaruh Konsentrasi ZnCl₂ dan Metode Pemanasan terhadap Karakteristik Serbuk Simplisia Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Effect of ZnCl₂ Concentration and Heating Method on Characteristics of Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Simplisia Powder

Danis Aprianto Putra, Chatarina Lilis Suryani*, Ichlasia Ainul Fitri

Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta,
Jl. Wates km 10, Yogyakarta 55753, Indonesia

*Penulis korepondensi, Email: chlilis@mercubuana-yogya.ac.id

Submisi: 23-9-2023 Revisi: 30-9-2023 Diterima: 10-10-2023 Dipublikasi: 15-11-2023

ABSTRAK

Proses pemanasan dalam pembuatan simplisia sambiloto mengakibatkan degradasi klorofil. Peningkatan stabilitas klorofil dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks mettaloklorofil dengan logam yang lebih stabil seperti Zn. Keberhasilan pembentukan Zn-klorofil juga dipengaruhi oleh metode pemanasan, diketahui proses blanching mengakibatkan banyak klorofil yang terlarut dalam medium, sehingga dalam penelitian ini digunakan metode pemanasan oven dan autoklaf. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi reagen ZnCl₂ dan metode pemanasan terhadap karakteristik kimia, dan fisik bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan.

Cara pembuatan simplisia sambiloto dilakukan melalui tahapan sortasi, penggilingan, pengayakan, pencampuran dengan ZnCl₂ (0, 200, 300, 400, dan 500 ppm), pemanasan (oven dan autoklaf), dan pengeringan. Bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan dianalisis kadar air, kadar abu, kadar klorofil, warna dan stabilitas warnanya. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor. Data yang diperoleh dianalisis variansi dan jika berpengaruh nyata dilanjutkan dengan DMRT.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi metode pemanasan dan konsentrasi ZnCl₂ berpengaruh nyata terhadap kadar abu, klorofil, intensitas warna hijau, dan stabilitas warna, namun tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air bubuk simplisia sambiloto. Bubuk simplisia sambiloto yang berkadar klorofil tinggi dapat dihasilkan dengan konsentrasi reagen ZnCl₂ 200 ppm dan metode pemanasan dengan autoklaf dan mempunyai kadar klorofil 420.94 mg/100 g bb, kadar air 7.13 % bb, kadar abu 15.41 % bk, dan intensitas warna hijau -2,58.

Kata kunci: Autoklaf, Bubuk simplisia sambiloto, Klorofil, Pemanasan, ZnCl₂

ABSTRACT

The heating process in the preparation of sambiloto simplisia affected chlorophyll degradation. Increasing the stability of chlorophyll can be done by forming a complex of mettalochlorophyll with a more stable metal such as Zn. However, the success of the formation of Zn-chlorophyll is affected by heat. The blanching process results in much chlorophyll dissolved in the medium. In this study, oven heating and autoclaving are used. This study aims to determine the effect of variations in ZnCl₂

reagent concentration and heating methods on the chemical and physical characteristics of the resulting sambiloto simplisia powder.

The method of making simplisia sambiloto is done through sorting, grinding, sieving, mixing with ZnCl₂ (0, 200, 300, 400, and 500 ppm), heating (oven and autoclave), and drying. The sambiloto simplisia powder was analyzed for moisture content, ash content, chlorophyll content, color, and color stability. The design used in this study was a Randomised Group Design (RGD) with two factors. The data obtained were analyzed for variance and, if significantly influenced, continued with DMRT. The results showed that the variation of heating method and ZnCl₂ concentration significantly affected the ash content, chlorophyll, green color intensity, and color stability but had no significant effect on the water content of sambiloto simplisia powder. High chlorophyll powder can be produced with 200 ppm ZnCl₂ reagent concentration and heating method by autoclaving and have a chlorophyll content of 420.94 mg/100 g db, moisture content of 7.13% fw, ash content of 15.41% db, and green color intensity of -2.58.

Keywords: *Autoclaving, Heating, Sambiloto simplisia powder, ZnCl₂*

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya, dan memiliki sifat yang sangat labil dan reaktif. Radikal bebas memiliki peran penting dalam kerusakan jaringan dan proses patologi dalam organisme hidup. Peningkatan kadar radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dapat menyerang senyawa yang mudah teroksidasi, seperti lipid dan protein dan berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit. Salah satu penyebabnya karena oksidan yang masuk ke dalam tubuh tidak mampu diimbangi oleh antioksidan dalam tubuh. (Nanda Pratama & Busman, 2020). Sumber radikal bebas sangat mudah ditemui di sekitar misalnya asap rokok, asap kendaraan bermotor, serta paparan sinar matahari berlebih. Keberadaan radikal bebas yang semakin tinggi dapat meningkatkan risiko penyakit degeneratif dan kerusakan sel seperti kanker.

Aktivitas radikal bebas dapat diminimalisir dan dihentikan dengan senyawa antioksidan (Malo, 2017). Maka diperlukan asupan antioksidan yang berasal dari luar khususnya bahan pangan. Simplisia tanaman sambiloto dapat digunakan sebagai penangkal radikal bebas karena mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Selain itu kandungan klorofil dalam daun juga dapat berperan sebagai antioksidan, Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas bersama dengan karoten dan xantofil. Klorofil juga mampu berfungsi sebagai antioksidan karena klorofil dapat mencegah oksidasi yang berlebihan dalam tubuh. (Widiastuti, 2017).

Simplisia sambiloto sudah umum digunakan oleh masyarakat sebagai jamu atau obat tradisional bisa diseduh langsung atau dikeringkan terlebih dahulu, namun proses pengeringan dengan sinar matahari mengakibatkan klorofil banyak terdegradasi. Dalam proses pengolahan simplisia daun sambiloto melewati berbagai tahapan proses yaitu sortasi, penghancuran, hingga pemanasan sehingga dapat menurunkan kadar klorofil pada daun sambiloto. Terdapat dua jenis

klorofil yang berbeda pada sebagian besar tanaman yaitu klorofil a dan klorofil b. Kemampuan klorofil a sebagai photosensitizer membuat molekul ini cenderung dipengaruhi oleh cahaya, dan suhu sehingga mudah mengalami degradasi. Klorofil b bersifat polar dan mempunyai warna kuning- hijau. Klorofil b lebih tahan panas dibandingkan dengan klorofil a. Selain suhu degradasi klorofil pada jaringan sayuran dipengaruhi oleh pH (Fajar dkk., 2014). Oleh karena itu diperlukan bahan penstabil untuk mempertahankan warna hijau pada sambiloto. Klorofil sangat mudah terdegradasi menjadi feofitin karena hilangnya ion Mg^{2+} pada rantai klorofil (Hermawan dkk., 2010). Salah satu cara untuk meningkatkan stabilitas klorofil adalah dengan menggantikan ion Mg dengan logam lain yang lebih stabil seperti Zn. Menurut Canjura dkk., (1999) dalam Pucci (2010) pengikatan Zn dalam jaringan selama pembentukan senyawa kompleks dipengaruhi oleh konsentrasi Zn yang digunakan. Secara umum semakin tinggi konsentrasi reagen pembentuk senyawa kompleks Zn-klorofil, semakin banyak senyawa kompleks yang terbentuk dan semakin hijau warna buah atau daunnya.

Zn berperan sebagai kofaktor (membantu mempercepat) berbagai kerja enzim yang berkaitan dengan proses pada system kekebalan, indera mata, rasa dan penciuman. Selain itu, Zn juga berperan dalam usaha menghambat virus dan mengurangi risiko kanker, pertumbuhan sel dan sintesa protein. Namun pembentukan kompleks Zn-klorofil dibatasi oleh jumlah klorofil dalam bahan, sehingga perlu diteliti konsentrasi yang tepat. Hal ini karena jika berlebihan juga dapat berefek negatif bagi kesehatan (Nriagu, 2011)

Untuk meningkatkan efektivitas pembentukan kompleks metaloklorofil perlu dilakukan proses pemanasan. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa pembentukan kompleks Zn-klorofil dengan blanching mengakibatkan sebagian klorofil terlarut (Usman dkk., 2022) sehingga dalam penelitian ini akan digunakan metode pemanasan dengan oven dan autoklaf. Pada proses pemanasan dengan oven, suhu dan waktu pemanasan dikendalikan dan media penghantar panas adalah udara kering, sedangkan dengan autoklaf menggunakan uap jenuh dan faktor yang dikendalikan suhu, waktu dan tekanan uap air.

Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang proses pembuatan bubuk simplisia sambiloto dengan pembentukan kompleks Zn-klorofil pada berbagai variasi konsentrasi reagen dari dua jenis metode pemanasan yaitu metode oven dan metode autoklaf pada daun sambiloto kering agar diperoleh bubuk simplisia sambiloto yang mempunyai warna yang lebih stabil.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu. Pelarut dan bahan kimia yang digunakan meliputi $ZnCl_2$ (Merck), aquadest, kertas saring (Whatman no 42), dan aseton (Merck). Bahan-bahan ini didapat dari Laboratorium Kimia Universitas Mercu Buana Yogyakarta.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi (Pyrex Iwaki), rak tabung reaksi, blender (Philips HR2221), timbangan analitik (Analytical Balance OHAUS PIONEER PX224E), sentrifus, labu ukur (Pyrex Iwaki), Colorimeter NH300, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV minil 240), cuvet, vortex (Type 37600 mixer), cabinet dryer, oven, autoklaf, inkubator, cawan petri, batang pengaduk, pipet volume 5 ml (pyrex), propipet, mikropipet 1 ml dan 0,2 ml, pipet tetes, botol timbang, desikator, buret 10 ml (pyrex), kompor listrik, aluminium foil, beaker glass, ayakan 60 mesh, kain saring, Muffle (Furnace 48000) dan krus.

Metode

Tahapan penelitian dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan pembentukan Zn-klorofil.

Perlakuan pendahuluan

Tahapan proses pembuatan simplisia sambiloto adalah sortasi, penggilingan, pengayakan, penimbangan dan pengemasan. Sortasi dilakukan untuk memilih simplisia yang berkualitas baik yaitu daun masih utuh, tidak rusak, dan dipisahkan dari batang dan tangkainya yang keras, daun berwarna hitam dan kuning. Setelah itu digiling dengan blender selama 1 menit kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh. Pengayakan bertujuan untuk menghasilkan bubuk simplisia sambiloto yang seragam selanjutnya bubuk simplisia sambiloto ditimbang sesuai dengan kebutuhan tiap unit perlakuan yaitu masing-masing 50 g.

Perlakuan pembentukan Zn-klorofil

Tahap selanjutnya adalah proses pencampuran bubuk simplisia dengan menggunakan reagen pembentuk kompleks metaloklorofil yaitu $ZnCl_2$ 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 dispray sambil dilakukan pengadukan hingga merata. Hasil campuran kemudian dipanaskan dengan oven selama 10 menit pada suhu $110^{\circ}C$ dan dengan autoklaf pada suhu $110^{\circ}C$ selama 10 menit. Proses pemanasan dilakukan untuk meningkatkan efektivitas pembentukan kompleks metaloklorofil. Proses selanjutnya dikeringkan kembali menggunakan cabinet dryer pada suhu $50^{\circ}C$ selama 3 jam. Bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan disimpan pada plastik kedap udara dengan dibungkus dengan aluminium foil sebelum dianalisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat Kimia

Kadar Air

Penetapan kadar air pada produk simplisia dilakukan untuk memberikan batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan air dalam suatu simplisia. Hal ini karena kadar air dalam sediaan obat tradisional termasuk ekstrak tidak boleh melebihi batas 10% (SNI 01-7084-2005). Data hasil

analisis kadar air bubuk simplisia sambiloto dengan pemanasan oven dan autoklaf dengan variasi konsentrasi reagen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar air bubuk simplisia sambiloto (% bb) pada berbagai metode perlakuan pemanasan dan konsentrasi dalam pembentukan kompleks Zn-klorofil

Metode pemanasan	Konsentrasi ZnCl ₂ (ppm)				
	0	200	300	400	500
Oven	7.49±1.13	6.96±0.87	6.85±0.12	6.63±0.52	6.76±0.46
Autoklaf	7.61±1.25	7.13±0.54	7.26±0.53	7.53±0.24	7.77±0.43

Keterangan: Tidak signifikan ($P > 0,05$)

Kadar air bubuk simplisia sambiloto yang diperoleh tidak lebih dari 10 % sehingga memenuhi syarat untuk kadar air bubuk simplisia sambiloto menurut SNI 01-7084-2005. Kandungan air dalam bahan makanan mempengaruhi daya tahan bahan makanan terhadap serangan mikroba. Kandungan air tersebut dinyatakan dengan *water activity*, yaitu jumlah air bebas yang dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Kelembaban dan kadar air biasanya berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme. (Purnomo, 2004 dalam Hermanto, 2015).

Hasil uji kadar air menunjukkan bahwa interaksi antara variasi konsentrasi penambahan reagen ZnCl₂ dengan perlakuan pemanasan oven ataupun autoklaf tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air simplisia bubuk sambiloto, namun efek perlakuan secara individual menunjukkan bahwa kadar air bubuk simplisia dengan perlakuan oven lebih rendah dibanding dengan perlakuan autoklaf. Hal ini karena pada bubuk simplisia sambiloto dengan proses pemanasan oven menggunakan udara kering sehingga sampel tidak mengalami rehidrasi uap air sedangkan pada proses pemanasan dengan autoklaf menggunakan uap air jenuh sehingga sampel mengalami rehidrasi uap air, hal ini dapat meningkatkan kadar air dalam bubuk simplisia sambiloto pada perlakuan pemanasan dengan menggunakan autoklaf. Reaksi reagen ZnCl₂ dipengaruhi oleh proses pemanasan yang menyebabkan Cl₂ terlepas setelah Zn menjadi ion Zn⁺ dan Cl₂⁻ yang dapat membentuk kompleks metal klorofil yang merupakan oksidator kuat yang dapat mengoksidasi bahan sehingga kemampuan mengikat air menurun (Nababan, 2022).

Kadar Abu

Tujuan pengujian kadar abu adalah untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya bubuk simplisia sambiloto. Penetapan kadar abu dilakukan dengan memanaskan bubuk pada temperatur destruksi senyawa organik dan turunannya dan menguapkan sehingga tinggal unsur mineral dan non organik. Hasil pengujian kadar abu yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar abu bubuk simplisia sambiloto (% bk) pada berbagai metode pemanasan dan konsentrasi dalam pembentukan kompleks Zn-klorofil

Metode pemanasan	Konsentrasi ZnCl ₂ (ppm)				
	0	200	300	400	500
Oven	15.24±0.11a	15.52±0.16ab c	15.28±0.49a b	15.48±0.14abc	15.62±0.26bc d
Autoklaf	15.46±0.19abc	15.41±0.43ab c	15.88±0.03d	15.68±0.03cd	15.76±0.36cd

Keterangan: Pengujian dilakukan dengan dua kali percobaan dan dianalisa dengan tiga kali ulangan. Nilai mean ± standar deviasi diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-d) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Berdasarkan data pada Tabel 3 diketahui bahwa perlakuan metode pemanasan dan konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kadar abu bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan. Kadar abu tertinggi terdapat pada perlakuan metode pemanasan autoklaf dengan konsentrasi 300 ppm hingga 500 ppm dan pada pemanasan oven dengan konsentrasi 500 ppm. Kadar abu terendah terdapat pada perlakuan pemanasan oven dengan konsentrasi 0 ppm hingga 400 ppm dan pada perlakuan pemanasan autoklaf dengan konsentrasi 0 ppm dan 200 ppm. Dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi reagen ZnCl₂ yang ditambahkan semakin besar kadar abu yang diperoleh. Hal tersebut disebabkan perlakuan pemanasan dengan menggunakan autoklaf melibatkan uap air sehingga reaksi dengan ZnCl₂ dalam bahan lebih efektif karena air menjadi media yang baik untuk reaksi kimia.

Kadar abu bubuk simplisia sambiloto yang dihasilkan lebih besar dibanding kadar abu standar simplisia menurut Alvia (2016) yaitu maksimal 12%. Kadar abu yang tinggi pada bubuk simplisia sambiloto diduga karena bagian tanaman yang digunakan adalah keseluruhan dari batang, ranting dan daun. Kadar abu bahan tanaman juga dipengaruhi oleh media tanam. Media tanam pada budidaya sambiloto yang memiliki kadar mineral tinggi akan menghasilkan tanaman sambiloto dengan kandungan mineral tinggi, terutama mineral anorganik seperti Ca, Ba, dan Fe. Selain itu pembentukan kompleks dengan Zn juga akan meningkatkan kadar abunya (Alvia, 2016).

Kadar Klorofil Total

Fungsi utama klorofil dalam proses fotosintesis antara lain: memanfaatkan energi matahari, memicu fiksasi CO₂ untuk menghasilkan karbohidrat dan menyediakan energi bagi ekosistem secara keseluruhan. Kadar klorofil dapat digunakan sebagai indeks produktivitas fotosintesis tumbuhan. Secara tidak langsung, kadar klorofil menunjukkan estimasi status nutrisi tumbuhan karena nitrogen pada daun bergabung dengan klorofil (Gaherwar, 2017). Berdasarkan nilai hasil pengujian kadar klorofil total yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar Klorofil total bubuk simplisia sambiloto (mg/100 g bk) pada berbagai metode pemanasan dan konsentrasi dalam pembentukan kompleks Zn-klorofil

Metode pemanasan	Konsentrasi ZnCl ₂ (ppm)				
	0	200	300	400	500
Oven	282.22±22.05a	354.12±16.25 b	340.58±29.90 b	377.21±53.69 b	347.88±7.00b
Autoklaf	271.98±3.72a	420.94±56.89 c	415.65±17.60 c	366.16±9.44b	341.39±3.01b

Keterangan: Pengujian dilakukan dengan dua kali percobaan dan dianalisa dengan tiga kali ulangan. Nilai mean ± standar deviasi diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-c) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Berdasarkan analisis pada Tabel 4 diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ZnCl₂ maka semakin besar kadar klorofil total, namun pada pemanasan dengan oven pada konsentrasi 200 ppm atau lebih tidak berbeda nyata. Sedangkan dengan autoklaf menurun kembali jika konsentrasi lebih dari 300 ppm, diduga pada konsentrasi 400 ppm dan 500 ppm residu klorin semakin besar sehingga terjadi oksidasi klorofil yang mengakibatkan penurunan kadar klorofil (Nursholah dkk., 2014).

Pada pemanasan metode oven pembentukan ZnCl₂ tidak efektif, karena pada saat pemanasan dengan metode oven menggunakan udara kering sehingga reaksi kurang maksimal dan pada konsentrasi ZnCl₂ yang lebih tinggi mengakibatkan residu Cl₂ memicu degradasi klorofil yang belum membentuk kompleks ZnCl₂ sehingga kadar klorofil lebih rendah (Suryani, 2021).

Sifat Fisik Simplisia Sambiloto

Warna

Warna merupakan salah satu faktor penting selain bau dan tekstur sehingga warna menentukan mutu suatu produk pangan. Mutu produk pangan dapat diperkirakan dari warnanya seperti tingkat kematangan buah yang dinilai berdasarkan persepsi visual. Pengukuran warna secara objektif dilakukan karena pada warna produk pangan merupakan daya tarik utama sebelum konsumen mengenal dan menyukai sifat-sifat lainnya. Pengujian warna dalam penelitian ini menggunakan *colorimeter* berdasarkan sistem warna L, a dan b (Harris, 1989).

Model warna L, a dan b terdiri dari tiga komponen L (*lightness*) yang dimulai dari nilai 0 (hitam) sampai 100 (putih) dan komponen a mewakili tingkat warna merah-hijau dengan level (+60 merah, -60 hijau) dan komponen b mewakili (biru sampai kuning) merupakan dua komponen kromatik dengan kisaran nilai -120 sampai +120 (Mendoza dkk., 2007). Berdasarkan penjelasan tersebut dapat dipahami komponen warna L dengan kisaran nilai 0 (hitam) -100 (putih), komponen warna a dengan nilai negatif menunjukkan hijau sedangkan nilai positif menunjukkan warna merah, komponen warna b menunjukkan warna biru (-b) sampai kuning (+b).

Lightness (L)*

Hasil uji statistik terhadap intensitas warna *lightness (L*)* menunjukkan bahwa perlakuan pemanasan dan konsentrasi reagen ZnCl₂ berpengaruh nyata terhadap stabilitas warna *lightness (L*)*

yang dihasilkan ($P < 0,05$). Hal ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Warna Lightness (L^*) bubuk simplisia sambiloto pada berbagai metode pemanasan dan konsentrasi reagen $ZnCl_2$ dalam pembentukan kompleks Zn-klorofil

Metode pemanasan	Konsentrasi $ZnCl_2$ (ppm)				
	0	200	300	400	500
Oven	49,75±0,17bc	50,48±1,47c	50,40±1,04c	50,33±0,98c	50,19±0,95c
Autoklaf	47,79±0,25a	47,80±0,23a	48,65±0,59ab	48,53±0,74ab	49,74±2,05bc

Keterangan: Pengujian dilakukan dengan dua kali percobaan dan dianalisa dengan tiga kali ulangan. Nilai mean ± standar deviasi diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-c) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Tingkat kecerahan *lightness* dinyatakan dengan kisaran 0-100 dengan warna 0 menyatakan kecenderungan warna hitam atau sangat gelap, sedangkan nilai 100 menyatakan kecenderungan warna putih atau terang (Yuwono, 1998). Berdasarkan data pada Tabel 5 diketahui nilai L^* tertinggi diperoleh dari perlakuan pemanasan oven dengan konsentrasi 0 ppm sampai 500 ppm, sedangkan warna L^* terendah diperoleh pada perlakuan pemanasan autoklaf dengan konsentrasi 0 ppm sampai 400 ppm.

Semakin besar konsentrasi $ZnCl_2$ maka tingkat kecerahan semakin tinggi, namun pada bubuk simplisia sambiloto dengan metode pemanasan oven tidak berbeda nyata. Sedangkan pada pemanasan dengan autoklaf semakin besar. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi $ZnCl_2$ pada metode pemanasan dengan autoklaf lebih banyak terjadi kompleks Zn-klorofil sehingga warna klorofil lebih hijau, sebaliknya jika tanpa penambahan $ZnCl_2$, lebih banyak terjadi degradasi lanjutan feofitin menjadi feoforbid yang berwarna abu-abu kehitaman.

Redness (a^*)

Intensitas warna a^* mewakili tingkat warna merah-hijau dengan level +60 merah, -60 hijau. Nilai positif (+) menunjukkan intensitas warna merah sedangkan nilai negatif (-) menunjukkan intensitas warna hijau (Harris R. 1989). Hasil analisis statistik warna (a^*) dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Intensitas warna hijau ($-a^*$) bubuk simplisia sambiloto pada berbagai metode pemanasan dan konsentrasi reagen $ZnCl_2$ dalam pembentukan kompleks Zn-klorofil

Metode pemanasan	Konsentrasi $ZnCl_2$ (ppm)				
	0	200	300	400	500
Oven	-1,36±0,98d	-1,90±0,04c	-2,04±0,00bc	-2,15±0,25b	-2,15±0,01b
Autoklaf	-2,06±0,19bc	-2,58±0,05a	-2,50±0,19a	-2,53±0,20a	-2,55±0,01a

Keterangan: Pengujian dilakukan dengan dua kali percobaan dan dianalisa dengan tiga kali ulangan. Nilai mean ± standar deviasi diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-c) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Nilai negatif pada pengujian intensitas warna a^* menunjukkan adanya peningkatan warna hijau akibat perlakuan pemanasan dan konsentrasi. komponen a^* mewakili tingkat warna merah-hijau dengan level (+60 merah, -60 hijau), nilai a^* yang semakin meningkat sebanding dengan kadar

klorofil yang semakin tinggi pada bubuk simplisia sambiloto. Jenis perlakuan pemanasan autoklaf lebih tinggi intensitas warna ($-a^*$) pada bubuk simplisia sambiloto dibandingkan dengan perlakuan pemanasan oven

Hasil uji statistik terhadap intensitas warna *redness* (a^*) pada bubuk simplisia sambiloto menunjukkan bahwa perlakuan pemanasan oven dan autoklaf dan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap intensitas warna *redness* (a^*). Semakin tinggi konsentrasi $ZnCl_2$ maka intensitas warna hijau ($-a$) semakin besar, namun pada konsentrasi 200, 300, 400 dan 500 ppm dengan metode pemanasan menggunakan autoklaf tidak berbeda nyata. Diketahui bahwa intensitas warna hijau dari bubuk simplisia sambiloto dengan metode pemanasan dengan oven lebih rendah dibanding dengan autoklaf pada konsentrasi yang sama namun pada pemanasan oven intensitas warna hijau cenderung meningkat pada konsentrasi 300 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa pemanasan dengan autoklaf lebih efektif dibanding dengan oven karena dapat meningkatkan intensitas warna hijau, karena pada bubuk simplisia sambiloto dengan proses pemanasan oven menggunakan udara kering sehingga sampel mengalami degradasi sedangkan pada proses pemanasan dengan autoklaf menggunakan uap air jenuh sehingga sampel tidak mengalami degradasi, hal ini dapat meningkatkan intensitas warna dalam bubuk simplisia sambiloto pada perlakuan pemanasan dengan menggunakan autoklaf karena uap air jenuh akan membuat reagen yang digunakan dapat bereaksi secara optimum.

Yellowness (b^*)

Nilai b^* merupakan besaran yang menunjukkan warna mulai dari kuning hingga biru. komponen b^* mewakili (biru sampai kuning) merupakan dua komponen kromatik dengan kisaran nilai -120 sampai $+120$ semakin tinggi nilai b^* positif (+) maka warna kuning semakin pekat dan semakin rendah nilai b^* negatif (-) menunjukkan warna biru semakin pekat (Mendoza dkk., 2007). Hasil analisis statistik diketahui bahwa variasi perlakuan pemanasan dan konsentrasi berpengaruh nyata terhadap intensitas warna kuning bubuk simplisia sambiloto. Hasil analisis statistik warna (b^*) dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Intensitas warna kuning (b^*) bubuk simplisia sambiloto pada berbagai metode pemanasan dan konsentrasi reagen $ZnCl_2$ dalam pembentukan kompleks Zn-klorofil

Metode pemanasan	Konsentrasi $ZnCl_2$ (ppm)				
	0	200	300	400	500
Oven	9,00±0,06f	7,80±0,85bc	8,18±0,23cde	8,53±0,27e	8,34±0,15de
Autoklaf	6,93±0,37a	7,19±0,07a	8,04±0,53bcd	7,69±0,13b	7,19±0,20a

Keterangan: Pengujian dilakukan dengan dua kali percobaan dan dianalisa dengan tiga kali ulangan. Nilai mean \pm standar deviasi diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-f) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Berdasarkan data pada Tabel 6 diketahui bahwa interaksi antara faktor konsentrasi $ZnCl_2$ dan metode pemanasan berpengaruh nyata terhadap intensitas warna kuning bubuk simplisia sambiloto. Semakin besar konsentrasi $ZnCl_2$ intensitas warna kuning bubuk simplisia sambiloto dengan metode pemanasan dengan oven, semakin rendah, namun pada metode pemanasan dengan autoklaf meningkat pada konsentrasi 300 ppm dan menurun kembali pada konsentrasi 400 ppm. Pada berbagai konsentrasi yang sama intensitas warna kuning bubuk simplisia sambiloto dengan metode pemanasan autoklaf lebih rendah dibanding dengan oven. Hal ini menunjukkan bahwa reaksi dengan autoklaf lebih efektif dibanding dengan oven karena dapat menurunkan intensitas warna kuning, karena pada bubuk simplisia sambiloto dengan proses pemanasan oven menggunakan udara kering sehingga sampel mengalami degradasi sedangkan pada proses pemanasan dengan autoklaf menggunakan uap air jenuh sehingga sampel tidak mengalami degradasi, hal ini dapat menurunkan intensitas warna kuning dalam bubuk simplisia sambiloto pada perlakuan pemanasan dengan menggunakan autoklaf karena uap air jenuh akan membuat reagen yang digunakan dapat bereaksi secara optimum dan membentuk metaloklorofil dan mencegah pembentukan feofitin.

Pada perlakuan pemanasan dengan autoklaf nilai b^* cenderung lebih rendah dibanding dengan perlakuan pemanasan oven. Hal ini karena proses pemanasan autoklaf dengan tekanan tinggi dan uap jenuh akan meningkatkan pembentukan Zn klorofil bubuk simplisia sambiloto karena reagen $ZnCl_2$ dapat bereaksi dengan lebih baik dengan adanya uap air sehingga nilai b^* lebih rendah. Pada pemanasan dengan oven, keberadaan Cl_2 menyebabkan degradasi pada klorofil dan terbentuk senyawa yang tidak berwarna hijau. Proses pemanasan dengan autoklaf lebih efektif sehingga afinitas bubuk simplisia sambiloto lebih tinggi sehingga terjadi pembentukan kompleks *metallochlorophyll* dengan reagen yang digunakan (Schwartz dan Lorenzo, 1990).

Stabilitas Warna (ΔE^*)

Nilai (ΔE^*) adalah parameter yang digunakan untuk menilai perubahan atau perbedaan nilai L^* , a^* dan b^* yang dihasilkan. Semakin besar nilai (ΔE^*) maka semakin besar perubahan dan perbedaan nilai L^* , a^* , b^* yang terjadi. Sedangkan semakin kecil nilai (ΔE^*) maka semakin kecil perubahan dan perbedaan nilai L^* , a^* , b^* (Krisdianto, 2020). Semakin besar perubahan warna (ΔE^*) menunjukkan bahwa warna semakin tidak stabil. Hasil analisis statistik warna (ΔE^*) dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Perubahan warna (ΔE^*) bubuk simplisia sambiloto pada berbagai metode pemanasan dan konsentrasi reagen $ZnCl_2$ dalam pembentukan kompleks Zn-klorofil

Metode pemanasan	Konsentrasi $ZnCl_2$ (ppm)				
	0	200	300	400	500
Oven	5,56±0,26e	3,80±0,71d	3,48±0,22d	3,19±0,51cd	3,94±0,29d
Autoklaf	3,80±0,19d	1,59±0,28a	2,21±0,96ab	2,49±0,53bc	3,33±1,70cd

Keterangan: Pengujian dilakukan dengan dua kali percobaan dan dianalisa dengan tiga kali ulangan. Nilai mean \pm standar deviasi diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-e) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Berdasarkan analisis pada Tabel 7 diketahui bahwa perlakuan penambahan jenis reagen dan konsentrasi berpengaruh nyata terhadap nilai ΔE^* pada bubuk simplisia sambiloto. Semakin kecil nilai ΔE^* menunjukkan bahwa warna bubuk simplisia sambiloto semakin stabil. Berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa perlakuan pemanasan dan konsentrasi $ZnCl_2$ berpengaruh nyata terhadap stabilitas warna bubuk simplisia sambiloto. Semakin besar konsentrasi maka ΔE^* semakin tinggi, namun pada pemanasan dengan oven pada konsentrasi 200 ppm atau lebih tidak berbeda nyata. Sedangkan pada pemanasan dengan autoklaf pada konsentrasi 500 ppm, stabilitas warna menurun kembali. Hal ini sesuai dengan hasil analisis klorofil total yang juga menunjukkan penurunan.

Jika dibandingkan tingkat stabilitas antara pemanasan dengan oven dan autoklaf maka diketahui bahwa pada konsentrasi yang sama, bubuk simplisia sambiloto yang dipanaskan dengan autoklaf lebih stabil warnanya. Hal ini karena uap air jenuh akan membuat reagen yang digunakan dapat bereaksi secara optimum hal ini dapat meningkatkan intensitas warna dalam bubuk simplisia sambiloto pada perlakuan pemanasan dengan menggunakan autoklaf karena uap air jenuh akan membuat reagen yang digunakan dapat bereaksi secara optimal.

KESIMPULAN

Bubuk simplisia sambiloto dengan kadar klorofil tinggi dapat diperoleh dengan pembentukan Zn-klorofil menggunakan reagen $ZnCl_2$ dengan konsentrasi 200 ppm metode pemanasan dengan autoklaf. Perlakuan variasi metode pemanasan dan konsentrasi reagen $ZnCl_2$ berpengaruh nyata terhadap tingkat kecerahan (L^*), intensitas warna hijau ($-a^*$), intensitas warna kuning (b^*), dan stabilitas warna bubuk simplisia sambiloto. Semakin besar konsentrasi $ZnCl_2$ maka intensitas warna hijau dan stabilitas warna semakin meningkat, namun pada pemanasan dengan autoklaf pada konsentrasi 500 ppm, stabilitas warna menurun kembali. Perlakuan variasi metode pemanasan dan konsentrasi reagen $ZnCl_2$ berpengaruh nyata terhadap kadar abu, dan klorofil, namun tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air bubuk simplisia sambiloto. Semakin besar konsentrasi $ZnCl_2$ maka kadar abu dan kadar klorofil semakin tinggi, namun kadar klorofil pada pemanasan dengan oven pada konsentrasi 200 ppm atau lebih tidak berbeda nyata, sedangkan dengan autoklaf menurun kembali jika konsentrasi lebih dari 300

ppm. Bubuk simplisia sambiloto yang berkadar klorofil tinggi dapat dihasilkan dengan konsentrasi reagen $ZnCl_2$ 200 ppm dan metode pemanasan dengan autoklaf dan mempunyai kadar klorofil 420.94 mg/100 g bk, kadar air 7.13 % bb, kadar abu 15.41 % bk, dan intensitas warna hijau -2,58.

DAFTAR PUSTAKA

- Aprillia P., Safitri C. (2020). Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Herba Sambiloto dan Daun Sirih Hijau Pada Mencit. SNPBS Ke-V 2020 : 553
- Arfandi. (2013). Proses Pembentukan Feofitin Daun Suji Sebagai Bahan Aktif Photosensitizer Akibat Pemberian Variasi Suhu. *Journal Pillar Of Physics, Vol. 1. April 2013, 68-76*
- Alvia. (2016). Standarisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata Nees*) dari Wilayah Bogor Dan Tawangmangu Skripsi Sarjana Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya
- Bianca, K. (1993). Pengaruh Penambahan $ZnCl_2$ di Dalam Pembuatan Ekstrak Warna dari Campuran Daun Suji (*Pleomele angustifolia*) dan Daun Pandan (*Pandanus amarylifollus Roxb.*) Skripsi Sarjana Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Biber, P.D. (2007). *Evaluating a Chlorophyll Content Meter on Three Coastal Wetland Plant Species. Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences.*
- Budiono. (2016). Kerapatan Stomata dan Kadar Klorofil Tumbuhan Clausena Excavata Berdasarkan Perbedaan Intensitas Cahaya. Seminar Nasional Pendidikan dan Saintek 2016 (Issn: 2557-533x)
- Canjura, F. L., Watkins R. H., & Schwartz S. J. (1991). *Color Improvement and Metallochlorophyll Complexes in Continuous Flow Aseptically Processed Peas.*
- Canjura, FL, RH., Watkins., Schwartz. (1999). *Color improvement and metallo-chlorophyll complexes in continuous flow aseptically processed paes. J.I of Food Sci.* 64 (6): 987990.
- Cheng KL, K., Ueno, T., Imamura. (1982). *Handbook of Organic Analytical Reagents. CRC Press, Boca Raton, Florida.*
- Chuthaputti, A., Pornpatkul, V., Suwankiri, U. (2007). *The efficacy of Andrographis paniculata (Burm. F.) Wall. Ex Nees for the relief of the symptoms of influenza. Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine.*
- Coon, J.T., Ernst, E. (2004). *Andrographis paniculata in the treatment of upper respiratory* Arsyad, S. 1989. *Konservasi Tanah dan Air.* IPB Press. Bogor.
- Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. 2005. *Antimicrobial activity of flavonoids, International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343–356.
- Dalimunthe, A. 2009. *Interaski sambiloto (androgaphis paniculata).* Medan: departemen farmakologi fakultas farmasi universitas Sumatra utara.
- Dewanto V., Wu X., Adom K K., Liu R H. (2002). *Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J. Agric. Food Chem.* 50, 3010–3014.
- Duh, C.Y., Wang, S.K., Tseng, H.K., Sheu, J.H., & Chiang, M.Y. (1998). *Novel Cytotoxic Cembranoids from the Soft Coral Sinularia Flexibilis. J. Nat. Prod.*, 61 (6): 844–7.

- Elbe JH., Schwartz., SJ, (1996). Colorants, di dalam : *Fennema OR*, Editor. *Food Chemistry*. Ed ke-3. Marcel Dekker, New York.
- Fajar, A., Ibrahim, R., & Dewi, E. (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.
- Gaherwar, S., & Kulkarni, P. (2017). *Estimation of Chlorophyll Content of Some Green Leafy Vegetables for Their Biochemical Properties. Indian J.Sci.Res, 2, 170-171.*
- Gunawan, D., Mulyani S. (2004). Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jilid I. Cetakan I. Penebar Swadaya. Jakarta. pp. 12-13
- Harris R. (1989). Evaluasi Gizi Pada Pengolahan Bahan Pangan. ITB. Bandung.
- Hermawan, R., Hayati, E.K., Budi, US. (2010). *Effect of Temperature, pH on Total Concentration and Color Stability Anthocyanin Compound Extract Reselle Calyx (Hibiscus sabdariffa).J. Alchemy 2(1), hal 104-157*
- Hendry, G. A. F., Houghton, J. D. (1996). *Natural Food Colorants. Blackie Academica and Professional. USA.*
- Humphrey AM. (2004). *Chlorophyll as a color and functional ingredient. Journal of Food Science. 69(5): C422-C425.*
- Jarukamjorn. (2010). *Gender-associated modulation of inducible CYP1A1 expression by andrographolide in mouse liver. European Journal of Pharmaceutical Sciences Volume 39, Issue 5, 18 March 2010, Pages 394-401*
- Kang, Y.R., Park, J., Jung, S.K., Chang, Y.H. (2018). *Synthesis, characterization and functional properties of chlorophylls, pheophytins and Zn-pheophytins. Food Chemistry. 245: 943-950.*
- Khandaker, L., Masum Akond, A.S.M.G., Oba, S. (2010). *Air Temperature and Sunlight Intensity of Different Growing Period Effect The Biomass, Leaf Color and Betacyanin Pigment Accumulation in Red Amaranth (Amaranthus tricolor L.), Journal Central European Agricultural, 10(4): 439-448.*
- Kubatsch, A., & Grüneberg, H. (2007). *The Effect of low light intensity and temperature on growth of Schefflera arboricola in interior landscapes. Hortscience 42(1):65–67.*
- LaBorde, L. F., & von Elbe J. H. (1994). *Chlorophyll Degradation and Zinc Complex Formation with Chlorophyll Derivatives in Heated Green Vegetables. J. Agric. Food Chemistry, 40:2341-2344.*
- MA Alpar, AF Cheng, MA Ruderman, J Shaham *Nature 300 (5894), 728-730, 1982*
- Melinda. (2014). Aktivitas Antibakteri Daun Pacar (*Lawsonia inermis L*). Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Mendoza Fernando., Petr Dejmeck., Jose M., Aguilera. (2007). *Colour And Texture Analysis In Classification Of Commercial Potato Chips. Food Research International 40 (2007) 1146 – 1154. Lund University . Sweden.*
- Muchtadi, T.R. (1997). Teknologi Proses Pengolahan Pangan. IPB-Press. Bogor.
- Malo, E. (2017). Uji Potensi Antioksidan dan Kesukaan Panelisa terhadap Yoghurt dengan Penambahan

- Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus Britton dan Rose*). Skripsi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta
- Nababan, K.C. (2022) Pengaruh Jenis Reagen dan Lama Pemanasan Dalam Pembentukan Kompleks Zn-Klorofil terhadap Kadar Klorofil dan Warna Bubuk Simplisia Sambiloto (*Andrographis Paniculata*). Skripsi Thesis, Universitas Mercu Buana Yogyakarta.
- Nanda, P.A., Busman, H. (2020). Potensi Antioksidan Kedelai terhadap Penangkapan Radikal Bebas Potential of Soybean Antioxidant (*Glycine Max L*) on Capturing Free Radicals. Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada, 11(1), 497–504. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.333>
- Ngo, T., Wrolstad, R. E., & Zhao, Y. (2007). Color quality of oregon strawberries. Impact of genotype, composition, and processing. *Journal of Food Science* 72(1):25-32
- Niranjan, A., Tewari, S.K., Lehry, A. (2010). Biological Activities of Kalmegh (*A. Paniculata Nees*) and Its Active Principles. *Indian J. Of Nat. Prod. And Res.* 1(2): 125- 135.
- Nriagu, J. (2011). *Zinc Toxicity in Humans*. Ann Arbor, MI, USA: University of Michigan
- Nurhayati, T. (2008). Uji Efek Sediaan Serbuk Instan Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga L.*) Sebagai Tonikum terhadap Mencit Jantan Galur Swiss Webster. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Paluvi., Niken., Mukarlina & Riza, L. (2015). Struktur Anatomi Daun, Kantong dan Sulus (*Nepenthes gracilis Korth*). Yang Tumbuh di Area Intensitas Cahaya Berbeda.1Jurnal Protobiont,IV (1): 103-107.
- Pathare, P. B., Opara, U. L., Al-Said, F. A. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol* 6:36–60. DOI10.1007/s11947-012-0867-9.
- Porrarud S, Pranee A. (2010). Microencapsulation of Zn chlorophyll pigment from pandan leaf by spray drying and its characteristic. *International Food Research Journal*. 17(4): 1.031 1.042.
- Ratnani, R. (2012). Potensi Produksi Andrographolide Dari Sambiloto (*Andrographis Paniculata Nees*) Melalui Proses Eksraksi Hidrotropi. *Jurnal Momentum*. 8(1): 6-10.
- Ringopoulos D, Gregoriou S, Katsambas A, *Hyperpigmentation and Melasma*. *J Cosmet Dermatol* 2007;6:195-202
- Rodriguez-Amaya, D.B., Kimura, M. (2016). *Harvest Plus Handbook for Carotenoid Analysis*. In *Harvest plus Technical Monograph, Series 2; International Food Policy Research Institute and International Center for Tropical Agriculture*: Washington, DC, USA
- Schwartz SJ, Cooperstone JL, Cichon MJ, von Elbe JH, Giusti MM. Colorants. In: Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR, editors. *Fennema's food chemistry*. 5th Edn. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton; 2017. p. 698–701. Simpson, B. K. (2012). *Food Biochemistry and Food Processing*. 2nd Edition. Iowa; John Wiley & Sons, Inc.
- Simpson, B. K. (2012). *Food Biochemistry and Food Processing*. 2nd Edition. Iowa; John Wiley & Sons, x 1997. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. 253 hal.
- Socaciu, C. (2008). *Food Colorants : Chemical and Functional Properties*. University of Agricultural

- Science and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, Romania.*
- Song. (2010). Pengujian Kandungan Klorofil Total, Klorofil A dan B sebagai Indikator Cekaman Kekeringan pada Padi (*Oryza sativa L.*). Jurnal Ilmiah SAINS 10: 86-90.
- Suhirman, S., & Winarti, C. (2007). Prospek dan Fungsi Tanaman Obat Sebagai *Imunomodulator*, Penelitian, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor.
- Tummanichanont, C., Phoungchandang, S., Szrednicki, G. (2017). *Effects of pretreatment and drying methods on drying characteristics and quality attributes of Andrographis paniculata. Journal of Processing and Preservation, e13310.*
- Tumolo T, Lanfer-Marquez UM. 2012. *Copper chlorophyllin: A food colorant with bioactive properties? Food Research International.* 46(2): 451-459. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.03>
- Usman, Fitri, I.,A. dan Suryani, C., L. (2022). Pengaruh Jenis Medium Sumber Zn²⁺ dan Lama Blanching terhadap Aktivitas Antioksidan Bubuk Simplisia Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) VOL 1(2), Hal 54 – 66
- Widiastuti, S. (2017). Potensi Fe²⁺, Co²⁺ dan Ca²⁺ terhadap Peningkatan Aktivitas Klorofil Sebagai Antioksidan Pada Alga Hijau. 8–11.
- Winarno, F.G. (2004). Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Yuniarti, N. (2008). Pengaruh Penurunan Kadar Air terhadap Perubahan Fisiologi dan Kandungan Biokimia Benih Eboni (*Diospyros Celebica Bakh*). Jurnal Penelitian Hutan Tanaman. 5(3): 191-198
- Zhang, Z., Su, G., Zhou, F., Lin, L., Liu, X., Zhao, M. (2019). *Alcalase-hydrolyzed oyster (Crassostrea rivularis) meat enhances antioxidant and aphrodisiac activities in normal Male mice. Food Res. Int. 120, 178–187.* <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2019.02.033>.