

# UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DPPH DAN AKTIVITAS TERHADAP *ARTEMIA SALINA* LEACH EKSTRAK ETANOL 96% DAUN SELEDRI (*Apium graveolens* L.)

P. Wulandari<sup>1</sup>, Herdini<sup>1</sup>, A. Yumita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional Jakarta

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan DPPH dan aktivitas terhadap *Artemia Salina* Leach ekstrak etanol 96% daun seledri (*Apium graveolens* L.). Bahan uji adalah daun seledri (*Apium graveolens* L.) dikenal sebagai penambah aroma pada masakan dan manfaat lainnya yaitu sebagai penangkapan radikal bebas. Hasil penapisan fitokimia pada serbuk daun seledri (*Apium graveolens* L.) menunjukkan adanya kandungan kimia seperti flavonoid, saponin dan minyak atsiri. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi serbuk daun seledri didalam pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan aktivitas terhadap *Artemia Salina* Leach dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol 96% daun seledri (*Apium graveolens* L.) mempunyai aktivitas antioksidan dengan IC<sub>50</sub> sebesar 179,10 bpj dan bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia Salina Leach* dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 27,5 bpj.

Kata Kunci: daun seledri, antioksidan, DPPH, *Artemia Salina* Leach, BSLT.

## ABSTRACT

A research on the test DPPH antioxidant activity and activity against *Artemia Salina* Leach 96% ethanol extract of celery (*Apium graveolens* L.). The test material is celery (*Apium graveolens* L.) is known as an aroma enhancer in food and other benefits are as free radical scavenging. Phytochemical screening results in powder celery (*Apium graveolens* L.) shows that it contains chemicals such as flavonoids, saponins and essential oils. Manufacture of extracts made by maceration celery leaf powder in 96% ethanol for 3 x 24 hours. Testing of antioxidant activity with DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and activity against *Artemia Salina* Leach method BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). The results showed 96% ethanol extract of celery (*Apium graveolens* L.) has antioxidant activity with IC<sub>50</sub> of 179.10 ppm and is toxic to larval shrimp *Artemia Salina* Leach with LC<sub>50</sub> values of 27.5 ppm.

Keywords: celery, antioxidant, DPPH, *Artemia Salina* Leach, BSLT

## PENDAHULUAN

Penyakit degenerative seperti kanker, tekanan darah tinggi, penyakit gula darah, dan lain sebagainya semakin banyak di kalangan masyarakat. Pola hidup yang praktis dan serba instan, khususnya pada pemilihan makanan, memiliki dampak negatif bagi kesehatan. Makanan cepat saji dengan pemanasan tinggi dan pembakaran merupakan makanan yang sering dikonsumsi yang dapat memicu terbentuknya senyawa radikal bebas (Poumorad *et al*, 2006; Rahim, 2012). Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbit luarnya (Reyneton, 2007).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektrolit yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif (Prakash *et al*, 2001). DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Penghilangan warna ungu akan sebanding dengan jumlah elektron yang diambil oleh DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) sehingga dapat

diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 515 nm (Prakash *et al*, 2001; Watson, 2009).

Salah satu tanaman yang diduga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan adalah seledri (*Apium graveolens* L.). Seledri (*Apium graveolens* L.) termasuk dalam famili Apiaceae, tumbuhan ini banyak ditemukan dari daerah subtropik Eropa dan Asia, dan merupakan tanaman dataran tinggi pada ketinggian di atas 900 m dpl (Dalimartha, 2000). Seledri merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan seperti flavonoid, glikosida, apiin, apigenin, graveobioside A dan B, isoquercitrin, dan vitamin A, B, dan C (Dalimartha, 2000).

Sebelumnya telah dilakukan penelitian tentang seledri (*Apium graveolens* L.) yaitu skrining fitokimia, uji toksisitas metode BSLT dan uji aktivitas antioksidan metode DPPH ekstrak metanol dari 3 jenis tanaman suku apiaceae. Macam pelarut dan tingkat kepolaran pelarut yang dipakai dalam proses ekstraksi dapat mempengaruhi senyawa-senyawa kandungan yang tersari yang mungkin akan mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak yang didapat. Pelarut yang digunakan adalah etanol karena etanol adalah pelarut yang aman (Lusiana *et al*, 2014). Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol

96% daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan aktivitas terhadap *Artemia Salina* Leach. Dalam daun seledri (*Apium graveolens* L.) terdapat kandungan senyawa kimia seperti saponin dan flavonoid. Jenis pelarut pengeksktraksi juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar.

## METODE

### Tempat dan Waktu Penelitian.

Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Sains dan Teknologi Nasional Jakarta, Laboratorium Q-Lab Universitas Pancasila. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Mei 2015.

### Bahan

Simplisia daun seledri (*Apium graveolens* L.), Etanol 96% pro analisis, Aquadest, Amoniak (NH<sub>4</sub>OH 25%), Chloroform (CHCl<sub>3</sub>), Asam klorida, 4%(HCl), Pereaksi Bouchardart, pereaksi Dragendorff, Pereaksi Mayer, Aseton 10% pro analisis, Natrium Nitrit, Alumunium (III) klorida, Natrium hidroksida, Besi (III) klorida, Larutan gelatin, Eter pro analisis, petroleum eter, Anhidrida asetat, Asam sulfat pekat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), Metanol pro analisis, Vitamin C, DPPH, Air laut, Dimethyl sulfoxide 1%.

### Alat

Alumunium foil, blender, kertas saring, cawan penguap, penangas air, gelas piala, gelas ukur, pipet kaca, corong kaca, kaca arloji, tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmeyer, spatula, batang pengaduk kaca, timbangan analitik, rotary evaporator, labu ukur, pipet volume, balon pipet, vial, pipet mikro, spektrofotometer uv-vis, inkubator, bejana penetasan, aerator, selang aerasi, lampu uv 45 watt, kaca pembesar, botol gelap bersumbat, kuvet kuarsa, hair dryer.

### Pengujian Kandungan Senyawa Kimia

Serbuk daun seledri (*Apium graveolens* L.) dilakukan pengujian kandungan senyawa kimia yang meliputi pengujian alkaloida, flavonoida, saponin, tanin, steroid dan minyak atsiri.

### Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) dilakukan di Laboratorium Fitokimia Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN) Jakarta. Serbuk daun seledri (*Apium graveolens* L.) Metode ekstrak simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Pembuatan ekstrak etanol 95% dilakukan penimbangan sejumlah 600 g serbuk kering daun seledri *Apium graveolens* L. Direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 6 liter, sambil sesekali diaduk selama 24 jam, kemudian saring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat etanol serta residu, dalam tiga kali

perendaman, Filtrat pertama, kedua dan ketiga dicampurkan lalu diuapkan dengan evaporator putar vakum pada suhu 40 °C, sampai diperoleh destilat ekstrak etanol yang tidak keluar lagi. Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 65,21 gram.

### Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Seledri *Apium graveolens* L. Terhadap DPPH

Uji aktivitas penangkapan radikal bebas dari ekstrak *Apium graveolens* L. dilakukan dengan penangkapan radikal bebas menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif.

#### 1. Pembuatan Larutan DPPH (0,4 mM)

Sejumlah 7,9 mg DPPH (BM 394,32) ditimbang seksama dan dilarutkan dalam 50 mL metanol pro analisis (sebagai pelarut) lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur. Pengerjaan dilakukan pada wadah gelap dan kondisi yang terhindar dari cahaya (Harmita, 2006).

#### 2. Pembuatan Larutan Blangko

Larutan blanko yang digunakan adalah 1 mL DPPH dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan di tambahkan 5 mL metanol pro analisis dikocok hingga homogen dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Pengerjaan dilakukan pada wadah gelap dan kondisi yang terhindar dari cahaya (Harmita, 2006).

#### 3. Persiapan Larutan Uji

##### a. Pembuatan larutan Induk (Konsentrasi 500 bpj)

Sejumlah 5 mg ekstrak ditimbang seksama dan dilarutkan dalam 10 mL metanol pro analisis kemudian dikocok hingga homogen (Harmita, 2006).

##### b. Pembuatan Larutan Seri

Larutan ekstrak etanol dibuat dengan konsentrasi 5, 10, 25, 50, dan 100 bpj. Larutan induk dipipet sebanyak 50, 100, 250, 500, 1000 µL. Kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol pro analisis hingga 5 mL lalu dihomogenkan (Harmita, 2006).

##### c. Pengujian

Masing-masing larutan uji dipipet 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL DPPH lalu ditambahkan 5,0 mL metanol dikocok hingga homogen lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit dan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Harmita, 2006).

#### 4. Pembuatan Larutan Vitamin C

##### a. Pembuatan Larutan Induk (Konsentrasi 500 Bpj)

Sejumlah 5 mg vitamin C ditimbang seksama dan dilarutkan dalam 10,0 ml metanol pro analisis kemudian dikocok hingga homogen (Harmita, 2006).

#### b. Pembuatan Larutan Seri

Larutan vitamin C dibuat dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 bpj. dipipet masing-masing 20, 40, 60, 80, 100  $\mu$ L. Masukkan kedalam labu tentukur 5 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol pro analisis hingga 5 mL lalu dihomogenkan (Harmita, 2006).

#### c. Pengujian

Masing-masing larutan uji dipipet 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL DPPH lalu tambahkan 5 mL metanol pro analisis dan ditutup dengan aluminium foil dikocok hingga homogen, diinkubasi pada suhu 37  $^{\circ}$ C selama 30 menit dan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Harmita, 2006).

#### 5. Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan prosentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan dan didapatkan dari persamaan garis regresi linier  $y = a + bx$ . Nilai y diganti dengan angka 50, sehingga didapatkan nilai x yang menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> (Harmita, 2006).

#### Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dengan Metode BSLT

Tahapan-tahapan yang dilakukan dalam uji toksisitas ini adalah:

##### 1. Penetasan Telur *Artemia Salina* Leach

Penetasan telur *Artemia Salina* Leach dilakukan pada bejana penetasan khusus. Bejana penetasan dibagi menjadi dua bagian terang dan gelap oleh suatu sekat berlubang. Bagian gelap digunakan untuk meletakkan telur yang akan ditetaskan. Sekat berlubang menjadi jalan bagi larva yang telah lahir untuk bergerak secara alamiah ke arah terang. Selama penetasan diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar atau neon 40-60 watt agar suhu penetasan 25-30  $^{\circ}$ C tetap terjaga (Harmita, 2004).

Media penetasan telur menggunakan media air laut di mana air laut tersebut diperoleh dari toko aquarium air laut Bogor aquarium. Kadar oksigen yang dibutuhkan selama penetasan harus lebih dari 3 mg/L, sehingga media air laut harus diberi udara dengan bantuan aerator. Penetasan telur *Artemia Salina* Leach pada bejana penetasan. Bejana tersebut kemudian diberi air laut secara perlahan sampai setengah dari volume total. Bagian bejana yang berisi telur *Artemia Salina* Leach ditutup dengan aluminium foil kemudian ditempatkan di bawah sinar lampu dan aerator dihidupkan. Dalam waktu 24-36 jam biasanya telur telur sudah menetas menjadi larva disebut nauplii. Telur yang telah menetas akan menjadi larva yang kemudian akan berenang ke bagian kotak yang tidak tertutup oleh

aluminium foil, sedangkan cangkangnya akan tertinggal sehingga tidak mengganggu pada pengambilan larva uji BSLT. Nauplii aktif yang telah berumur 48 jam dapat digunakan sebagai hewan uji sebagai penelitian (Hamita, 2004).

#### 2. Pembuatan Larutan Uji

Pengujian dilakukan dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 1000, 500, 100, 50, dan 10 bpj.

##### a. Pembuatan Larutan Induk (2500 bpj)

Sejumlah 25 mg zat uji ditimbang kemudian dilarutkan dalam pelarut DMSO 1% (Sulfoxide Dimetil) dicukupkan volumenya dengan air laut hingga 10 ml dan dikocok hingga homogen. Larutan induk yang telah dilakukan pengenceran sehingga didapat konsentrasi 1000, 500, 100, 50, dan 10 bpj (Hamita, 2004).

##### b. Pembuatan Larutan Seri

###### Pembuatan larutan sampel konsentrasi 1000 bpj

Sebanyak 2000  $\mu$ L larutan induk dipipet ke dalam botol vial lalu ditambahkan air laut dan dicukupkan volumenya hingga 5 mL dan dikocok hingga homogen (Hamita, 2004).

###### Pembuatan larutan sampel konsentrasi 500 bpj

Sebanyak 1000  $\mu$ L larutan induk dipipet ke dalam botol vial lalu ditambahkan air laut dan dicukupkan volumenya hingga 5 mL dan dikocok hingga homogen (Mayorga *et al*, 2010; Anisa, 2011).

###### Pembuatan larutan sampel konsentrasi 100 bpj

Sebanyak 200  $\mu$ L larutan induk dipipet ke dalam botol vial lalu ditambahkan air laut dan dicukupkan volumenya hingga 5 mL dan dikocok hingga homogen (Mayorga *et al*, 2010; Anisa, 2011).

###### Pembuatan larutan sampel konsentrasi 50 bpj

Sebanyak 100  $\mu$ L larutan induk dipipet ke dalam botol vial lalu ditambahkan air laut dan dicukupkan volumenya hingga 5 mL dan dikocok hingga homogen (Mayorga *et al*, 2010; Anisa, 2011).

###### Pembuatan larutan sampel konsentrasi 10 bpj

Sebanyak 20  $\mu$ L larutan induk dipipet ke dalam botol vial lalu ditambahkan air laut dan dicukupkan volumenya hingga 5 mL dan dikocok hingga homogeny (Mayorga *et al*, 2010; Anisa, 2011).

#### 3. Pelaksanaan Uji Aktivitas

Pada masing-masing larutan dengan konsentrasi 1000, 500, 100, 50, dan 10 bpj, diambil 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam vial uji lalu diuapkan hingga kering dan tidak mengandung pelarut organik. Masing-masing konsentrasi dibuat dalam 3 vial. Dibuat juga 3 vial control yang hanya berisi sejumlah pelarut yang dimasukkan ke vial uji (0,5 mL) dan diuapkan dengan menggunakan hair dryer hingga kering. Setelah larutan uji kering, pada masing-masing vial ditambahkan sedikit air laut hingga sampel tercampur atau larut. Kemudian sepuluh ekor larva *Artemia Salina*

Leach. Dipindahkan kedalam masing-masing vial yang telah berisi senyawa uji. Pemindahan larva udang *Artemia Salina* Leach dilakukan dengan menggunakan pipet dan untuk membantu perhitungan larva udang *Artemia Salina* Leach yang dimasukkan ke dalam vial digunakan lampu sehingga larva *Artemia Salina* Leach lebih terlihat. Setelah larva *Artemia Salina* Leach dimasukkan, volume larutan dicukupkan sampai 5 mL dengan media air laut (Hamita, 2004).

#### 4. Pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam menggunakan kaca pembesar dan tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati (Hamita, 2004).

#### 5. Perhitungan nilai LC<sub>50</sub>

Nilai LC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan prosentase mortalitas larva dari masing-masing konsentrasi larutan sampel (Hamita, 2004).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Sampel Penelitian.

Daun seledri (*Apium graveolens* L.) diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah Obat (BALITTRO), Bogor, Jawa Barat. Sebelum ekstrak daun seledri dibuat, simplisia terlebih dahulu dideterminasi di Herbarium Bogoriense, LIPI, Cibinong, Bogor, Jawa Barat. Hasil determinasi membuktikan bahwa yang digunakan untuk bahan uji merupakan jenis *Apium graveolens* L., suku *Apiaceae*.

#### Pengujian Kandungan Senyawa Kimia.

Pemeriksaan kandungan senyawa kimia daun seledri (*Apium graveolens* L.) dilakukan untuk mengetahui zat-zat kimia di dalam (*Apium graveolens* L.) yang akan digunakan sebagai bahan uji, meliputi pemeriksaan kandungan alkaloida, flavonoid, saponin, tanin, steroid, minyak atsiri. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa daun seledri positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, minyak atsiri. Prinsip dari pengujian kandungan senyawa kimia daun seledri (*Apium graveolens* L.) adalah perubahan warna, pembentukan busa dan bau khas minyak atsiri. Pada identifikasi alkaloid, digunakan pereaksi pengendapan yang didasarkan pada kesanggupan alkaloid untuk bergabung dengan logam yang memiliki bobot atom tinggi seperti Hg, Bi, dan I. Pereaksi pengendapan yang digunakan adalah Bouchardart, Mayer dan Dragendorff. Sebelum direaksikan dengan ketiga pereaksi tersebut, serbuk dilarutkan terlebih dahulu dengan ammonium hidroksida dan diasamkan dengan asam klorida 4%. Suasana asam diperlukan untuk mengisolasi alkaloid bebas yang bersifat basa sehingga akan membentuk garam. Alkaloid dalam bentuk garamnya akan bereaksi dengan logam berat yang terkandung dalam ketiga pereaksi alkaloid tersebut. Hasil reaksi antara filtrat dengan Bouchardart adalah larutan coklat dengan tidak adanya endapan yang menunjukkan tidak ada alkaloid. Hasil reaksi antara filtrat dengan Mayer adalah berupa

larutan berwarna putih dengan tidak adanya alkaloid. Hasil reaksi antara filtrat dengan Dragendorff adalah berupa larutan berwarna merah bata dengan tidak adanya endapan. pada pengujian alkaloid mendapatkan hasil negatif tidak terdapat kandungan alkaloid.

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) yang telah ditimbang, kemudian dilarutkan dalam aseton 10% yang dimasukkan dalam tabung reaksi, hasil yang diperoleh berupa larutan hijau dan ditambahkan aquadest sebanyak 2 ml lalu kocok, warna tetap berwarna hijau tua. Larutan tersebut ditambahkan dengan larutan NaNO<sub>2</sub> 5% lalu dikocok, warna akan tetap sama seperti ekstrak dan didiamkan selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan AlCl<sub>3</sub> 10%, dikocok dan didiamkan selama 6 menit warna akan berubah menjadi keruh setelah itu ditambahkan NaOH 1M 2 ml, jika positif mengandung flavonoid warna akan berubah menjadi jingga. Pada pengujian flavonoid serbuk daun seledri (*Apium graveolens* L.) menunjukkan hasil positif dengan terjadinya perubahan warna menjadi jingga.

Identifikasi saponin dilakukan dengan cara melarutkan serbuk dengan air panas, setelah didinginkan, dikocok selama 10 detik yang kemudian terbentuknya buih setinggi 1,5 cm dan buih tidak hilang setelah ditambahkan asam klorida 2 N sebanyak 1 tetes. Saponin merupakan kelompok glikosida koloidal yang terdistribusi pada tumbuhan tingkat tinggi. Yang menyebabkan adanya busa dalam saponin adalah adanya glikosida saponin. Pada pengujian saponin menunjukkan hasil positif adanya busa setinggi 1,5 cm.

Identifikasi tanin atau fenol dilakukan dengan gelatin test dan FeCl<sub>3</sub> 1% pada gelatin 10% (gelatin test) pada filtrat akan membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Gelatin membuat terjadinya ikatan hidrogen dengan tanin. Namun, kompleks gelatin-tanin sangat tergantung pada PH. Penambahan FeCl<sub>3</sub> pada filtrat pada pengujian serbuk daun seledri (*Apium graveolens* L.) menunjukkan hasil negatif dengan terbentuknya warna coklat kehitaman.

Identifikasi steroid atau triterpenoid, dilakukan dengan mereaksikan filtrat dengan Lieberman Bouchard (asam asetat anhidrida-asam sulfat). Pada pengujian ini, harus dihindari adanya air karena air akan mengubah asam asetat anhidrida menjadi asam asetat sebelum reaksi berjalan. Serbuk seledri menunjukkan hasil negatif dengan terbentuknya warna hijau tua. Identifikasi minyak atsiri dilakukan dengan menambahkan 1 mL pelarut petroleum eter dan pasang corong (yang diberi lapisan kapas yang telah dibasahi dengan air) pada mulut tabung agar bau minyak atsiri tidak menguap, dipanaskan selama 20 menit dan didinginkan, kemudian saring. Filtrat diuapkan pada cawan penguap, residu berbau aromatik menunjukkan hasil positif senyawa golongan minyak atsiri.

**Tabel 1.** Hasil pemeriksaan kandungan senyawa kimia serbuk daun seledri (*Apium graveolens L.*)

No	Golongan senyawa Kimia	Hasil
1	Alkaloida	-
2	Flavonoida	+
3	Saponin	+
4	Tanin	-
5	Steroid	-
6	Minyak Atsiri	+

Keterangan : (+) = serbuk Daun seledri (*Apium graveolens L.*) mengandung golongan senyawa tersebut.

#### Esktraksi Daun Seledri (*Apium graveolens L.*)

Serbuk daun seledri (*Apium graveolens L.*) Selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi, Keuntungan cara penyarian dengan maserasi ini adalah cara pengerjaannya dan peralatan yang digunakan mudah diusahakan dan sederhana.(11) Dengan menggunakan pelarut yaitu dengan etanol 96% selama 3×24 jam. Tujuan digunakannya maserasi dengan pelarut etanol 96% adalah untuk menarik senyawa kimia yang bersifat polar. Pertama serbuk diekstraksi dengan etanol 96% beberapa kali hingga filtrat sudah berkurang warna hijau tuanya. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan evaporator putar vakum pada suhu 40 °C. Sehingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot 65,21 gram.

#### Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH

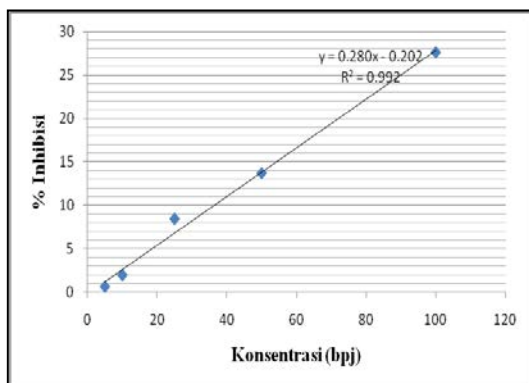
Metode DPPH dipilih karena memiliki banyak keuntungan dibandingkan dengan metode dengan metode uji aktivitas antioksidan lain diantaranya mudah, murah, paling umum digunakan secara in vitro, sederhana, cepat, memerlukan sampel dalam jumlah yang tidak terlalu banyak, tidak membutuhkan banyak reagen dan cocok untuk berbagai macam pelarut mulai dari nonpolar sampai polar. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Pada metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang direndam oleh senyawa antioksidan dari ekstrak yang diuji. Reaksi ini

menyebabkan terjadinya perubahan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Sehingga aktivitas antioksidan oleh bahan uji dapat diukur. Tahap awal dalam pengujian ini adalah optimasi panjang gelombang larutan DPPH 0,4 mM. Dari hasil optimasi tersebut didapatkan panjang gelombang maksimum sebesar 515 nm. Pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah sebagai parameter pengukuran baku pembandingan dan ekstrak tersebut. Semakin besar konsentrasi sampel maka semakin banyak elektron yang didonorkan untuk merendam radikal bebas yaitu DPPH, sehingga serapan yang diberikan semakin menurun tergantung dalam jumlah elektron yang diambil. Aktivitas penangkapan radikal bebas dinyatakan dengan Inhibition concentration 50% (IC<sub>50</sub>) yaitu konsentrasi sampel yang dapat merendam radikal bebas DPPH sebanyak 50 %. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan prosentase inhibisi terhadap radikal bebas DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel. Aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun seledri *Apium graveolens L.* memiliki nilai IC<sub>50</sub> dengan tingkat kekuatan antioksidan dengan intensitas sedang (101-250 µg/mL) yaitu 179,10 bpj. Sedangkan untuk pembandingan yaitu vitamin C memiliki nilai IC<sub>50</sub> tingkat kekuatan antioksidan dengan intensitas sangat kuat (< 50 µg/mL) sebesar 9,73 bpj.

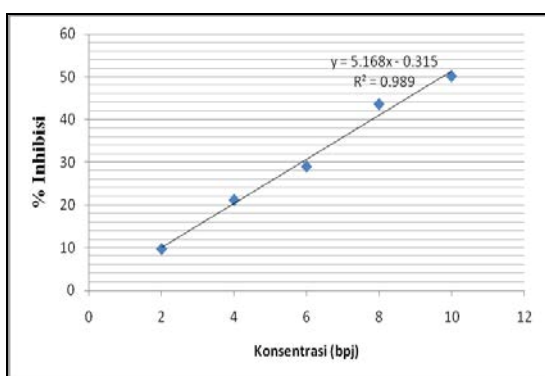
**Tabel 2.** Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun seledri *Apium graveolens L.* terhadap DPPH dengan Spektrofotometri UV-Vis.

No	Sampel	Konsentrasi (bpj)	Absorbansi (nm)	Inhibisi (%)	Persamaan Linier	IC <sub>50</sub> (bpj)
1	Larutan Blanko Vitamin C	-	0,445	-	-	-
	Larutan Blanko Ekstrak	-	0,819	-	-	-

2	Larutan Vitamin C	2	0,402	9,662	Y=5,168x-0,315 R <sup>2</sup> = 0,989	9,73
		4	0,351	21,123		
		6	0,316	28,988		
		8	0,251	43,595		
		10	0,222	50,112		
3	Larutan Ekstrak	5	0,814	0,610	Y=0,280x-0,202 R <sup>2</sup> = 0,992	179,10
		10	0,803	1,953		
		25	0,75	8,424		
		50	0,707	13,675		
		100	0,593	27,594		



**Gambar 1.** Grafik IC<sub>50</sub> Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% *Apium graveolens* L.

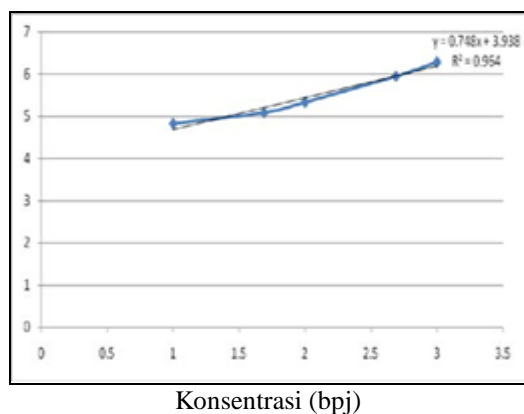


**Gambar 2.** Grafik IC<sub>50</sub> Aktivitas Antioksidan Standar Vitamin C.

Keaktifan suatu ekstrak ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub>, semakin kecil IC<sub>50</sub> nya maka semakin tinggi antioksidan yang terkandung di dalam tumbuhan tersebut. Dalam uji aktivitas antioksidan, suatu bahan uji dikatakan mempunyai aktivitas antioksidan jika memiliki nilai IC<sub>50</sub> < 500 bpj dan dikatakan memiliki tingkat kekuatan aktivitas antioksidan yang kuat jika memiliki nilai IC<sub>50</sub> < 50 µg/ml, dimana dalam penelitian ini ekstrak etanol 96% memiliki aktivitas antioksidan yang sedang (101-250 µg/mL). Grafik aktivitas antioksidan pada ekstrak daun seledri *Apium graveolens* L. maupun vitamin C menunjukkan dengan bertambahnya konsentrasi maka aktivitas antioksidan juga meningkat. Berdasarkan data diatas terlihat bahwa ekstrak etanol 96% daun seledri (*Apium graveolens* L.) memiliki nilai IC<sub>50</sub> sedang jika dibandingkan dengan vitamin C sebagai pembanding. Toksisitas ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% dari daun seledri *Apium graveolens* L. memiliki sifat toksik terhadap *Artemia Salina* Leach dengan nilai LC<sub>50</sub> yaitu 27,5 bpj. ketoksikkan suatu ekstrak ditunjukkan dengan nilai LC<sub>50</sub>, semakin kecil LC<sub>50</sub> nya <1000 µg/ml maka semakin toksik zat tersebut. Grafik aktivitas terhadap *Artemia Salina* Leach pada ekstrak etanol daun seledri *Apium graveolens* L. menunjukkan dengan bertambahnya konsentrasi maka jumlah kematian larva *Artemia Salina* Leach juga meningkat. Menurut Mayer, dkk (1982) suatu ekstrak memiliki sifat toksik ditunjukkan LC<sub>50</sub> <1000 µg/ml.

**Tabel 3.** Hasil Uji Toksisitas Terhadap *Artemia Salina* Leach Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.)

No.	Dosis Larutan Ekstrak (bpj)	Log dosis	Larva <i>Artemia Salina</i> Leach yang digunakan	Kematian Larva <i>Artemia Salina</i> Leach	Rata-rata Kematian	% Kematian	Probit	LC <sub>50</sub> (bpj)
1	10	1	10 10 10	13	4,33	43,3	4,82	
2	50	1,69	10 10 10	16	5,33	53,3	5,08	
3	100	2	10 10 10	19	6,33	63,3	5,33	27,5
4	500	2,69	10 10 10	25	8,33	83,3	5,95	
5	1000	3	10 10 10	27	9	90	6,28	



**Gambar 3.** Grafik Nilai LC<sub>50</sub> Uji Aktivitas Artemia Salina Leach Probit

Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan berdasarkan reaksi, tetapi terdapat juga metode lain dengan aktivitas antioksidan dengan mengetahui efek dari komponen-komponen dalam darah bila diberikan ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) salah satu contoh adalah metode dengan menggunakan sel darah domba. Ternyata secara empirik daun seledri *Apium graveolens* L. juga bisa digunakan untuk menurunkan asam urat dan perlu dilakukan pengujian (Dalimartha).

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol 96% pada daun seledri (*Apium graveolens* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan tingkat kekuatan antioksidan dengan intensitas sedang nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak etanol 96% daun seledri (*Apium graveolens* L.) adalah sebesar 179,10 bpj dan nilai IC<sub>50</sub> sangat kuat pada vitamin C adalah sebesar 9,73 bpj. Ekstrak etanol 96% pada daun seledri (*Apium graveolens* L.) memiliki sifat toksik terhadap larva *Artemia Salina Leach* dengan nilai LC<sub>50</sub> yaitu 27,5 bpj.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan I. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 2000. Hal 1-38.
- Anonim. Sediaan Galenik. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Depkes RI. Jakarta. 1986. Hal 1-27.
- Aruoma O I. Free Radicals and Antioxydant Strategies in Sports. J Nutr Biochem. Vol 5. No. 1. 1994. Hal 370-381.
- Buck DF. Antioxidants. Didalam: J. Smith, editor. Food Additive User's Handbook. UK: Blackie Academic & Profesional, Glasgow. 1991. Hal. 90.
- Dailami Muhammad. Skrining fitokimia dari daun dan batang seledri (*apium graveolens* l.), daun jambu biji (*psidium guajava* l.) , dan buah cabe (*capsicum annum* l.). Kimia FMIPA UNIPA. 2009. Hal 69-73.
- Dalimartha, Setiawan. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid II. PT. Trubus Agriwidya. Jakarta. 2000. Hal.172-174.
- Dayati S, Fadlia L. Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Sterculiaceae dengan Menggunakan Metode Tiosianat Secara In Vitro. Skripsi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. 2009. Hal 15-16. 21. Pratt, D. E. dan B.J.F. Hudson.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. Materia Medika Indonesia. Jilid 3. Penerbit Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hal 114-117.
- Donoghue, A. M., and D. J. Donoghue. Effects of water and Lipid-Soluble Antioxidants on Turkey Sperm Viability, Membrane Integrity, and Motility During Liquid Storage. Journal Poult. Sci. 1997. Hal 1440-1445.
- Farnsworth NR. Biological and Phytochemical Screening of Plant. Journal Of Pharmaceutical Sci. 1996. Hal.5-76.
- Hahn, G. S. Anti Aging Cosmetics. Stanford: Stanford University. 1996. Hal 12-15.
- Hamita, dkk. Buku Ajar Analisis Hayati. Jakarta. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. 2004. Hal 65-88.
- Hamita, dkk. Analisis Hayati. EGC. Jakarta. 2008. Hal 86-88.
- Harmita. Analisis Fisikokimia. Depok: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. 2006. Hal 10.
- Jun, M.H.Y., J., Fong, X., Wan, C.S., Yang, C.T., Ho. Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones Form Kudzu Root (*Pueraria lobata* O). Journal Food Science Institute of Technologist. 2003. Vol 68. Hal 2117-2122.
- Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, Taniguchi H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. Journal Agriculture and Food Chemistry. 2002. Vol 50. Hal 2161-2168.
- Lusiana Arifianti, Rice Disi Oktarina, Idha Kusumawati. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. 2014. Hal 4-5.
- Mayorga, P, Perez K R, Cruz S M, Caceres A. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. Revista Brasileira de Farmacognosia. Vol 20. No 6. 2010. Hal 23-30.
- Molyneux P. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil (DPPH), for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin, J. Sci. Technol. Vol 26. No 2. 2004. Hal 210-211.

- Natural Antioxidants not Exploited Commercially. Di Dalam : B.J.F Hudson, editor. Food Antioxidants. London: Elsevier Applied Science.1990. Hal. 171-172.
- Padayatty S.J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J.H., Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta S.K., Levine M. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. J. Am. Coll. Nutr. 2003.vol 22.hal 18–35.
- Peron Bela Anisa , Wiendarlina Ike Yulia, Prasetyorini. Toksisitas beberapa ekstrak rimpang cabang temulawak (*curcumaxanthorrhiza roxb.*) Pada larva udang (*artemia salina leach.*). Fitofarmaka. Vol. 1 No.2. 2011.Hal 14-21.
- Poumorad,F, Hosseinimehr, Shahabimajd. Antioxidant Activity Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants. African Journal Of Biotechnology..vol 11. No 5. 2006 . Hal 1142-1145.
- Prakash A, Rigelhof F, Miller E. Antioxidant Activity in Medallion Laboratories Analytical Progress. Medallion Labs. Vol 19. 2001. Hal 2.
- Putri Bina Listyari. Analisis Diosmin dan Protein Tanaman Seledri (*Apium graveolens L.*) dari Daerah Cipanas dan ciwidey.(skripsi).Program Studi Biokimia Institut Pertanian Bogor.Bogor.2006. Hal 12-15.
- Rahim A. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode 1,1- Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Uji Terpenoid Terhadap Ekstrak *Acanthaster*(skripsi).Jakarta. Universitas Indonesia.2012.Hal 1-2.
- Reynetson, K.A. Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents From Edible Myrtaceae Fruit.New York. University of New York.2007.Hal 26-32.
- Shodiq A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Cincau Hijau Rambat (*Cyclea barbata Miers*) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi yang Paling Aktif. Jurnal Bahan Alam Indonesia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Departemen Farmasi, Universitas Indonesia. Vol 8. No 2. Mei 2012. Hal 119.
- Silalahi J. Peran Antioksidan Alami pada Pencegahan Berbagai Penyakit. Media Farmasi. 2000. Hal 2.
- Syarie, S. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Garcinia porrecta*, Wal var. *Schizogyna Boerl* dengan Metode Brine Shrimp Letality Test (BSLT). Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Departemen Farmasi. Universitas Indonesia. 2010. Hal 15.
- Ulfah, Z. Uji Toksisitas *Artemia Salina Leach*, Uji Sitotoksisitas sel A549 dan Uji Aktifitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH Kulit Batang *Antidesma neurocarpum*, Miq. Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional. 2013. Hal 16.
- Usia tepy. Seledri (*Apium graveolens L.*) Serial Data Ilmiah Terkini Tumbuhan Obat. Jakarta. 2007. Hal.7-8.
- Watson D G. Analisis Farmasi: Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi. Edisi 2. EGC. Jakarta. 2009. Hal 106-107.
- Widjaja S. Antioksidan: Pertahanan Tubuh terhadap Efek Oksidan dan Radikal Bebas. Majalah Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti. Vol 16. No 1. 1997. Hal 1659-1661.
- Wijastuti Endang dan Ratna Djamil. Skrining Fitokimia, Uji Toksisitas Metode BSLT Dan Uji Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Metanol dari 3 Jenis Tanaman Suku *Apiaceae*.(Skripsi). Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.Jakarta.2010. Hal 38-40.
- Winarsi, Hary. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Yogyakarta.Kanisius.2007. hal.11-19, hal 77-82.
- Young I S, Woodside J V. Antioxidant in Health and Disease. J. Clin Pathol. Vol 54. No 3. 2001. Hal 176-186.