

Pengaruh Konsentrasi Larutan ZnCl_2 Sebagai Media Ekstraksi Terhadap Sifat Fisik, Kimia, dan Stabilitas Warna Ekstrak Klorofil Daun Pandan

[Effect of ZnCl_2 Concentration as Extraction Medium on The Physical, Chemical Properties and Color Stability of Pandan Leaf Chlorophyll Extract]

Rindaningsih¹, Chatarina Lilis Suryani^{1*}, Yuli Perwita Sari²

¹ Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta, Jl Wates Km 10 Yogyakarta 55753

² Program Studi Ilmu Pangan, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta, Jl Wates Km 10 Yogyakarta 55753

* Email korespondensi: chlilis@mercubuana-yogya.ac.id

ABSTRACT

Chlorophyll in pandanus leaves is easily degraded during processing, resulting in changes in color intensity. Efforts to maintain the color intensity and color stability of chlorophyll involve the formation of chlorophyll complexes with metallochlorophyll using metals that have higher complex stability than natural metals in chlorophyll (Mg) by extraction. This study aimed to produce a stable and effective pandan leaf chlorophyll extract using ZnCl_2 extraction media. The phases of the chlorophyll leaf extraction process are leaf washing, cutting, grinding in ZnCl_2 solution (0, 500, 750, and 1000 ppm), filtering, and heating with an autoclave at a temperature of 110 °C for 15 minutes. Chlorophyll leaf extracts analyzed ash levels, chlorophyll levels, carotenoid levels, color, and color stability. The experimental design used in this study is a complete random design with one factor. The data obtained was analyzed with One-Anova using IBM SPSS Version 25. The results of the analysis showed that chlorophyll leaf extract produced high chlorophyll levels and the color was most stable at 1000 ppm ZnCl_2 concentrations with chlorophyll levels of 125.35 ± 3.97 mg/L; ash content of 0.13 ± 0.04 g/100 ml; carotene content of 0.40 ± 0.003 $\mu\text{mol/L}$; and green color intensity -2.98 ± 0.13 . Pandan leaf chlorophyll extract with a ZnCl_2 concentration of 1000 ppm has the potential to be used as a natural coloring agent.

Keywords: pandan leaf extract, ZnCl_2 , chlorophyll, heating, autoclaving

ABSTRAK

Klorofil pada daun pandan mudah terdegradasi selama pengolahan yang mengakibatkan intensitas warna mengalami perubahan. Upaya untuk mempertahankan intensitas warna dan stabilitas warna klorofil adalah pembentukan kompleks klorofil dengan methallochlorophyll menggunakan logam yang memiliki stabilitas kompleks lebih tinggi dibanding logam alami dalam klorofil (Mg) dengan cara ekstraksi. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan ekstrak klorofil daun pandan yang stabil dan efektif dengan menggunakan media ekstraksi ZnCl_2 . Tahapan proses ekstraksi klorofil daun pandan adalah pencucian daun, pemotongan, penggilingan dalam larutan larutan ZnCl_2 (0, 500, 750, dan 1000 ppm), penyaringan, dan pemanasan dengan autoklaf pada suhu 110°C selama 15 menit. Ekstrak klorofil daun pandan yang dianalisis kadar abu, kadar klorofil, kadar karotenoid, warna, dan stabilitas warna. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini Rancangan Acak Lengkap dengan 1 faktor perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis dengan One Way Anova menggunakan IBM SPSS Version 25. Hasil analisis menunjukkan ekstrak klorofil daun pandan yang menghasilkan kadar klorofil tinggi dan warna yang paling stabil pada penggunaan konsentrasi ZnCl_2 1000 ppm dengan kadar klorofil sebesar $125,35 \pm 3,97$ mg/L; kadar abu sebesar $0,13 \pm 0,04$ g/100 ml; kadar karotenoid $0,40 \pm 0,003$ $\mu\text{mol/L}$; dan intensitas warna hijau $-2,98 \pm 0,13$. Ekstrak klorofil daun pandan dengan konsentrasi ZnCl_2 1000 ppm potensial digunakan sebagai bahan pewarna alami.

Kata kunci: ekstrak daun pandan, ZnCl_2 , klorofil, pemanasan, autoklaf

Pendahuluan

Warna merupakan atribut mutu pertama yang dipertimbangkan konsumen sebelum membeli atau mengonsumsi makanan. Warna berpengaruh terhadap rasa makanan dan mempengaruhi selera konsumen (Stich, 2016). Pewarna banyak digunakan dalam pengolahan makanan dan minuman seperti makanan jajanan, kue, permen, es, minuman, sereal, dan lain-lain.

Pewarna makanan dikategorikan menjadi dua yaitu pewarna sintetis dan pewarna alami. Pewarna sintetis dibuat dengan reaksi kimia. Pewarna jenis ini banyak digunakan karena mempunyai kelebihan yaitu menghasilkan warna yang tajam, penggunaan lebih sedikit, serta lebih stabil terhadap cahaya, pH, dan oksidasi, namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa pewarna sintetis menimbulkan dampak buruk bagi kesehatan seperti menyebabkan keracunan dan karsinogenik (Malabadi et al., 2022). Hal tersebut mendorong konsumen untuk menggunakan pewarna alami yang dianggap lebih aman. Selain itu, kesadaran masyarakat untuk hidup sehat juga meningkat sehingga pola makan masyarakat juga berubah cenderung memilih bahan alami. Hal ini meningkatkan permintaan penggunaan pewarna alami yang lebih aman, tidak menimbulkan efek samping, dan dapat meningkatkan kesehatan (Ngete et al., 2020).

Pewarna hijau alami yang umum digunakan masyarakat Indonesia adalah ekstrak daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*), daun suji (*Dracaena angustifolia*), daun singkong (*Manihot esculenta*), daun cincau (*Cyclea barbata* Miers), dan daun kale (*Brassica oleracea*) (Rachmawati et al., 2020). Komponen pewarna hijau alami yang terdapat dalam daun adalah klorofil. Jenis daun yang mempunyai kadar klorofil tinggi dan paling banyak digunakan adalah daun pandan karena daun pandan juga mempunyai aroma yang spesifik seperti aroma vanili (Ningrum et al., 2015). Aroma wangi tersebut merupakan senyawa turunan asam amino fenilalanin yaitu 2-acetyl-1-pyrroline (Faras et al., 2014). Kelebihan klorofil sebagai pewarna alami lainnya adalah klorofil terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan memiliki sifat anti inflamasi dan anti kanker (Ebrahimi et al., 2023). Ekstrak klorofil dari daun pandan juga mengandung senyawa karotenoid dan xanthophyl. Karotenoid merupakan senyawa antioksidan yang dapat melindungi dari beberapa penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung koroner, dan penyakit mata akibat bertambahnya usia (Bakac et al., 2023).

Bahan pewarna alami klorofil digunakan dalam bentuk ekstrak sehingga klorofil harus diekstraksi terlebih dahulu. Tahapan proses ekstraksi klorofil adalah sortasi, pemotongan daun, penghancuran daun, pencampuran dengan media pengestrak, dan penyaringan. Ekstrak klorofil yang diperoleh ditambahkan dalam adonan makanan sebelum diolah. Menurut Simpson et al. (2012) klorofil mudah terdegradasi oleh enzim, panas, cahaya, dan asam sehingga selama proses ekstraksi dan pengolahan makanan dapat terjadi penurunan intensitas warna hijau karena klorofil terdegradasi. Proses penghancuran daun pandan dengan blender akan mengakibatkan kenaikan suhu karena gesekan antar bahan selama proses penghancuran. Kenaikan suhu tersebut dapat memacu degradasi klorofil menjadi feofitin (Canjura et al., 2006). Selain itu, proses penghancuran akan mengakibatkan sel-sel daun pecah sehingga komponen senyawa asam organik akan terlarut dan berinteraksi dengan klorofil sehingga dapat menyebabkan kerusakan klorofil (Singh et al., 2015). Kerusakan klorofil selama proses ekstraksi dan pengolahan pangan dapat menyebabkan penurunan intensitas warna hijau (Dwipayana et al., 2019).

Degradasi klorofil selama proses ekstraksi dan pengolahan terjadi akibat klorofil melepaskan ion Mg^{2+} pada pusat klorofil karena panas atau asam. Ion Mg^{2+} dalam klorofil digantikan oleh ion hidrogen (H^+) membentuk feofitin yang berwarna kuning kecoklatan sehingga intensitas warna hijau berkurang (Anjani et al., 2015). Salah satu upaya untuk mencegah degradasi klorofil adalah dengan mengganti ion Mg^{2+} dengan logam lainnya yang dapat membentuk kompleks metaloklorofil yang lebih stabil dibanding kompleks Mg-klorofil. Logam yang dapat digunakan adalah logam yang memiliki afinitas ikatan yang lebih kuat dibanding Mg seperti seng (Zn) dan tembaga (Cu) (Usman et al., 2022). Logam Zn lebih banyak digunakan karena dianggap lebih aman dibandingkan Cu karena sifat ion Cu yang lebih toksik (Hassan et al., 2023).

Pembentukan kompleks metaloklorofil dapat dilakukan pada saat ekstraksi klorofil. Penggunaan larutan $ZnCl_2$ sebagai media ekstraksi klorofil diduga akan menghambat kerusakan klorofil. Hal ini karena feofitin yang terbentuk selama proses ekstraksi akan mengikat ion Zn^{2+} membentuk Zn-feofitin yang lebih stabil. Keberhasilan pembentukan kompleks Zn-feofitin dipengaruhi oleh konsentrasi larutan $ZnCl_2$, namun belum diketahui konsentrasi yang tepat jika digunakan sebagai media ekstraksi. Konsentrasi semakin besar diduga akan meningkatkan jumlah kompleks Zn-feofitin yang terbentuk, namun jika berlebihan akan merusak klorofil. Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa penambahan $ZnCl_2$ 300 ppm pada ekstrak klorofil pandan menghasilkan warna ekstrak yang lebih stabil, namun jika lebih dari 300 ppm kadar klorofil menurun kembali. Residu Cl_2 dalam air akan membentuk ClO^- (hipoklorit). Hipoklorit merupakan oksidator sehingga dapat mengoksidasi klorofil (Fathurrohman et al., 2023). Faktor lain yang mempengaruhi keberhasilan pembentukan kompleks Zn-feofitin adalah proses pemanasan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemanasan dengan autoklaf pada suhu $110^\circ C$ selama 10 menit dapat meningkatkan efektivitas pembentukan kompleks Zn-feofitin dalam daun sambiloto (Suryani et al., 2023).

Oleh karena itu harus dilakukan penelitian untuk mengevaluasi pengaruh variasi konsentrasi larutan $ZnCl_2$ sebagai media ekstraksi klorofil daun pandan terhadap stabilitas warna dan kadar klorofil ekstrak yang dihasilkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi $ZnCl_2$ sebagai media ekstraksi klorofil yang tepat sehingga diperoleh ekstrak klorofil daun pandan yang memiliki warna lebih stabil dan berkadar klorofil tinggi.

Bahan dan metode

Bahan dan alat

Bahan utama penelitian ini adalah daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) segar pada ruas nomor 13-18 yang diperoleh dari daerah Pandak, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Pelarut yang digunakan sebagai media ekstraksi klorofil pandan adalah aquades dan $ZnCl_2$ (Merck), sedangkan bahan kimia untuk analisis adalah aquades dan aseton (Merck). Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender merk philips, oven memert, timbangan analitik (Analytical Balance OHAUS PIONER PX224E), micro pipet, Colorimeter NH300, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV mini-240), vortex merk Thermo scientific model M37610-33 dan muffle merk Furnance 48000.

Metode penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimental yang dilakukan di laboratorium. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor perlakuan konsentrasi $ZnCl_2$ dengan 4 taraf antara lain 0, 500, 750, dan 1000 ppm. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Data dalam penelitian ini diolah dengan analisis statistik One Way ANOVA

pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Pengujian dilakukan menggunakan software IBM Statistical Program for Social Science (SPSS) version 25.

Pelaksanaan penelitian

a. Ekstraksi Klorofil

Ekstraksi klorofil dilakukan sesuai dengan metode Wijaya et al. (2024). Proses ekstraksi klorofil daun pandan mulai dari pemanenan daun pandan yang memiliki kadar klorofil tertinggi yaitu pada ruas no: 13-18 (Suryani et al., 2020). Daun pandan dipanen dari tanaman pandan yang berumur lebih dua tahun (Mataliana et al., 2015). Tahap selanjutnya daun pandan segar dilakukan penyortiran dengan kriteria kondisi daun masih utuh, tidak layu, tidak rusak, lalu dipisahkan dari batang dan tangkainya yang keras serta daun yang kuning berbintik putih atau rusak dipisahkan dan dibuang, kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir dan ditiriskan. Daun pandan dipotong dengan ukuran ± 2 cm dan ditimbang sebanyak 100 g untuk masing-masing perlakuan. Ekstraksi daun pandan menggunakan larutan ZnCl_2 sebagai media ekstraksi pada konsentrasi 0, 500, 750, dan 1000 ppm. Perbandingan antara daun pandan dengan larutan ZnCl_2 adalah 100 g: 300 ml. Larutan ZnCl_2 dibuat dengan cara melarutkan bubuk ZnCl_2 sebanyak 0; 0.5; 0.75; dan 1.0 g dalam 100 ml aquades dengan pengadukan dan jika semua bubuk ZnCl_2 telah larut, kemudian ditambah aquades hingga 1000 ml dan diaduk kembali hingga homogen. Daun pandan dalam larutan ZnCl_2 dihancurkan dengan blender selama 3 menit. Hancuran daun pandan kemudian disaring dengan kain blacu (200 mesh). Ekstrak klorofil yang diperoleh disimpan dalam botol gelap.

b. Pembentukan Kompleks Zn-klorofil

Ekstrak daun pandan yang sudah disaring kemudian dipanaskan dengan autoklaf pada suhu 110°C selama 15 menit agar kompleks antara Zn dengan feofitin dapat terbentuk. Tujuan pemanasan dengan autoklaf adalah untuk meningkatkan efektivitas pembentukan kompleks metaloklorofil (Suryani et al., 2023).

c. Analisis Data

Pengukuran warna ekstrak klorofil daun pandan dilakukan secara objektif dengan metode sistem hunter menggunakan alat Colorimeter tipe NH300 dimensi $205 \times 70 \times 100$ mm (Pathare et al., 2013). Ekstrak klorofil daun pandan dianalisis kadar abu dengan metode pengabuan kering (dry ashing) (AOAC, 2005), kadar klorofil total dengan metode Vernon (Nikolaeva et al., 2010), kadar karotenoid dengan metode spektrofotometri (Khandaker et al., 2012)

Stabilitas warna pada ekstrak daun pandan diukur sesuai dengan metode Ngamwonglumlert et al. (2017), menggunakan alat colorimeter tipe NH300 dengan parameter warna L, a, dan b. Warna diukur sebelum dan sesudah pemanasan pada inkubator pada suhu 50°C selama 24 jam dengan volume sampel ekstrak masing-masing 5 ml dengan tiga kali ulangan. Data yang diperoleh meliputi nilai Δa merupakan selisih antara nilai a sebelum dan sesudah pemanasan, nilai Δb merupakan selisih antara nilai b sebelum dan sesudah pemanasan dalam inkubator, dan nilai ΔL merupakan selisih antara nilai L sebelum dan sesudah pemanasan dalam inkubator. Stabilitas warna ekstrak klorofil (ΔE) ditentukan menggunakan rumus berikut:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2} + \Delta L^{*2}}$$

Hasil dan pembahasan

Warna

Hasil pengujian warna diketahui bahwa variasi konsentrasi ZnCl_2 sebagai media ekstraksi berpengaruh nyata terhadap intensitas warna Lightness (L^*), Greenness ($-a^*$), dan Yellowness (b^*) ekstrak klorofil daun pandan ($p < 0,05$) yang disajikan pada **Tabel 1**.

a. Lightness (L^*)

Kisaran nilai lightness (L^*) antara 0-50 merupakan kisaran rendah dan menunjukkan warna gelap, sedangkan pada kisaran tinggi antara 51-100 menunjukkan warna cerah (Anonim, 2008). Hasil penelitian pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ZnCl_2 sebagai media ekstraksi berpengaruh nyata terhadap tingkat kecerahan (L^*) ekstrak daun pandan yang dihasilkan ($p < 0,05$). Tingkat kecerahan paling tinggi pada konsentrasi 0 dan 500 ppm sebesar $34,68 \pm 0,28$ dan $34,65 \pm 0,23$. Tingkat kecerahan paling rendah pada konsentrasi ZnCl_2 750 dan 1000 ppm sebesar $33,58 \pm 0,11$ dan $33,59 \pm 0,12$.

Tingkat kecerahan ekstrak klorofil daun pandan menurun pada konsentrasi 750 dan 1000 ppm. Hal ini disebabkan karena pembentukan kompleks Zn-klorofil yang lebih banyak mengakibatkan warna yang dihasilkan semakin hijau (Fathurrohman et al., 2023; Putra et al., 2023). Menurut Roca et al. (2016) klorofil merupakan pigmen warna hijau yang cenderung kurang terang atau gelap. Tingkat kecerahan pada ekstrak klorofil daun pandan berbanding terbalik dengan jumlah klorofil, semakin tinggi nilai klorofil maka intensitas warna hijaunya semakin tinggi (pekat), sehingga tingkat kecerahan ekstrak semakin menurun.

Tabel 1. Intensitas warna Lightness (L^*), Greenness ($-a^*$), dan Yellowness (b^*) ekstrak daun pandan dengan berbagai konsentrasi ZnCl_2

Konsentrasi ZnCl_2 (ppm)	Parameter warna		
	L^*	$-a^*$	b^*
0	$34,68 \pm 0,28^b$	$-1,17 \pm 0,10^b$	$3,02 \pm 0,47^c$
500	$34,65 \pm 0,23^b$	$-1,46 \pm 0,31^b$	$1,63 \pm 0,28^{ab}$
750	$33,58 \pm 0,11^a$	$-2,55 \pm 0,31^a$	$1,50 \pm 0,44^a$
1000	$33,59 \pm 0,12^a$	$-2,98 \pm 0,13^a$	$2,31 \pm 0,21^b$

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

b. Greenness ($-a^*$)

Parameter warna a^* mewakili intensitas warna merah hingga hijau dengan kisaran +60 merah dan -60 hijau. Nilai a positif (+) menunjukkan intensitas warna merah, sedangkan nilai a negatif (-) menunjukkan intensitas warna hijau. Data pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ZnCl_2 sebagai media ekstraksi berpengaruh nyata terhadap intensitas warna hijau ($-a^*$) ekstrak daun pandan yang dihasilkan ($p < 0,05$). Semakin tinggi konsentrasi ZnCl_2 maka intensitas warna hijau semakin tinggi, namun intensitas warna hijau ekstrak pada konsentrasi ZnCl_2 1000 ppm tidak berbeda nyata dengan 750 ppm. Intensitas warna hijau ($-a^*$) pada ekstrak klorofil daun pandan paling tinggi dihasilkan pada konsentrasi ZnCl_2 750 sebesar $-2,55 \pm 0,31$ dan tidak berbeda nyata pada konsentrasi 1000 ppm yaitu $-2,98 \pm 0,13$. Semakin besar konsentrasi ZnCl_2 maka semakin banyak terjadi kompleks antara feofitin dengan ion Zn^{2+} sehingga intensitas warna hijau semakin meningkat. Hal ini karena kemampuan mengikat Zn dari feofitin menjadi Zn-feofitin terbatas karena secara teoritis Zn yang

dapat diikat adalah 7% (70 mg/g) dari massa klorofil a dan 6,89% (68,9 mg/g) dari massa klorofil b (Bohn et al., 2004) sehingga pada konsentrasi lebih dari 750 ppm diduga pembentukan kompleks Zn-feofitin tidak bertambah.

Semakin besar konsentrasi ZnCl_2 maka nilai negatif a semakin besar. Hal ini menunjukkan intensitas warna hijau ($-a^*$) semakin tinggi. Menurut (Fathurrohman et al., 2023) semakin tinggi konsentrasi ZnCl_2 , pembentukan kompleks Zn-klorofil semakin banyak, sehingga warna lebih hijau. Sebaliknya tanpa larutan ZnCl_2 (0 ppm) lebih banyak terjadi degradasi lanjutan feofitin menjadi feoforbid yang berwarna kecoklatan sehingga intensitas warna hijau rendah.

c. *Yellowness* (b^*)

Parameter nilai b^* menunjukkan intensitas warna kuning sampai biru. Data pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ZnCl_2 sebagai media ekstraksi berpengaruh nyata terhadap intensitas warna kuning (b^*) ekstrak daun pandan ($p < 0,05$). Intensitas warna kuning (b^*) pada ekstrak klorofil daun pandan paling tinggi pada konsentrasi ZnCl_2 0 ppm sebesar $3,02 \pm 0,47$. Intensitas warna kuning (b^*) pada ekstrak klorofil daun pandan menurun pada konsentrasi ZnCl_2 500 dan 750 ppm, namun pada konsentrasi ZnCl_2 1000 ppm meningkat kembali. Hal ini diduga pada konsentrasi ZnCl_2 1000 ppm, residu Cl_2 dalam air semakin tinggi sehingga kemungkinan besar akan mengoksidasi klorofil. Cl_2 yang dilepaskan dalam air dapat membentuk hipoklorit dan bertindak sebagai oksidator, sehingga intensitas warna kuning meningkat (Fathurrohman et al., 2023). Klorofil merupakan senyawa yang sangat sensitif, klorofil mudah terdegradasi oleh asam, panas dan cahaya membentuk feofitin yang berwarna kuning kecoklatan. Selain itu warna kuning dari ekstrak klorofil daun pandan juga dipengaruhi oleh kadar karotenoid dengan kandungan yang utama adalah β -karoten yang berwarna kuning atau oranye (Mihrani et al., 2022).

Sifat Kimia

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak klorofil daun pandan menggunakan berbagai variasi konsentrasi ZnCl_2 dihasilkan kadar abu, kadar klorofil, dan kadar karotenoid ditunjukkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Kadar abu (g/100 ml), kadar klorofil (mg/L), dan kadar karotenoid ($\mu\text{mol/L}$) ekstrak daun pandan pada berbagai konsentrasi larutan ZnCl_2 sebagai media ekstraksi

Konsentrasi ZnCl_2 (ppm)	Kadar abu (g/100 ml)	Kadar klorofil (mg/L)	Kadar karotenoid ($\mu\text{mol/L}$)
0	$0,09 \pm 0,46^a$	$110,43 \pm 2,24^a$	$0,30 \pm 0,009^c$
500	$0,09 \pm 0,03^a$	$108,16 \pm 0,46^a$	$0,22 \pm 0,001^a$
750	$0,19 \pm 0,04^b$	$111,25 \pm 0,01^a$	$0,29 \pm 0,001^b$
1000	$0,13 \pm 0,04^{ab}$	$125,35 \pm 3,97^b$	$0,40 \pm 0,003^d$

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

a. *Kadar Abu*

Proses pembentukan kompleks Zn-feofitin selama proses ekstraksi klorofil akan mempengaruhi komposisi mineral dalam ekstrak sehingga dapat memengaruhi kadar abu ekstrak klorofil. Data pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ZnCl_2 sebagai media ekstraksi berpengaruh nyata terhadap kadar abu ekstrak daun pandan yang dihasilkan ($p < 0,05$). Kadar abu ekstrak klorofil daun

pandan tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi ZnCl_2 750 dan 1000 ppm sebesar 0,19 g/100 ml dan 0,13 g/100 ml, sedangkan kadar abu terendah dihasilkan pada konsentrasi 0 dan 500 ppm. Menurut Farmakope Herbal Indonesia, kadar abu ekstrak daun tidak boleh melebihi 10,2 % (Anonim, 2010) sehingga kadar abu ekstrak klorofil daun pandan yang dihasilkan masih memenuhi standar.

Kadar abu ekstrak klorofil daun pandan meningkat pada konsentrasi ZnCl_2 750 dan 1000 ppm. Hal ini disebabkan karena pembentukan kompleks dengan Zn akan meningkatkan kadar abu (Boguta & Sokołowska, 2020). Namun pada konsentrasi 1000 ppm tidak berbeda nyata, hal ini karena kemampuan pembentukan kompleks Zn-klorofil dibatasi oleh jumlah klorofil dalam sampel, sehingga jika semua klorofil telah mengikat Zn, maka kelebihan Zn akan diikat terikat oleh komponen lain seperti serat (Wei et al., 2023).

b. *Kadar Klorofil*

Klorofil memiliki peran penting bagi tumbuhan untuk melakukan fotosintesis dan menghasilkan energi. Sifat fisik klorofil adalah menerima dan atau memantulkan cahaya dengan gelombang yang berbeda. Klorofil banyak menyerap sinar dengan panjang gelombang antara 400-700 nm, terutama sinar merah dan biru. Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa variasi konsentrasi ZnCl_2 sebagai media ekstraksi berpengaruh nyata terhadap kadar klorofil total ekstrak daun pandan yang dihasilkan ($p < 0,05$). Kadar klorofil total ekstrak daun pandan wangi tertinggi dihasilkan pada konsentrasi ZnCl_2 1000 ppm sebesar $125,35 \pm 3,97$ mg/L.

Menurut Suryani et al. (2023) pembentukan senyawa kompleks dengan pengikatan Zn dipengaruhi oleh konsentrasi yang digunakan. Konsentrasi ZnCl_2 yang tinggi menyebabkan kadar klorofil yang dihasilkan tinggi, namun pada konsentrasi 0, 500, dan 750 ppm belum berpengaruh secara signifikan. Pada konsentrasi ZnCl_2 1000 ppm, kadar klorofil ekstrak klorofil daun pandan meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa penggantian ion Mg^{2+} dengan Zn^{2+} dapat membentuk kompleks metaloklorofil yang mampu mempertahankan warna hijau klorofil, sehingga kadar klorofil total dapat dipertahankan (Kang et al., 2019). Hal ini juga sesuai dengan pendapat Zhong et al. (2021) bahwa kestabilan klorofil meningkat akibat pengikatan logam oleh klorofil.

Kadar klorofil yang tinggi selain dipengaruhi oleh konsentrasi ZnCl_2 , juga dipengaruhi oleh tingkat ketuaan daun pandan. Daun pandan yang paling baik sebagai sumber klorofil adalah daun pandan tua pada ruas daun ke 13-18 karena memiliki kadar klorofil tertinggi dan ukuran mesofil terbesar. Daun pandan tua mempunyai kadar klorofil 623,08 mg/100 g bk dengan intensitas warna hijau yang tinggi yaitu -12,52 (Suryani et al., 2020).

c. *Kadar Karotenoid*

Karotenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dari tumbuhan dan digunakan sebagai pewarna alami bahan pangan serta nutrasetikal (Maleta et al., 2018). Karotenoid dapat berperan sebagai antioksidan (Pérez-gálvez et al., 2020). Data pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ZnCl_2 sebagai media ekstraksi berpengaruh nyata terhadap kadar karotenoid ekstrak daun pandan yang dihasilkan ($p < 0,05$). Kadar karotenoid ekstrak klorofil daun pandan pada konsentrasi ZnCl_2 500 ppm menurun. Hal ini karena diduga karena pada konsentrasi ZnCl_2 500 ppm, jumlah ion Zn^{2+} belum mencukupi untuk berikatan dengan klorofil dan karotenoid sehingga banyak senyawa karotenoid yang terdegradasi sehingga kadar karotenoid menurun (Aryayustama et al., 2018).

Kadar karotenoid ekstrak klorofil daun pandan pada konsentrasi ZnCl_2 750 dan 1000 ppm meningkat kembali dan tertinggi pada konsentrasi ZnCl_2 1000 ppm yaitu $0,40 \pm 0,003$ $\mu\text{mol/L}$.

Ekstraksi klorofil dengan media larutan ZnCl_2 pada konsentrasi tinggi diduga dapat menghambat degradasi karotenoid. Menurut Rahmalia et al. (2023), kompleks karotenoid dengan ion logam Zn memiliki stabilitas yang lebih baik, karena Zn bersifat sebagai katalisator redoks dan hanya memiliki satu valensi serta tidak dapat teroksidasi.

Stabilitas Warna

Degradasi klorofil dapat menurunkan intensitas warna dari hijau menjadi kecoklatan akibat adanya perlakuan selama proses pengekstrakan klorofil seperti pemanasan menggunakan autoklaf. Hal tersebut disebabkan karena klorofil bersifat mudah terdegradasi oleh suhu panas dan cahaya (Simpson et al., 2012). Hasil analisis statistik stabilitas warna (ΔE^*) disajikan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Stabilitas Warna (ΔE) pada berbagai konsentrasi larutan ZnCl_2 ekstrak klorofil daun pandan sebagai media ekstraksi

Konsentrasi ZnCl_2 (ppm)	Stabilitas warna (ΔE)
0	$5,09 \pm 0,30^c$
500	$6,44 \pm 0,22^d$
750	$3,62 \pm 0,25^b$
1000	$2,17 \pm 0,35^a$

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Berdasarkan **Tabel 3** diketahui bahwa hasil uji stabilitas warna ekstrak daun pandan pada berbagai konsentrasi ZnCl_2 sebagai media ekstraksi berbeda nyata ($p < 0,05$). Stabilitas warna ekstrak klorofil daun pandan pada konsentrasi ZnCl_2 500 ppm lebih tinggi dibandingkan dengan 0 ppm, hal ini diduga karena pembentukan kompleks Zn-klorofil pada konsentrasi ZnCl_2 500 ppm tidak maksimal dan menyebabkan warna kurang stabil.

Nilai ΔE pada konsentrasi ZnCl_2 500 ppm sampai 1000 ppm semakin rendah. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ZnCl_2 maka stabilitas warna ekstrak daun pandan semakin stabil. Stabilitas warna tertinggi ditunjukkan pada ekstrak daun pandan dengan konsentrasi ZnCl_2 1000 ppm yaitu sebesar $2,17 \pm 0,35$. Konsentrasi ZnCl_2 semakin besar menyebabkan laju degradasi klorofil semakin rendah. Hal ini karena semakin besar konsentrasi ZnCl_2 maka pembentukan kompleks Zn-klorofil semakin banyak sehingga klorofil semakin stabil selama pemanasan pada suhu 50°C sehingga penurunan intensitas warna hijau semakin kecil. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Canjura et al. (1999) yang membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi reagen pembentuk kompleks metaloklorofil maka semakin banyak senyawa kompleks Zn-klorofil yang terbentuk dan semakin hijau warna buah atau daunnya.

Kesimpulan

Untuk memperoleh ekstrak klorofil daun pandan dengan intensitas warna hijau tinggi dan stabil dapat dilakukan dengan proses ekstraksi menggunakan larutan ZnCl_2 1000 ppm. Ekstrak klorofil daun pandan yang dihasilkan mempunyai nilai ΔE $2,17 \pm 0,35$, kadar klorofil $125,35 \pm 3,97$ mg/L, kadar abu $0,13 \pm 0,04$ g/100 ml, kadar karotenoid $0,40 \pm 0,003$ $\mu\text{mol/L}$, dan intensitas warna hijau $-2,98 \pm 0,13$. Ekstrak klorofil daun pandan tersebut potensial sebagai pewarna alami yang stabil.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemendikbudristek dan Universitas Mercu Buana Yogyakarta yang telah membiayai dan memfasilitasi penelitian ini melalui pendanaan hibah PKM RE tahun 2023 dan dana pendampingan UMBY tahun 2024.

Daftar pustaka

- Anjani, P. P., Andrianty, S., & Widyaningsih, T. D. (2015). Effect of Addition of Fragrant Pandanus and Cinnamon in Herbal Tea by Peel of Snake Fruit for Diabetic. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(1), 203–214.
- Anonim. (2008). Hunter L, a, b Color Scale. Application Note, 8(9), 1–4. <https://doi.org/10.1128/AEM.02997-13>
- Anonim. (2010). Suplemen Farmakope Herbal Indonesia 2010. Kementerian Kesehatan RI.
- [AOAC] Association of Official Analytical. (2005). Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC, Washington.
- Aryayustama, M., Wartini, N., & Suwariani, N. (2018). Stabilitas Kadar Karotenoid Ekstrak Buah Pandan (*Pandanus tectorius*) pada Cahaya dan Suhu Penyimpanan. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 6, 218. <https://doi.org/10.24843/JRMA.2018.v06.i03.p05>
- Bakac, E. R., Percin, E., Gunes-Bayir, A., & Dadak, A. (2023). A Narrative Review: The Effect and Importance of Carotenoids on Aging and Aging-Related Diseases. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 20). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms242015199>
- Boguta, P., & Sokołowska, Z. (2020). Zinc binding to fulvic acids: Assessing the impact of pH, metal concentrations and chemical properties of fulvic acids on the mechanism and stability of formed soluble complexes. *Molecules*, 25(6). <https://doi.org/10.3390/molecules25061297>
- Bohn, T., Walczyk, T., Leisibach, S., & Hurrell, R. F. (2004). Chlorophyll-bound magnesium in commonly consumed vegetables and fruits : Relevance to magnesium nutrition. *Journal of Food Science*, 69(9), 347–350.
- Canjura, F. L., Watkins, R. H., & Schwartz, S. J. (1999). Color improvement and metallo-chlorophyll complexes in continuous flow aseptically processed peas. *Journal of Food Science*, 64(6), 987–990. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb12265.x>
- Canjura, F., Schwartz, S., & Nunes, R. (2006). Degradation Kinetics of Chlorophylls and Chlorophyllides. *Journal of Food Science*, 56, 1639–1643. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb08660.x>
- Dwipayana, I. M., Wartini, N. M., & Wrasati, L. P. (2019). Pengaruh Perbandingan Bahan Pelarut dan Lama Ekstraksi terhadap Karakteristik Ekstrak Pewarna Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 571. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p09>
- Ebrahimi, P., Shokramaji, Z., Tavakkoli, S., Mihaylova, D., & Lante, A. (2023). Chlorophylls as Natural Bioactive Compounds Existing in Food By-Products: A Critical Review. *Plants*, 12(7), 1–12. <https://doi.org/10.3390/plants12071533>
- Faras, A. F., Wadkar, S. S., & Ghosh, J. S. (2014). Effect of leaf extract of *pandanus amaryllifolius* (Roxb.) on growth of *Escherichia coli* and *Micrococcus* (*Staphylococcus*) *aureus*. *International Food Research Journal*, 21(1), 421–423.
- Fathurrohman, N. N., Murti, S. T. C., & Suryani, C. L. (2023a). Effect of Zn–chlorophyll Complexes Formation on the Color Stability of Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) Leaf Extract. *Food Science and Technology (United States)*, 11(3), 161–167. <https://doi.org/10.13189/fst.2023.110304>

- Fathurrohman, N. N., Murti, S. T. C., & Suryani, C. L. (2023b). Effect of Zn–chlorophyll Complexes Formation on the Color Stability of Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) Leaf Extract. *Food Science and Technology (United States)*, 11(3), 161–167. <https://doi.org/10.13189/fst.2023.110304>
- Hassan, I., Ahmad Khan, R., Al-Tamimi, J., Ebaid, H., Mabood Husain, F., & Alhazza, I. M. (2023). Comparative efficacy of ternary Cu (II) complex and Zn (II)-complex in amelioration of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in vivo. *Journal of King Saud University - Science*, 35(1). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102420>
- Kang, Y. R., Lee, Y. K., Kim, Y. J., & Chang, Y. H. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. *Food Chemistry*, 272(March 2018), 337–346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.063>
- Khandaker, M. M., Boyce, A. N., Osman, N., & Hossain, A. B. M. S. (2012). Physiochemical and phytochemical properties of wax apple (*Syzygium samarangense* [Blume] Merrill & L. M. Perry var. Jambu Madu) as affected by growth regulator application. *The Scientific World Journal*, 2012, 1–13. <https://doi.org/10.1100/2012/728613>
- Malabadi, R. B., Kolkar, K. P., & Chalannavar, R. K. (2022). Plant Natural Pigment Colorants-Health Benefits: Toxicity of Synthetic or Artificial Food Colorants. *International Journal of Innovation Scientific Research and Review*, 04(10), 3418–3429.
- Maleta, H. S., Indrawati, R., Limantara, L., & Brotosudarmo, T. H. P. (2018). Various Carotenoid Extraction Methods from Sources of Plants in Recent Decade (Review Paper). *Jurnal Rekayasa Kimia & Lingkungan*, 13(1), 40–50.
- Mataliana, N. G. A., Yudhari, I. D. A. S., & Dewi, I. A. L. (2015). Keragaan usahatani pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* roxb) di Subak Tegenungan Desa Kemenuh Kecamatan Sukawati Kabupaten Gianyar. *E-Jurnal Agribisnis Dan Agrowisata*, 4(1), 1–9.
- Mihrani Mihrani, Anzar Anzar, & Muhammad Azhar. (2022). Use of Pandan Wangi Leaf Extract (*Pandanus amaryllifolius*) in Drinking Water on the Quality of Broiler Chicken Meat. *Jurnal Triton*, 13(2), 264–271. <https://doi.org/10.47687/jt.v13i2.273>
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2017). Molecular structure, stability and cytotoxicity of natural green colorants produced from *Centella asiatica* L. leaves treated by steaming and metal complexations. *Food Chemistry*, 232, 387–394. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.034>
- Ngete, A. F., Rara, I., & Mutiara, F. (2020). Penggunaan Pewarna Alami Sebagai Upaya Meningkatkan Kualitas Kesehatan the Use of Natural Color As an Effort To Improve Health Quality. *Jurnal Kesehatan Tujuh Belas (Jurkes TB)*, 1(2), 130–136.
- Nikolaeva, M. K., Maevskaya, S. N., Shugaev, A. G., & 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 of Plant Physiology*, 57(1), 87–95. <https://doi.org/10.1134/S1021443710010127>
- Ningrum, A., Minh, N. N., & Schreiner, M. (2015). Carotenoids and Norisoprenoids as Carotenoid Degradation Products in Pandan Leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *International Journal of Food Properties*, 18(9), 1905–1914. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.971186>
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36–60. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
- Pérez-gálvez, A., Viera, I., & Roca, M. (2020). Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. In *Antioxidants* (Vol. 9, Issue 6, pp. 1–39). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox9060505>

- Putra, D. A., Suryani, C. L., & Fitri, I. A. (2023). Pengaruh Konsentrasi $ZnCl_2$ dan Metode Pemanasan terhadap Karakteristik Serbuk Simplisia Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Journal of Food and Agricultural Technology*, 1(1), 32–46. <https://doi.org/10.26486/jfat.v1i1.3477>
- Rachmawati, W., Ramdanawati, L., Tinggi, S., Bandung, F., Soekarno Hatta, J., & Bandung, C. (2020). Pengembangan Klorofil dari Daun Singkong Sebagai Pewarna Makanan Alami, *Pharmacoscift*, 2(2), 87-98.
- Roca, M., Chen, K., & Pérez-Gálvez, A. (2016). Chlorophylls. In R. Carle & R. M. Schweiggert (Eds.), *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages: Industrial Applications for Improving Food Color* (125–158). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00006-3>
- Simpson, B. K., Benjakul, S., & Klomklao, S. (2012). Natural Food Pigments. In Benjamin K., Simpson, Leo M.L., Nollet, Fidel Toldr'a, Soottawat Benjakul, Gopinadhan Paliyath, & Y.H. Hui (Eds.), *Food Biochemistry and Food Processing: Second Edition* (2nd ed., pp. 704–722). John Wiley & Sons, Inc. Published. <https://doi.org/10.1002/9781118308035.ch37>
- Singh, A., Singh, A. P., & Ramaswamy, H. S. (2015). Effect of processing conditions on quality of green beans subjected to reciprocating agitation thermal processing. *Food Research International*, 78, 424–432. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.040>
- Stich, E. (2016). Food Color and Coloring Food: Quality, Differentiation and Regulatory Requirements in the European Union and the United States. Quality, Differentiation and Regulatory Requirements in the European Union and the United States. In *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages: Industrial Applications for Improving Food Color*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00001-4>
- Suryani, C., Wahyuningsih, T. D., Supriyadi, & Santoso, U. (2020). The potential of mature pandan leaves as a source of chlorophyll for natural colorants. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 32(2).
- Suryani, L., Putra, D. A., & Fitri, I. A. (2023). Pengaruh Konsentrasi $ZnCl_2$ dan Metode Pemanasan terhadap Karakteristik Serbuk Simplisia Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Journal of Food and Agricultural Technology*, 1(1), 32–46. <https://doi.org/10.26486/jfat.v1i1.3477>
- 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.
- Wei, C., Wang, X., Jiang, X., & Cao, L. K. (2023). Preparation of quinoa bran dietary fiber-based zinc complex and investigation of its antioxidant capacity in vitro. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1183501>
- Wijaya, N. R., Nikmah, M., Umah Fifin Afifah, Z., Aida Sofiani, N., Suryani, C. L., & Perwita Sari, Y. (2024). Peningkatan Kualitas Sifat Fisik dan Kadar Klorofil dari Pasta Pandan Melalui Variasi Konsentrasi $ZnCl_2$ sebagai Media Ekstraksi dan Jenis Bahan Pengisi. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian, Agrisaintifika*, 8(1), 1–9.
- Winda Rahmalia, Prayitno, D. I., Adhitiyawardman, & Septiani. (2023). Sintesis dan Uji Fotostabilitas Kompleks $Zn(II)$ -Astaxanthin. *Jurnal Riset Kimia*, 14(1), 52–60. <https://doi.org/10.25077/jrk.v14i1.568>
- Zhong, S., Bird, A., & Kopec, R. E. (2021). The Metabolism and Potential Bioactivity of Chlorophyll and Metallo-chlorophyll Derivatives in the Gastrointestinal Tract. In *Molecular Nutrition and Food Research* (Vol. 65, Issue 7). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202000761>