

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAN FRAKSI
DAUN SELEDRI (*Apium graveolens* L.) DENGAN METODE ABTS**

(Determination of Total Flavonoid Content and Antioxidant Activities of Celery
Leaf (*Apium graveolens* L.) Extract and Fractions Using ABTS Method)

SKRIPSI



Oleh:

**INDRANINGSIH
4161022**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAN FRAKSI
DAUN SELEDRI (*Apium Graveolens L.*) DENGAN METODE ABTS**

(Determination of Total Flavonoid Content and Antioxidant Activities of Celery
Leaf (*Apium graveolens L.*) Extract and Fractions Using ABTS Method)



SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana
Farmasi (S.Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi
Ilmu Kesehatan Nasional di Surakarta**

**Oleh:
INDRANINGSIH
4161022**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

PENGESAHAN SKRIPSI


PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAN FRAKSI
DAUN SELEDRI (*Apium graveolens* L.) DENGAN METODE ABTS

(Determination of Total Flavonoid Content and Antioxidant Activities of Celery
Leaf (*Apium graveolens* L.) Extract and Fractions Using ABTS Method)

Oleh:
INDRANINGSIH
4161022

Dipertahankan dihadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional pada tanggal: 2 Juli 2020

Pembimbing Utama


apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M. Sc.

Pembimbing Pendamping


C.E Dhurhanian, S. Farm., M. Sc.

Tim Penguji

Ketua : Nastiti Utami, S.Si., M. Sc


Anggota :

1. apt. Susilowati, S.Farm., M. Sc.

2. apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M. Sc.

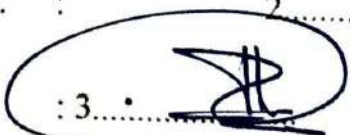
3. C.E Dhurhanian, S. Farm., M. Sc.

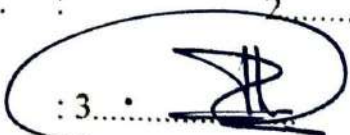
Mengetahui,
Program Studi S1 Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan
Ketua Program Studi,


apt. Lusiana Murtisiwi, S.Farm., M. Sc.



 : 1.....

 : 2.....

 : 3.....

MOTTO

“be not afraid of greatness. Some are born great, some achieve greatness, and some have greatness thrust upon them”- Malvolio in **Twelfth Night** (William Shakespeare)

“Jangan takut akan kejayaan. Sebagian terlahir dengan hebat, ada yang mencapai keagungan, dan ada yang memiliki kehebatan yang diberikan kepada mereka”- Malvolio dalam **Twelfth Night** (William Shakespeare)

Penjelasan: Semua orang mempunyai kesempatan untuk menjadi orang besar atau orang hebat, walau jalannya berbeda-beda. Ada yang memiliki kehebatan itu sejak lahir, ada yang berusaha mencapai kesuksesan dengan jerih payahnya sendiri, ada juga yang memiliki kekuasaan karena pemberian pihak lain.

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua tercinta
2. Adik dan saudara yang telah mendukungku selama ini
3. Teman-teman yang selalu membantu dan memberikan semangat sehingga dapat menyelesaikan skripsi.
4. Semua rekan seangkatan S1 Farmasi yang telah bekerja sama dalam saling membantu dalam menyelesaikan studi
5. Banyak pihak yang telah banyak membantu yang tidak bisa disebutkan satu persatu terima kasih atas dukungan yang telah diberikan selama ini.

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul :

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAN FRAKSI
DAUN SELEDRI (*Apium Graveolens L.*) DENGAN METODE *ABTS***

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh pengetahuan saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat tiruan atau duplikasi karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 2 Juli 2020



Indraningsih
NIM. 4161022

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat menyelesaikan jenjang pendidikan S1 Farmasi. Penyusunan skripsi ini didasarkan pada penelitian yang tidak lepas dari bimbingan doa dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. apt. Hartono, S.Farm., M.Si selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm., M.Sc selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi dan pembimbing yang telah memberikan arahan dan nasehat untuk menyelesaikan skripsi.
3. apt. Novena Yety Lindawati, S. Farm., M.Sc dan C.E Dhurhanian, S. Farm., M.Sc selaku pembimbing yang telah memberikan masukan serta membantu penulis dalam penelitian hingga menyelesaikan skripsi ini.
4. Nastiti Utami, S. Si., M. Sc, dan apt. Susilowati, S. Farm., M.Sc selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Kedua orang tua dan semua keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan semangat bagi penulis sehingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Sahabat serta rekan-rekan mahasiswa Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi sebagai salah satu syarat

menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

Kritik dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan untuk pengembangan penelitian selanjutnya. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang membacanya. Terima kasih.

Surakarta, 2 Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
MOTTO	iv
PERSEMBAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
INTISARI.....	xviii
<i>ABSTRACT</i>	xix
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Seledri.....	5

1. Taksonomi Tanaman	5
2. Nama Lain	6
3. Morfologi Tanaman.....	6
4. Manfaat	7
5. Kandungan Kimia.....	7
B. Radikal Bebas.....	9
C. Antioksidan	10
D. Simplisia.....	12
E. Ekstraksi	14
F. Fraksinasi	15
G. Senyawa Flavonoid	16
H. Metode <i>ABTS</i>	18
I. Metode Penetapan Kadar Flavonoid	19
J. Spektrofotometer UV-Vis	21
K. Landasan Teori.....	24
L. Hipotesis.....	24
M. Kerangka Konsep Penelitian	25
BAB III. METODE PENELITIAN.....	26
A. Desain Penelitian.....	26
B. Tempat dan Waktu Penelitian	26
C. Populasi dan Sampel	26
D. Variabel Penelitian	27
E. Definisi Operasional Variabel.....	27

F. Alat dan Bahan	28
G. Jalanya Penelitian	29
H. Analisis Hasil	39
I. Skema Jalannya Penelitian	43
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	44
A. Determinasi	44
B. Preparasi Sampel	44
C. Penapisan Fitokimia Flavonoid	49
D. Pengujian Pendahuluan Flavonoid secara KLT	50
E. Penetapan Kadar Flavonoid	53
F. Penentuan Aktivitas Antioksidan	60
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	69
A. Kesimpulan	69
B. Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun dan Batang Tanaman Seledri.....	5
Gambar 2. Struktur Kimia dan Klasifikasi Flavonoid	16
Gambar 3. Struktur Flavonoid	17
Gambar 4. Struktur <i>ABTS</i>	19
Gambar 5. Pembentukan Senyawa Kompleks Kuersetin dengan $AlCl_3$	20
Gambar 6. Bagan Kerangka Pikir	25
Gambar 7. Bagan Alur Penelitian	43
Gambar 8. Simplisia Daun Seledri.....	45
Gambar 9. Reaksi Flavonoid dengan Serbuk Mg	49
Gambar 10. Kromatogram Ekstrak, Fraksi dan Pembanding Kuersetin.....	51
Gambar 11. Reaksi Pembentukan Kompleks Flavonoid- $AlCl_3$	54
Gambar 12. Spektra Kuersetin pada Spektrofotometri Visibel.....	56
Gambar 13. Kurva Konsentrasi dengan Absorbansi Kuersetin	58
Gambar 14. Reaksi Pembentukan Radikal <i>ABTS</i>	61
Gambar 15. Spektra <i>ABTS</i> pada Spektrofotometri Visibel	63
Gambar 16. Kurva Baku Pembanding Kuersetin.....	64
Gambar 17. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Ekstrak Etanol pada Replikasi 1	90
Gambar 18. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Ekstrak Etanol pada Replikasi 2	91

Gambar 19. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Ekstrak Etanol pada Replikasi 3	92
Gambar 20. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Fraksi N-heksan pada Replikasi 1	92
Gambar 21. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Fraksi N-heksan pada Replikasi 2	93
Gambar 22. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Fraksi N-heksan pada Replikasi 3	94
Gambar 23. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Fraksi Etil Asetat pada Replikasi 1	95
Gambar 24. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Fraksi Etil Asetat pada Replikasi 2.....	95
Gambar 25. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Fraksi Etil Asetat pada Replikasi 3.....	96
Gambar 26. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Fraksi Air pada Replikasi 1	97
Gambar 27. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Fraksi Air pada Replikasi 2	97
Gambar 26. Kurva Regresi Linear Konsentrasi dengan % Inhibisi Sampel Fraksi Air pada Replikasi 3	98

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Penggolongan Tingkat Aktivitas Antioksidan	11
Tabel 2. Susut Pengeringan Daun Seledri.....	46
Tabel 3. Rendemen Ekstrak Etanol Daun Seledri	47
Tabel 4. Rendemen Fraksi n-heksan, etil asetat dan air	48
Tabel 5. Identifikasi KLT pada Pembanding Kuersetin.....	52
Tabel 6. <i>Operating time</i> kuersetin.....	56
Tabel 7. Hasil pengukuran absorbansi dari kurva baku kuersetin	57
Tabel 8. Kadar Flavonoid pada Sampel	58
Tabel 9. <i>Operating Time</i> Larutan Radikal <i>ABTS</i> dengan Kuersetin	62
Table 10. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} kuersetin	64
Tabel 11. Nilai IC_{50} pada ekstrak dan fraksi daun seledri.....	65
Tabel 12. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} ekstrak pada replikasi 1	90
Tabel 13. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} ekstrak pada replikasi 2	91
Tabel 14. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} ekstrak pada replikasi 3	91
Tabel 15. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} fraksi n-heksan pada replikasi 1	92
Tabel 16. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} fraksi n-heksan pada replikasi 2.....	93

Tabel 17. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} fraksi n-heksan pada replikasi 3.....	93
Tabel 18. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} fraksi etil asetat pada replikasi 1.....	94
Tabel 19. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} fraksi etil asetat pada replikasi 2.....	95
Tabel 20. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} fraksi etil asetat pada replikasi 3.....	96
Tabel 21. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} fraksi air pada replikasi 1.....	96
Tabel 22. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} fraksi air pada replikasi 2.....	97
Tabel 23. Hasil pengukuran absorbansi, % inhibisi dan nilai IC_{50} fraksi air pada replikasi 3.....	98

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Tanaman Seledri.....	79
Lampiran 2. Perhitungan Randemen.....	82
Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Penetapan Kadar Flavonoid.....	86
Lampiran 4. Absorbansi, Persen Inhibisi, IC_{50} dan Kurva Regresi Linier.....	91
Lampiran 5. Perhitungan Penentuan Aktivitas Antioksidan	100
Lampiran 6. Data Hasil Pengukuran dengan Spektrofotometri	120
Lampiran 7. Analisis <i>One Way</i> Anova Penetapan Kadar Flavonoid.....	129
Lampiran 8. Analisis <i>One Way</i> Anova Aktivitas Antioksidan	130
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	131

DAFTAR SINGKATAN

<i>ABTS</i>	<i>2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid</i>
<i>DPPH</i>	<i>1,1-difenil-2-pikrilhidrazil</i>
<i>FRAP</i>	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
<i>IC₅₀</i>	<i>Inhibition Concentration 50%</i>
<i>KLT</i>	<i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
<i>NBP</i>	<i>3-n-butylphthalide</i>
<i>R_f</i>	<i>Retardation factor</i>

INTISARI

Daun seledri sebagai salah satu tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai bumbu penyedap pada makanan. Daun seledri dapat digunakan sebagai antihipertensi, anti rematik, menurunkan kadar asam urat, karena daun seledri mengandung senyawa flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air.

Pada penelitian ini, daun seledri (*Apium graveolens* L.) diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 5 hari dan remaserasi selama 2 hari, dan dilanjutkan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah, kemudian dilakukan penetapan kadar flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan terhadap radikal *ABTS*.

Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki kadar flavonoid total yang setara dengan kuersetin berturut-turut yaitu 63,16%, 83,39%, 88,89%, 67,55%. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun seledri berturut-turut yaitu $24,63 \pm 0,23$ ppm, $17,35 \pm 0,22$ ppm, $15,50 \pm 0,14$ ppm, $17,66 \pm 0,28$ ppm. Berdasarkan hasil yang diperoleh, potensi antioksidan dari ekstrak dan fraksi berturut-turut yaitu fraksi etil asetat > fraksi n-heksan > fraksi air > ekstrak. Analisis statistik menggunakan *one way* ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak dan fraksi daun seledri.

Kata kunci : daun seledri, ekstrak, fraksi, flavonoid total, antioksidan

ABSTRACT

Celery leaves as one of the plants that are widely used by people as a food flavoring. Celery leaves can be used as antihypertensive, anti-rheumatic, and reduce uric acid, cause the celery leaves contains flavonoid compounds. This study aims to determine the total flavonoid levels and antioxidant activity of the ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction.

In the research, the ethanol extract of celery leaves (*Apium graveolens* L.) was obtained by maceration using 70% ethanol for 5 days and remaceration for 2 days, and then fractionated by liquid extraction method using separating funnel. The antioxidant activity was determined using ABTS radicals.

Ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fractions had total flavonoid that equivalent of quersetin were 63.16%, 83.39%, 88.89%, 67.55% respectively. Antioxidant activity was expressed as IC₅₀ values in the extract, the n-hexane fraction, the ethyl acetate fraction, and water fraction were 24.63±0.23 ppm, 17.35±0.22 ppm, 15.50±0.14 ppm, 17.66±0.28 ppm respectively. Based on the result obtained, the antioxidant potency of extract and fraction were successively of ethyl acetate fraction > n-hexane fraction > water fraction > extract. Statistical analysis using one way ANOVA obtained a significant value of p<0.05. The result indicate there are differences in total flavonoid content and antioxidant activity between ethanol extract and fractions from celery leaf.

Keyword: Celery leaf, extract, fractions, total flavonoid, Antioxidants.

BAB I

PENDAHULUAN

Perubahan pola hidup masyarakat berdampak negatif terhadap kesehatan terutama munculnya berbagai penyakit degeneratif. Hasil Riskesdas (2018) menunjukkan prevalensi hipertensi di Indonesia mencapai 34,1 persen yang mengindikasikan adanya peningkatan penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif yang berhubungan erat dengan radikal bebas (Hunter dan Reddy, 2013). Radikal bebas yang berikatan secara kovalen dengan enzim atau reseptor menyebabkan kerusakan pada senyawa yang diserang dan terbentuk senyawa radikal bebas baru dari molekul yang telah kehilangan (Aji, 2014). Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh sistem antioksidan (Wijayanti, 2016).

Tubuh membutuhkan antioksidan yang mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat dengan cara mendonorkan elektronnya (Isnidar dkk., 2011). Antioksidan diperoleh dari buah dan sayur-sayuran yang mengandung vitamin A, C, E, asam folat, antosianin, senyawa fenol dan flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang mempunyai kemampuan dapat menangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Banjarnahor dan Artanti, 2014).

Senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan alami salah satunya berasal dari daun seledri (*Apium graveolens* L.). Daun seledri mengandung senyawa glikosida apiin, isoquersetin, umbelliferon, mannite, inosite, asparagine, glutamine, choline, linamarose, pro vitamin A, vitamin C, dan B (Ali, 2010). Li dkk., (2014) melaporkan bahwa senyawa flavonoid daun seledri yang terdeteksi

sebagai apiin merupakan glikosida flavonoid. Daun seledri memiliki kadar flavonoid total pada ekstrak air daun seledri sebesar 0,51%. Herba seledri mengandung senyawa *3-n-butylphthalide* (NBP) sehingga mempunyai aktivitas antihipertensi dan vasorelaksan. Pemberian secara intraperitoneal selama 13 hari pada dosis 2 dan 4 mg/hari menghasilkan efek hipotensif (Sowbhagya, 2014). Fraksi air seledri pada dosis 25, 50 dan 100 mg/kgBB dapat menurunkan kadar kolesterol total karena adanya flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan (Helmi dkk., 2013).

Hasil kajian literatur sebelumnya, Kusnadi dkk., (2017) ekstrak daun seledri dengan konsentrasi 25µl diperoleh kadar flavonoid rata-rata sebesar 24,71 mg/100 g sampel. Kadar flavonoid ekstrak seledri pada organ daun diperoleh hasil terbesar jika dibandingkan dengan organ bunga dan organ batangnya (Dewi dan Widyastuti, 2010). Ekstrak daun seledri masih berupa campuran dari berbagai senyawa, oleh karena itu perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Fraksi-fraksi yang diperoleh mungkin menunjukkan sifat kimia dan fisika senyawa yang lebih khas daripada ekstrak awalnya (Sarker dkk., 2006). Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak daun seledri mempunyai aktivitas farmakologi yang berhubungan dengan flavonoid, sehingga dalam penelitian ini perlu dilakukan penelitian mengenai penetapan kadar flavonoid.

Penelitian sebelumnya menunjukkan fraksi metanol seledri menggunakan metode FRAP memiliki aktivitas antioksidan pada konsentrasi setara dengan 12,48 mmol Fe₂SO₄/Liter ekstrak (Uddin, 2015). Li dkk., (2014) melaporkan

bahwa nilai IC_{50} daun seledri yang diekstrak menggunakan etanol adalah sebesar 68,0 $\mu\text{g/ml}$ dalam uji DPPH. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode *ABTS* memiliki sensitivitas yang lebih tinggi daripada metode DPPH. Metode *ABTS* memiliki sensitivitas 99,5% dibandingkan dengan metode DPPH yang memiliki sensitivitas lebih kecil yaitu 99,3%. Metode DPPH sangat sensitif pada kondisi asam dan senyawa antosianin dapat mengganggu hasil pengukuran antioksidan. Metode *ABTS* dikatakan lebih stabil karena dapat digunakan pada berbagai level pH, *ABTS* larut dalam air dan pelarut organik (Shalaby dkk., 2013).

Penetapan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun seledri menggunakan metode *ABTS* (*2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*) dalam pencarian literatur belum pernah dilakukan, maka berdasarkan uraian latar belakang masalah perlu dilakukan penelitian tentang penetapan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode *ABTS*. Hal ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi flavonoid dan antioksidan ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.) agar dapat dikembangkan sebagai antioksidan alami.

A. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

1. Berapa kadar senyawa flavonoid total dari ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.)?

2. Berapa IC_{50} dari ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode *ABTS*?
3. Apakah ada perbedaan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.) menggunakan metode *ABTS*?

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui kadar senyawa flavonoid total dari ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.)
2. Mengetahui nilai IC_{50} dari ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode *ABTS*
3. Mengetahui perbedaan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.) menggunakan metode *ABTS*.

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan, serta perbedaan keduanya di antara ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens* L.) dalam pengembangan obat tradisional
2. Menambah sumber data ilmiah atau rujukan bagi penelitian selanjutnya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian eksperimental. Penelitian bersifat eksperimental karena adanya intervensi perlakuan dalam proses penyarian yaitu dalam bentuk ekstraksi dan fraksinasi.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2019 sampai April 2020 di Laboratorium Kimia Analisis Instrumental STIKES Nasional.

C. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah daun seledri yang berasal dari tanaman seledri diperoleh dari Desa Tlogo Kulon RT 02/ RW 03, Kelurahan Dayu, Kecamatan Karangpandan, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah daun seledri yang berwarna hijau, segar, tidak berlubang dan usia panen 3-4 bulan. Daun seledri diambil dari tanaman seledri sebanyak 3 kg yang tumbuh di Desa Tlogo Kulon RT 02/ RW 03, Kelurahan Dayu, Kecamatan Karangpandan, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel yang didasarkan pada suatu ketentuan atau pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti sendiri.

D. Variabel penelitian

- 1) Variabel bebas dalam penelitian ini adalah cara penyarian sampel dengan metode ekstraksi dan fraksinasi
- 2) Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan antara ekstrak dan fraksi daun seledri.
- 3) Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kualitas bahan, penetapan waktu kestabilan serapan, dan alat.

E. Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanol daun seledri adalah ekstrak yang diperoleh dari ekstrak simplisia daun seledri dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut etanol 70%.
2. Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Fraksi daun seledri (*Apium graveolens*. L) diperoleh dari partisi (ekstraksi cair-cair) ekstrak etanol daun seledri yang dilarutkan dengan akuades menggunakan pelarut berturut-turut n-heksan dan etil asetat.
3. Kadar flavonoid total merupakan kadar flavonoid dalam sampel yang dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin (QE). Kadar flavonoid total didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus total flavonoid, dimana kadar flavonoid dalam sampel (sumbu x) diketahui dengan memasukkan absorbansi sampel ke dalam sumbu y pada persamaan regresi linear kuersetin (Desmiaty dkk., 2009).
4. *Inhibition Concentration 50%* (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal ABTS sebanyak 50%. Nilai IC_{50} yang digunakan untuk

menentukan daya antioksidan yang dihitung menggunakan rumus persamaan regresi.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan terdiri dari *rotary evaporator* (IKA HB 10 basic), neraca analitik (Acis BC 500), cawan porselin (herma), bejana maserasi (Maxi), gelas beker (pyrex), batang pengaduk (herma), blender (philips), pipet volume (pyrex), mikropipet (pyrex), pipet tetes (pyrex), lampu UV 254 nm dan 366 nm (Acis BC 500), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV mini-1240), kuvet (herma), silica gel GF 254 (ABM), chamber (herma), penutup chamber (herma), corong pisah (pyrex), *moisture balance* (MAC 50), tabung reaksi (herma), rak tabung reaksi (Mitra), botol semprot (exsi), labu ukur (pyrex), statif (pyrex), waterbath (WNB).

2. Bahan

Bahan-bahan yang dalam penelitian ini adalah daun seledri. Pelarut yang digunakan adalah n-heksan (E. Merck), etil asetat teknis (E. Merck), etil asetat p.a (E. Merck), Metanol p.a (E. Merck), etanol 70% (Medika), kuersetin (Alrich Chemist), ABTS (E. Merck), natrium klorida (E. Merck), natrium hydrogen fosfat (E. Merck), $K_2S_2O_8$ (Kalium persulfat) (E. Merck), kalium dihidrogen fosfat (E. Merck), asam klorida (E. Merck), magnesium timbal (III) (E. Merck), Aluminium klorida (E. Merck), metanol p.a (Medika), akuades (Medika), natrium asetat (Chemist).

G. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman seledri

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah memastikan kebenaran tanaman seledri berkaitan dengan ciri-ciri morfologisnya pada tanaman seledri. Tanaman seledri akan dideterminasi terlebih dahulu di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Persiapan bahan

Daun seledri yang diperoleh di Desa Tlogo Kulon RT 02 / RW 03, Kelurahan Dayu, Kecamatan Karangpandan, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah selanjutnya dilakukan penyortiran dan ditimbang 3 kg lalu dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

3. Pembuatan serbuk

Daun seledri yang sudah kering kemudian dijadikan serbuk dengan cara dihaluskan menggunakan blender. Serbuk diayak menggunakan pengayak ukuran 40 mesh. Hasilnya disimpan dalam wadah kering dan tertutup (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

4. Penetapan Susut Pengerinan

Penetapan susut pengerinan serbuk daun seledri dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk daun seledri dimasukkan ke dalam *moisture balance* sebanyak 2,0 gram pada suhu 105°C sampai nilai susut pengerinan muncul pada alat dalam satuan persen (%) terhadap bobot awal (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

5. Pembuatan ekstrak etanol daun seledri

Ekstrak daun seledri dibuat dari 100 gram serbuk daun seledri yang dimasukkan dalam bejana maserasi dengan pelarut etanol 70% 750,0 ml dengan perbandingan 1:7,5 yaitu 1 bagian simplisia dimasukkan dalam 7,5 bagian cairan penyari didiamkan selama 5 hari dengan dilakukan pengadukan satu kali dalam sehari. Hasil maserat disaring dengan kain flanel. Residu direndam kembali dengan 250,0 ml etanol didiamkan selama 2 hari (Depkes RI, 1979). Maserat yang diperoleh dijadikan satu dengan maserat pertama kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 40°C. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan replikasi 3 kali (Wicaksono dan Ulfah, 2017).

6. Pembuatan Fraksi daun seledri

a. Pembuatan fraksi n-heksan daun seledri

Ekstrak etanol daun seledri yang dipekatkan ditimbang seksama 50,0 gram, dilarutkan dalam air hangat 50,0 ml sampai larut dan difraksinasi dengan n-heksan sebanyak 50,0 ml, dilakukan sebanyak 3 kali menggunakan corong pisah. Sari n-heksan dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 40°C. Sari n-heksan yang sudah dipekatkan disebut fraksi n-heksan. Pembuatan fraksi dilakukan dengan replikasi 3 kali (Maravirnadita, 2019).

b. Pembuatan fraksi etil asetat daun seledri

Residu sisa fraksinasi n-heksan ditambahkan etil asetat (1:1) difraksinasi menggunakan corong pisah, dilakukan sebanyak 3 kali. Sari etil

asetat dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* kecepatan 200 rpm dengan suhu 40°C. Sari etil asetat yang sudah dipekatkan disebut fraksi etil asetat. Residu sisa fraksinasi etil asetat disebut fraksi air. Pembuatan fraksi dilakukan dengan replikasi 3 kali (Maravirnadita, 2019).

7. Penapisan fitokimia Flavonoid

Ekstrak dan fraksi sebanyak 1,0 ml diuapkan hingga kering, ditambahkan 1,0 ml etanol, kemudian ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan 2,0 ml HCl 5M. Warna merah hingga merah lembayung menunjukkan adanya senyawa flavonol, flavonon, flavonolol dan dihidroflavonol (Hanani, 2017).

8. Pengujian Pendahuluan Flavonoid Secara KLT

Ekstrak etanol daun seledri, fraksi daun seledri dan pembanding kuersetin yang telah dilarutkan dengan etanol 70%, ditotolkan bersama-sama pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etil asetat:metanol (3:1). Bercak kromatogram (noda) yang dihasilkan diamati dengan penampak noda sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot dengan AlCl_3 5%. Bercak dengan fluoresensi warna kuning menunjukkan adanya flavonoid (Markham, 1988).

9. Penetapan Kadar Flavonoid

a. Pembuatan reagen untuk penetapan kadar flavonid total

1) Pembuatan larutan AlCl_3 10%

Serbuk AlCl_3 sebanyak 5,0 gram ditimbang dan dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan sebagian akuades hingga larut sempurna, dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 ml dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

2) Pembuatan Natrium asetat 1 M

Natrium asetat ditimbang seksama sebanyak 1,0 gram diukur dan dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan sebagian akuades hingga larut sempurna, dimasukkan labu ukur 10,0 ml, dan ditambahkan akuades hingga batas tanda (Depkes RI, 1995).

3) Pembuatan larutan blangko

Aluminium klorida 10% sebanyak 0,2 ml, ditambahkan 0,2 ml natrium asetat 1M ke dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

4) Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Larutan baku induk 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang 25,0 mg kuersetin dan dilarutkan dengan metanol p.a hingga volume 25,0 ml.

5) Pembuatan Larutan Intermediet kuersetin 250 ppm

Larutan intermediet kuersetin dibuat dari 12,5 ml larutan baku induk 1000 ppm kemudian dicukupkan volumenya sampai 50,0 ml.

b. Penentuan *Operating Time* (OT)

Absorbansi larutan baku kerja kuersetin 60 ppm diukur pada panjang gelombang maksimum literatur 428 nm dengan interval waktu 1 menit

hingga diperoleh absorbansi yang stabil. *Operating time* tercapai pada saat dihasilkan absorbansi yang stabil (Indrayani, 2008).

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku kerja kuersetin konsentrasi 60 ppm, diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 375-450 nm pada saat tercapainya *operating time*. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tinggi merupakan panjang gelombang maksimum (Kusuma, 2012).

d. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin dengan deret konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm yang dibuat dengan memipet secara berturut-turut 0,8 ml, 1,6 ml, 2,4 ml, 3,2 ml, 4,0 ml dari larutan baku intermediet, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan baku kerja kuersetin masing-masing di pipet 1 ml, kemudian ditambahkan 3,0 ml metanol p.a, 0,2 ml AlCl_3 10%, 0,2 ml natrium asetat 1M dan ditambahkan dengan akuades dalam labu ukur 10,0 ml (Diah dkk., 2019). Kurva baku dibuat dengan menghubungkan konsentrasi larutan baku kerja dengan hasil absorbansi yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum pada saat terjadi *operating time* (Lucky dkk., 2019).

e. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Ekstrak dan fraksi daun seledri masing-masing ditimbang 25,0 mg dilarutkan dengan 25,0 ml metanol p.a. Larutan sampel dipipet 1 ml dan

diencerkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 10,0 ml, kemudian larutan sampel dipipet 1,0 ml lalu ditambahkan 0,2 ml AlCl_3 10%, 0,2 ml natrium asetat 1M dan ditambahkan dengan akuades dalam labu ukur 10,0 ml. Campuran dikocok homogen lalu dibiarkan selama *Operating Time* (OT) yang diperoleh, diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Diah dkk., 2019).

10. Penentuan aktivitas antioksidan

Prinsip *ABTS* yaitu kemampuan sampel dalam meredam proses oksidasi *ABTS* sebagai radikal bebas dalam larutan metanol, sehingga terjadi perubahan warna biru kehijauan menjadi tak berwarna (Yu, 2002).

a. Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin

Larutan baku induk kuersetin 1000 ppm disiapkan dengan cara serbuk kuersetin 10,0 mg ditimbang seksama, dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas labu ukur 10,0 ml. Larutan intermediet dengan konsentrasi 100 ppm dibuat dengan mengencerkan larutan baku induk 1000 ppm. Larutan baku kerja kuersetin dibuat dari larutan intermediet 100 ppm dengan deret konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm atau dipipet masing-masing sebanyak 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8 ml; 1,0 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml, kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas (Pulungan, 2018).

b. Pembuatan Larutan

- 1) Larutan *ABTS*: *ABTS* (7 mM) sebanyak 18,0 mg dilarutkan ke dalam akuades dalam labu ukur 5,0 ml.

- 2) Larutan $K_2S_2O_8$: kalium persulfat (2,45 mM) ditimbang seksama sebanyak 14,0 mg dilarutkan ke dalam akuades dalam botol sampai 20,0 mL.
- 3) Larutan PBS Ph 7,4: natrium klorida ditimbang seksama sebanyak 0,8 g, 0,02 g kalium klorida, 0,142 g natrium hidrogen fosfat, 0,024 g kalium dihidrogen fosfat dilarutkan dalam akuades sampai 100,0 ml.
- 4) Larutan radikal *ABTS*: Larutan *ABTS* sebanyak 5,0 ml ditambahkan 5 ml larutan kalium persulfat, diinkubasi dalam ruang gelap suhu 22-24°C selama 12-16 jam sebelum digunakan, dihasilkan *ABTS* dengan warna biru gelap. Larutan yang diperoleh digunakan sebagai larutan kontrol.
- 5) Larutan blangko: Kalium persulfat sebanyak 5,0 ml ditambahkan dengan 5 ml akuades, diinkubasi dalam ruang gelap suhu 22-24°C selama 12-16 jam
(Pulungan, 2018).

c. Penentuan *Operating Time*

Larutan baku kerja kuersetin 6 ppm, diambil 0,1 ml kemudian ditambahkan 2 ml larutan radikal *ABTS* diukur pada panjang gelombang maksimum literatur 734 nm dengan interval 1 menit hingga diperoleh absorbansi stabil. *Operating time* tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil (Rosidah dkk., 2008).

d. Pengukuran Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Larutan radikal *ABTS* dipipet sebanyak 1,0 ml dan dicukupkan dengan PBS pH 7,4 dalam labu ukur 25,0 ml. Absorbansi larutan diukur pada rentang

panjang gelombang 700-750 nm, ditentukan panjang gelombang saat diperoleh serapan tertinggi (Pulungan, 2018).

e. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Metode *ABTS* dengan Kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin dibuat dari larutan intermediet 100 ppm dengan deret konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm atau dipipet masing-masing sebanyak 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8 ml; 1,0 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml, kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan baku kerja pada masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,1 ml dan ditambah 2,0 mL larutan radikal *ABTS*, larutan diinkubasi selama *operating time* yang diperoleh dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 733 nm (Faizal, 2019).

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

1) Pengukuran Aktivitas Ekstrak Etanol dengan Metode *ABTS*

Ekstrak etanol ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 50,0 ml sebagai larutan sampel induk 1000 ppm. Larutan sampel intermediet 100 ppm dibuat dari larutan sampel induk yang dipipet 1 ml dan diencerkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 10,0 ml. Larutan sampel kerja dibuat dari larutan sampel intermediet 100 ppm dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm dan 30 ppm atau dipipet masing-masing sebanyak 0,25 ml; 0,5 ml; 0,75 ml; 1,0 ml; 1,25 ml; dan 1,5 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan sampel kerja pada

setiap konsentrasi, dipipet sebanyak 0,1 ml ditambah 2 mL larutan radikal *ABTS*. Larutan diinkubasi selama *operating time* yang diperoleh dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum radikal *ABTS*, dilakukan dengan replikasi 3 kali (Faizal, 2019).

2) Pengukuran Aktivitas Fraksi n-heksan dengan Metode *ABTS*

Fraksi n-heksan ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 50,0 ml sebagai larutan sampel induk 1000 ppm. Larutan sampel intermediet 100 ppm dibuat dari larutan sampel induk yang dipipet 1 ml dan diencerkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 10,0 ml. Larutan sampel kerja dibuat dari larutan sampel intermediet 100 ppm dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm atau dipipet masing-masing sebanyak 0,25 ml; 0,5 ml; 0,75 ml; 1,0 ml; 1,25 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan sampel kerja pada setiap konsentrasi, dipipet sebanyak 0,1 ml ditambah 2 mL larutan radikal *ABTS*. Larutan diinkubasi selama *operating time* yang diperoleh dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum radikal *ABTS*, dilakukan dengan replikasi 3 kali (Faizal, 2019).

3) Pengukuran Aktivitas Fraksi Etil Asestat dengan Metode *ABTS*

Fraksi etil asestat ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 50,0 ml sebagai larutan sampel induk 1000 ppm. Larutan sampel intermediet 100 ppm dibuat dari larutan sampel induk yang dipipet 1 ml dan diencerkan dengan metanol p.a dalam labu ukur

10,0 ml. Larutan sampel kerja dibuat dari larutan sampel intermediet 100 ppm dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm atau dipipet masing-masing sebanyak 0,25 ml; 0,5 ml; 0,75 ml; 1,0 ml; 1,25 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan sampel kerja pada setiap konsentrasi, dipipet sebanyak 0,1 ml ditambah 2 mL larutan radikal *ABTS*. Larutan diinkubasi selama *operating time* yang diperoleh dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum radikal *ABTS*, dilakukan dengan replikasi 3 kali (Faizal, 2019).

4) Pengukuran Aktivitas Fraksi Air dengan Metode *ABTS*

Fraksi air ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 50,0 ml sebagai larutan sampel induk 1000 ppm. Larutan sampel intermediet 100 ppm dibuat dari larutan sampel induk yang dipipet 1 ml dan diencerkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 10,0 ml. Larutan sampel kerja dibuat dari larutan sampel intermediet 100 ppm dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm atau dipipet masing-masing sebanyak 0,25 ml; 0,5 ml; 0,75 ml; 1,0 ml; 1,25 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan sampel kerja pada setiap konsentrasi, dipipet sebanyak 0,1 ml ditambah 2 mL larutan radikal *ABTS*. Larutan diinkubasi selama *operating time* yang diperoleh dan diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum radikal *ABTS*, dilakukan dengan replikasi 3 kali (Faizal, 2019).

H. Analisis Hasil

1. Perhitungan Randemen

Ekstrak etanol dan fraksi yang diperoleh kemudian dihitung randemennya dengan rumus:

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{bobot yang diperoleh}}{\text{bobot bahan awal}} \times 100\%$$

2. Analisis Kualitatif Flavonoid

Ekstrak dan fraksi daun seledri dianalisis dengan pereaksi warna dan KLT. Uji reagen dengan etanol dan serbuk Mg ditambah dengan HCl jika berwarna merah lembayung berarti positif mengandung flavonoid. Pengujian flavonoid menggunakan KLT, noda diamati dengan penampak noda sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm. Flavonoid dengan KLT diidentifikasi dengan penyemprotan AlCl_3 yang akan memberikan warna kuning, diukur nilai R_f noda pada masing-masing sampel dan standar kuersetin (Hanani, 2017).

3. Perhitungan Regresi Linear

Kadar flavonoid dihitung menggunakan persamaan regresi linear berdasarkan kurva baku hasil pembacaan spektrofotometer UV-Vis. Data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier sebagai y dan nilai x sebagai konsentrasi larutan baku.

Persamaan regresi linier dinyatakan dengan: $y = bx + a$

Keterangan: y = absorbansi

x = konsentrasi (ppm)

b = slope

a = intersep

Hasil absorbansi dari pengukuran sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier. Absorbansi sampel sebagai Y, sehingga kadar flavonoid total yang diperoleh dinyatakan sebagai % yang setara kuersetin.

$$\text{Kadar flavonoid total} = \frac{\text{Konsentrasi } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}\right) \times \text{Volume sampel}}{\text{Berat sampel}} \times \text{fp}$$

4. Penentuan aktivitas antioksidan

Hasil uji penangkal radikal bebas metode *ABTS* pada ekstrak dan fraksi daun seledri (*Apium graveolens*. L) dipaparkan sebagai hasil penelitian, sehingga didapat jumlah persen penangkal antioksidan (Cholisoh dan Utami, 2008). Pengukuran presentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Absorbansi kontrol = absorbansi larutan radikal *ABTS*

Absorbansi sampel = absorbansi larutan sampel ditambahkan radikal *ABTS*

5. Perhitungan nilai IC_{50}

Perhitungan nilai IC_{50} menggambarkan konsentrasi larutan uji yang dapat menangkal radikal bebas sebesar 50 % melalui persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji (x) dengan % inhibisi (y). Nilai IC_{50} diperoleh dengan mensubstitusikan Y sebagai % inhibisi sebesar 50% dan x sebagai IC_{50} (Molyneux, 2004).

$$Y = Bx + A$$

$$50 = Bx + A$$

$$X = \frac{50 - A}{B} = IC_{50}$$

6. Perhitungan Koefisien Variasi (KV)

Data penetapan kadar tiap replikasi pada masing-masing proses ekstraksi dan fraksinasi dihitung nilai koefisien variasi. Koefisien variasi (KV) digunakan untuk mengetahui kesesuaian analisis satu dengan hasil analisis lain dari suatu seri pengukuran yang diperoleh dari sampling acak secara berulang dari sampel homogenya. Koefisien variasi yang baik adalah kurang dari 2% (Snyder dan Kirkland, 2010).

$$\% \text{ KV} = \frac{\text{Standar deviasi}}{\text{Rata-rata kadar sampel}} \times 100\%$$

7. Uji Statistik

Pengolahan data menggunakan analisis statistik *One Way Anova*, yaitu uji statistika yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara dua atau lebih jumlah kelompok sampel. *One Way Anova* digunakan untuk menguji hipotesis komparatif sampel, bila pada setiap sampel hanya terdiri atas satu kategori. Tahapan yang dilakukan dalam *One Way Anova* yaitu

a. Menentukan H_0 dan H_1

1. Kadar flavonoid Total

H_0 : $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_n$, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air terhadap kadar flavonoid total.

H_1 : $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \dots \neq \mu_n$, artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air terhadap kadar flavonoid total.

2. Aktivitas antioksidan

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_n$, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air terhadap aktivitas antioksidan.

$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \dots \neq \mu_n$, artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air terhadap aktivitas antioksidan.

b. Kriteria pengujian

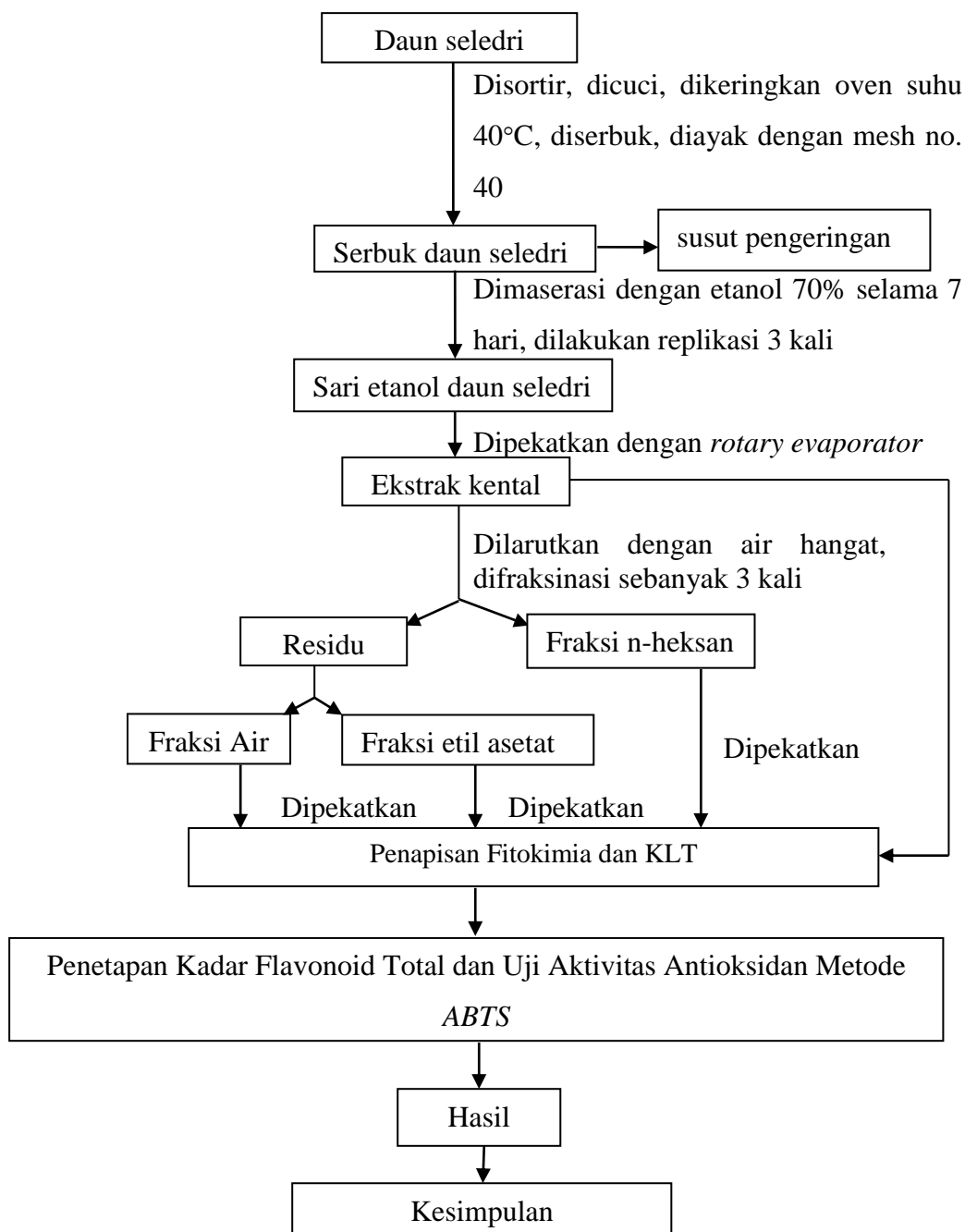
1. Kadar flavonoid total

$F_{hitung} \leq F_{tabel}$, maka H_0 diterima dan artinya kadar flavonoid total antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air tidak berbeda secara signifikan. $F_{hitung} > F_{tabel}$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang artinya kadar flavonoid total antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air berbeda secara signifikan

2. Aktivitas antioksidan

$F_{hitung} \leq F_{tabel}$, maka H_0 diterima dan artinya aktivitas antioksidan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air tidak berbeda secara signifikan. $F_{hitung} > F_{tabel}$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang artinya aktivitas antioksidan antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air berbeda secara signifikan.

I. Skema jalannya Penelitian



Gambar 7. Bagan alur penelitian

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa

1. Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun seledri mempunyai rata-rata kadar flavonoid total, berturut-turut sebesar 63,16%, 83,39%, 88,89%, 67,55%.
2. Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun seledri memiliki aktivitas antioksidan dengan rata-rata nilai IC_{50} berturut-turut $24,63 \pm 0,23$ ppm, $17,35 \pm 0,22$ ppm, $15,50 \pm 0,14$ ppm dan $17,66 \pm 0,28$ ppm.
3. Kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun seledri memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) berdasarkan uji statistik menggunakan *one way ANOVA*.

B. Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut terhadap fraksi etil asetat daun seledri (*Apium graveolens* L.) dalam pengembangan sediaan obat berbasis bahan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdou, H.S., Salah, S.H., Hoda, B.F., Abdel, R.E.A., 2012, Antioxidant Effect of Celery Against Carbontetrachloride Induced Hepatic Damage in Rats, *African Journal of Microbiology Research*, 6(27), 5657-5667.
- Agung, N.C., 2016, *Pengembangan Produk Kombinasi Ekstrak Daun Pare dan Bonggol Pisang Kepok dengan Sediaan Tonik Rambut pada Kelinci Jantan*, Universitas Pancasila, Jakarta.
- Agoes, G., 2007, *Teknologi Bahan Alam*, ITB Press, Bandung.
- Aji, R.M., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Daging Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*) menggunakan Metode DPPH, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Ali, H., 2010, *Makalah Seledri*, Bina Aksara, Jakarta.
- Al-Snafi A.E., 2014, The Pharmacology of *Apium graveolens*- a Review, *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars*, 3(1), 671-677.
- Andarwulan, N., dan Faradila, R.H.F., 2012, Senyawa Fenolik pada Beberapa Sayuran Indigenus dari Indonesia, *Southeast Asian Food and Agricultural Science and Tecnology (SEAFAST) Center*, 9, 57-60.
- Anonim, 2015, *Pedoman Budidaya, Panen dan Pasca Panen Tanaman Obat*, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Balitbangkes Kemenkes RI, Karanganyar.
- Azizah, B., dan Salamah, N., 2013, Standarisasi Parameter Non Spesifik dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 3 (1), 21-30.
- Banjarnahor, S., dan Artanti, N., 2014, Antioxidant properties of flavonoids, *Medical Journal of Indonesia*, 23(4), 239-244.
- Bruneton, J., 1999, *Phytochemistry Medicinal Plants*, Lavoisier Publishing, New York.
- Cholisoh Z, dan Utami W., 2008, Aktivitas Penangkal Radikal Ekstrak Etanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). *Jurnal Pharmacon*, 9 (1), 33-40.
- Dachriyanus, 2004, *Analisis Struktur Senyawa Organik secara Spektroskopi*, Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas, Sumatera Barat.

- Dalimartha, S., dan Adrian F., 2013, *Fakta Ilmiah Buah dan Sayur*, Penebar plus, Jakarta.
- Dariussandy, 2016, (<https://seputarsurabaya.wordpress.com/0186/> diakses 27 November 2017).
- Depkes, 1995, *Materia Medika Indonesia Jilid VI Cetakan Pertama*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes, 2010, *Farmakope Herbal Indonesia*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Depkes, 2011, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I Suplemen II*, Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Desmiaty, Y., Ratnawati, J., Andini, P., 2009, Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk.*) secara Kolorimetri Komplementer, *Seminar Nasional POKJANAS TOI XXVI, Universitas Jendral Achmad Yani, Jawa Barat*.
- Devi, E.T., Kusnadi, K., 2017, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavanoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium Graveolens L.*) dengan Metode Refluks, *Panca sakti Science Education Journal PSEJ*, 2(1), 56-67.
- Dewi, K., dan Widyastuti, Y., 2010, Uji Potensi Antioksidan Herba Seledri (*Apium graveolens L.*), *Badan Litbang Kesehatan Kementrian Kesehatan RI*, 3(1), 59-64.
- Diah, A.W., Agustina, R., Marisa., 2019, Determination Of Flavonoid Levels In Raru Wood Stone (*Cotylelobiummelanoxylop*) With Method Uv-Vis Spectrofotometry, *Skripsi, Akademi Analisis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia, Lampung*.
- Dyah, N.A., Endang, K., Fahrauk, F., 2014, Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2 (2), 45-49.
- Ergina, Siti N., dan Indarini D.P., 2014, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol, *Jurnal Akademi Farmasi*, 3(3), 165:172.
- Faisal, H., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus L. Moench*) Dengan Metode DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS, *Journal Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life*, 2(1), 1-5.

- Fitriana, W.D., Fatmawati, S., Ersam, T., 2015, *Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-Fraksi Daun Kelor (Moringa oleifera)*, Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains, Bandung.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gunawan, D., dan Mulyani, S., 2008, *Ilmu Obat Alam (farmakognosi)*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Gusrav, S., Deshkar, N., Gulkari, V., Duragkar, N., dan Patil, A., 2007, Free Radical Scavenging Activity of Polygala chinensis Linn., *Journal Pharmacology*, 2, 245-253.
- Hanani, E., 2017, *Analisis Fitokimia*, Penerbit buku kedokteran EGC, Jakarta.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi I*, ITB, Bandung.
- Haryoto, 2009, *Bertanam Kangkung Raksasa di Pekarangan*, Kanisius, Yogyakarta.
- Helmi, A., Meydiza, F., Surya, D., 2013, Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III 2013 293 Pengaruh Fraksi Air Herba Seledri (*Apium Graveolens* L.) terhadap Kadar Kolesterol Total Mencit Putih Jantan Hiperkolesterol, *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Farmasi Universitas*, 6, 293.
- Hunter, D.J., dan Reddy, K.S., 2013, Noncommunicable Diseases, *N. Engl. J. Med*, 369, 1336-1343.
- Imrawati, I., Mus, S., Gani, S.A., Bubua, K.I., 2018, Antioxidant Activity of Muntingia calabura L. Leaves Ethyl Acetate Fraction, *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(2), 40-54.
- Indrayani, S., 2008, Validasi Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Krim secara Kolorimetri dengan Pereaksi $AlCl_3$, *Skripsi.*, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Isnidar, Wahyuono, S., Setyowati, E.P., 2011, Isolasi dan Identifikasi senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki thumb.*) dengan Metode DPPH, *Majalah Obat Tradisional*, 3(16), 157-164.
- Juarni, 2017, Pengaruh Pupuk Cair Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) terhadap Pertumbuhan Tanaman Seledri (*Apium Graveolens* L.) sebagai

Penunjang Praktikum Fisiologi Tumbuhan, *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Ar-raniry, Banda Aceh.

- Khopkar, S.M., 2008, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI Press, Jakarta.
- Kusnadi, K., Devi, E.T., 2017, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavanoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium Graveolens L.*) dengan Metode Refluks, *Panca sakti Science Education Journal PSEJ*, 2(1), 56-67.
- Kusuma P., 2012, Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Etanol Buah Pare, *Skripsi*, Fakultas Ilmu Kesehatan, Makasar.
- Kolarovic, Jovanka, Mira, P., Janka, Z., Svetlana, T., dan Matilda, V., 2010, Antioxidant Activities of Celery and Parsley Juices in Rats Treated with Doxorubicin, *J. Molecules*, 15(9), 6193-6204.
- Kosasih, E.N., Tony, S., Hendro, H., 2006, *Peran Antioksidan pada Lanjut Usia*, Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia, Jakarta.
- Li, P., Jia J., Zhang D., Xie J., Xu, X., dan Wei, D., 2014, In Vitro and In Vivo Antioxidant Activities of a Flavonoid Isolated from Celery (*Apium graveolens L.*), *Food Funct*, 5(1), 50-6.
- Lucky S.R., Sri W., Sutanto, 2019, Validasi Metode Analisis Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Binahong secara Kolorimetri, *Jurnal Farmasi*, FMIPA, Bogor.
- Maravirnadita A.H., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa Carambola*) dengan Metode Dpph, *Naskah Publikasi Universitas Ahmad Dahlan*, 14(3), 21.
- Mardawati, E., Filianty, dan Harta, 2008, *Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana L.) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya*, Unpad, Bandung.
- Markham, 1988, *Cara Identifikasi Flavonoid, Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata*, hal 1-20, Penerbit ITB, Bandung.
- Moelyono, M.W., Rochjano A.V.H., Diantini, A., Musfiroh, I., Sumiwi, S.A., Iskandar, Y., Susilawati, 2016, Aktivitas Antioksidan Daun Iler *Plectranthus scutellrioides (L.) R.Br*, *Jurnal Farmasi Indonesia*, 8(1), 275-276.

- Molyneux, P., 2004, The Use Of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (Dpph) for Estimating Antioxidant Activity, *J. Science Technicolgy*, 26 (2), 211-219.
- Mursyidi, A., 1990, *Analisis Metabolit Sekunder*, Pusat Antar Universitas UGM, Yogyakarta.
- Musrin, T., Ansharullah, Asyik, N., 2018, Kajian Pembuatan Pangan Fungsional dalam Bentuk Sirup dari Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L.*), *J Sains dan Teknologi Pangan*, 3(3), 129-131.
- Muzakar, dan Nuryanto, 2012, Pengaruh Pemberian Air Rebusan Seledri Terhadap Penurunan Tekanan Darah pada Penderita Hipertensi, *Jurnal Pembangunan Manusia*, 6(1), 1-10.
- Nurliana, Noviyanti, A., Azwir, 2017, Identifikasi Tanaman Sayuran di Kecamatan Kuta Baro Kabupaten Aceh Besar sebagai Media Pembelajaran Hortikultura, *Jurnal Majalah Ilmiah Universitas Al muslim*, 9 (3), 37-44.
- Oktaviani F., 2018, Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Ekstrak Heksan, Aseton, Metanol dan Air dari Seledri (*Apium graveolens L.*), *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang.
- Pulungan W.U., 2018, Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol Daun Mobe (*Artocarpus Lacucha Buch-Ham.*) dengan Metode Pemerangkapan ABTS, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Medan.
- Ramadhan, P., 2015, *Mengenal Antioksidan*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Ramadhani, M.A., Hati, A.K., Lukitasari, N.F., 2020, Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96%, *Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1), 13-14.
- Redha, A., 2010, Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis, *Jurnal Belian*, 9(2), 196-202
- Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas), 2018, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI, (www.depkes.go.id) diakses Agustus 2018.
- Riyanto A., 2011, *Pengolahan dan Analisis Data Kesehatan*, Nuha Medika, Yogyakarta.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, ITB, Bandung.

- Rohman, A., 2014, *Spektroskopi Inframerah Dan Kemometrika Untuk Analisis Farmasi*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Rohyami, Y., 2008, Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff .I Boerl., *Logika*, 1(8), 8.
- Rosahdi, T.D., Kusmiyati, M., Wijayanti, F.R., 2013, Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapih dengan Metode DPPH, *Jurnal ISTEK*, 7(1), 2.
- Rosidah, Yam, M.F., Sadikun, A., Asmawi, M.Z., 2008, Antioxidant Potential of *Gynura procumbens*, *Pharmaceutical Biology*, 46(9), 616-625.
- Rusdiana, T., Sriwidodo, Solahudin J., Halimah E., Irwan A.W., Amin S., Sumiwi S.A., dan Abdasah, M., 2015, Pengujian Efek Antikalkuli dari Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) secara In Vitro. *Journal pharmaceutical Science and Technology*, 2(2), 63-67.
- Santoso, U., 2016, *Antioksidan Pangan*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sarker, S.D., Latif, Z., dan Gray 2006, *Natural products isolation*, Humana Press Inc, New Jersey.
- Sastrohamidjojo, H., 2013, *Dasar-dasar Spektroskopi*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sayuti, K., dan Yenrina, 2015, *Antioksidan Alami dan Sintetik*, Andalas University Press, Padang.
- Seidel, V., 2006, *Natural Products Isolations.*, Humana Press, Totowa, New Jersey.
- Senevirathne, M., S. Kim, N. Siriwardhana, J. Ha, K. Lee dan Y. Jeon., 2006, Antioxidant potential of *Ecklonia cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition, *Food Science and Technology International*, 12, 27-38.
- Shalaby E.A, Shanab S.M.M., 2013, Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*, *Indian J Geo-Marine Sci*, 42, 556– 64.
- Sholeh S.N., 2009, Uji Aktivitas Ekstrak n-heksanaa dan Etanol Daun Sirih terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Basillus Subtillis* dan Identifikasi Senyawa Aktifnya, *Skripsi*, Fakultas Saintek UIN Suka, Yogyakarta.

- Sitorus, M., 2013, *Spektroskopi Elusidasi Struktur Molekul Organik*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Snyder, R.L., Kirkland, J.J., 2010, *Introduction Liquid Chromatography*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.
- Sowbhagya, 2014, Chemistry, technology, and nutraceutical functions of celery (*Apium graveolens* L.): an overview, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 54(3), 389-98.
- Sundari, P., 2012, Pertumbuhan Tanaman Seledri (*Apium graveolens* L.) pada Beberapa Jenis Media Tanam dan Dosis Pupuk Organik Cair, *Skripsi*, Universitas IBA, Palembang.
- Susanti T., 2017, Analisis Kadar dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Minyak Atsiri Daun Muda dan Daun Tua Tanaman Pucuk Merah (*Syzigium mytifolium* Walp., *Skripsi*, Fakultas Farmasi USB, Surakarta.
- Tian, Y., Crump CJ., Li YM., 2018, Dual role of -secretase cleavage in the regulation of -secretase activity for the amyloid production, *J. Biol Chem*, 285, 32549-32556.
- Tyagi, Satyanand, 2013, Medical Benefits of *Apium Graveolens* (Celery Herb), *Journal of Drug Discovery and Therapeutics*, 1(5), 36-38.
- Uddin Z, S.A., 2015, In vitro antimicrobial, antioxidant activity and phytochemical screening of *Apium graveolens*, *J. Pharm Sci.*, 28(5), 1699-704.
- Ulfah, R., Delianis P., Ali D., Junaedi, 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Keong Bakau (*Telescopium telescopium*) dengan Pelarut yang Berbeda terhadap Metode DPPH (Diphenyl Picril Hidrazil), *Journal Of Marine Research*, 2(4), 36-45.
- Wardaningsih, S., Setyowati, E.P., Wahyuono, S., 2011, Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila Glauca* J. Sm), *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 157.
- Wijayanti M.N., 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Buah Buni (*Antidesma Buntus* L.) dengan Metode DPPH, *Skripsi*, Fakultas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Wicaksono, I.B., Ulfah, M., 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium*

guajava L.) Dengan Metode Dpph (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *J Inovasi Teknik Kimia*, 2(1), 44 – 48.

Yu, L., 2002, Free Radical Scavenging Properties of Wheat Extracts, *Journal of Cultural And Chemistry*, (50), 1619-1624.

Zirconia, A., Kurniasih, N., dan Amalia, V., 2015, Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan Metode Pereaksi Geser, *Al Kimiya*, 2(1), 1-9.