

# 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 Boucharhart, 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 µL. 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 °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 °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 µL 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 µL 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 µL 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 µL 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 µL 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

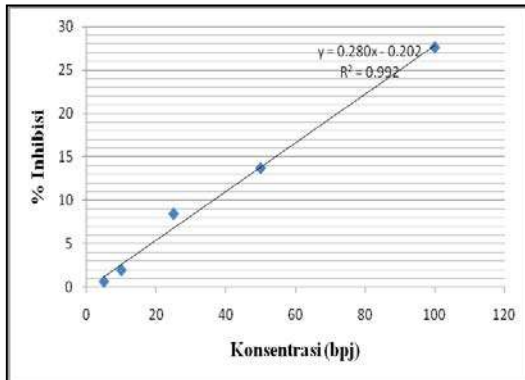
Metode DPPH dipilih karena memiliki banyak keuntungan dibandingkan dengan metode dengan metode uji aktivitas antioksidan lain diantaranya mudah, murah, paling umum digunakan secara in vitro, sederhana, cepat, memerlukan sampel dalam jumlah yang tidak terlalu banyak, tidak membutuhkan banyak reagen dan 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.

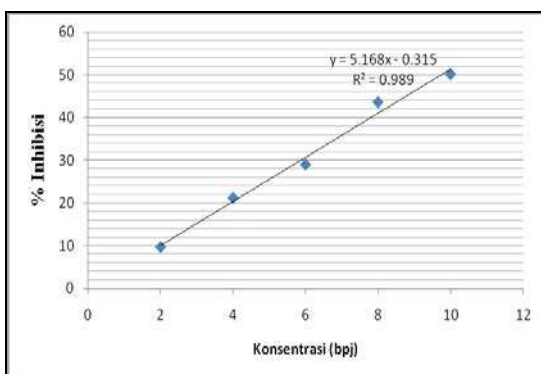
**Tabel 2.** Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun seledri *Apium graveolens L.* terhadap DPPH dengan Spektrofotometri UV-Vis.

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	$Y=5,168x-0,315$ $R^2=0,989$	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	$Y=0,280x-0,202$ $R^2=0,992$	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.

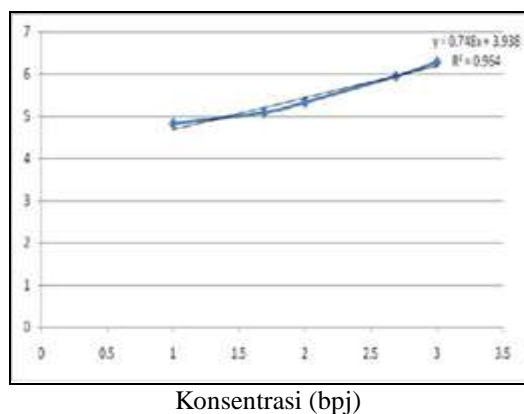


**Gambar 2.** Grafik IC<sub>50</sub> Aktivitas Antioksidan Standar Vitamin C.

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.



# EFEKTIVITAS ANTIHIPERURISEMIA EKSTRAK ETANOL DAUN SELEDRI (EEDS) PADA TIKUS INDUKSI KALIUM OKSONAT

Yasinta Rakanita<sup>1,\*</sup>, Hastuti L<sup>1</sup>, Joni Tandil<sup>1</sup>, Sri Mulyani<sup>2</sup>

Program Studi farmasi, STIFA Pelita Mas Palu, Sulawesi Tengah<sup>1)</sup>  
Jurusan Farmasi, FMIPA, UNTAD Palu, Sulawesi Tengah<sup>2)</sup>

\*Email : [cintatjokroadhiguno@gmail.com](mailto:cintatjokroadhiguno@gmail.com)

## ABSTRACT

*Celery (Apium graveolens Linn) is a plant that contains phytochemicals like alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. This study aims to prove the effectiveness of the ethanol extract of celery leaf in lowering uric acid levels in white male rats and determine the dose of celery leaf extract which is effective in lowering uric acid levels in male rats. Celery leaf extract prepared by maceration with 96% of ethanol. The design of the study is a randomized block design. Data were analyzed by using statistical test Analysis of Variance (ANOVA) at a significant level 95% and were using 30 male rats divided into 6 treatment groups, each treatment consisted of five rats. Animals model hyperuricemia were induced by potassium oxonate 250 mg/kg except the normal group. Group I (normal) researcher provides a standard, group II (negative) suspension given Na CMC 0,5%, group III (positive) by the suspension of allopurinol 5,4 mg/kg, groups IV, V, and VI were given ethanol extract of celery leaf each with a dose of 50 mg / kg, 100 mg / kg, and 200 mg / kg. Based on the test result that further BNJ dose of ethanol extract of celery leaf is effective with 50 mg /kg.*

**Keywords:** Hyperuricemia, Celery Leaf Extract, Potassium Oxonate

## ABSTRAK

Seledri adalah tanaman yang memiliki kandungan kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efektivitas ekstrak etanol daun seledri dalam menurunkan kadar asam urat pada tikus putih jantan dan menentukan dosis ekstrak daun seledri yang efektif dalam menurunkan kadar asam urat pada tikus putih jantan. Ekstrak daun seledri dibuat secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji statistik Analisis Sidik Ragam pada taraf kepercayaan 95% yang menggunakan 30 ekor tikus putih jantan dibagi 6 kelompok perlakuan, tiap perlakuan terdiri dari 5 ekor. Model hewan dibuat hiperurisemia menggunakan penginduksi kalium oksonat dengan dosis 250 mg/kg BB. Kelompok I (normal) diberikan pakan standar, kelompok II (negatif) diberi suspensi Na CMC 0,5%, kelompok III (positif) diberi suspensi allopurinol 5,4 mg/kg BB, kelompok IV, V, dan VI diberi ekstrak etanol daun seledri masing-masing dengan dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, dan 200 mg/kg BB. Berdasarkan uji lanjut BNJ diperoleh hasil bahwa dosis ekstrak etanol daun seledri yang efektif adalah 50 mg/kg BB.

**Kata kunci:** Hiperurisemia, Ekstrak Daun Seledri, Kalium Oksonat

## PENDAHULUAN

Gaya hidup modern telah membawa manusia dalam kehidupan yang serba instan, praktis dan cepat. Dilihat dari sudut pandang kesehatan, gaya hidup seperti ini tentu saja menimbulkan dampak yang tidak menguntungkan. Akibat dari semua itu banyak orang yang terserang berbagai macam penyakit salah satunya adalah hiperurisemia.<sup>1</sup> Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013 prevalensi penyakit sendi berdasarkan diagnosis di Indonesia 11,9% dan berdasarkan diagnosis atau gejala sebesar 24,7%. Prevalensi berdasarkan diagnosis tertinggi terdapat di Bali (19,3 %), diikuti Aceh (18,3 %). Berdasarkan diagnosis atau gejala tertinggi terdapat di Nusa Tenggara Timur (33,1 %), diikuti Jawa Barat (32,1 %). Sedangkan Sulawesi Tengah berdasarkan diagnosis (11,4 %) dan berdasarkan diagnosis atau gejala sebesar (26,7 %).<sup>2</sup>

Hiperurisemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat darah di atas normal. Pada manusia, asam urat merupakan produk akhir metabolisme purin. Purin yang menghasilkan asam urat dapat berasal dari tiga sumber, yaitu purin dari makanan, konversi asam nukleat jaringan menjadi nukleotida purin, dan sintesis *de novo* basa purin. Hiperurisemia bisa terjadi karena peningkatan metabolisme asam urat, penurunan pengeluaran asam urat, dan gabungan antara kedua mekanisme tersebut.<sup>3</sup>

Salah satu tanaman yang dapat digunakan dalam pengobatan tradisional oleh masyarakat adalah daun seledri (*Apium graveolens* Linn).<sup>4</sup> Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa pada dosis 1 g/kgBB Fraksi Etil Asetat Daun Seledri menunjukkan efek penurunan kadar asam urat pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan kalium oksonat.<sup>5</sup> Penelitian lain menyatakan bahwa pada dosis 50 mg/kgBB Fraksi Air Herba Seledri secara signifikan dapat

menurunkan kadar asam urat pada mencit hiperurisemia.<sup>6</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antihiperurisemia EEDS pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi kalium oksonat dan untuk mengetahui dosis EEDS yang efektif memberikan efek antihiperurisemia.

## METODE

**Alat :** Ayakan, batang pengaduk, bejana maserasi, blender, cawan porselin, corong gelas, erlenmeyer, gelas kimia, gunting bedah, inkubator, kandang hewan uji, kuvet semi mikro, labu ukur, mikropipet, mortir dan stamper, penangas air, pipet tetes, rak tabung reaksi, *rotapavor*, sendok tanduk, sentrifugator, spektrofotometer UV-Vis sonde oral, spuit injeksi, spuit oral, tabung darah, tabung reaksi, tabung *vacutainer*, timbangan kasar dan timbangan analitik.

**Bahan :** Allopurinol, alumunium foil, amoniak, aquadest, *aqua pro injection* daun seledri, etanol 95%, FeCl<sub>3</sub>, HCl, hewan uji, kalium oksonat, kertas saring, NaCl, Na CMC, pakan pellet, pereaksi dragendroff, reagen kit asam urat, sarung tangan dan serbuk magnesium

## Pembuatan Sampel

Bahan uji yang digunakan adalah daun seledri yang diperoleh dari kota Palu Provinsi Sulawesi Tengah. Pembuatan simplisia meliputi diambil dan dikumpulkan secukupnya kemudian disortasi basah, perajangan, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung dan disortasi kering.

## Pembuatan EEDS

Serbuk simplisia diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 96%, lalu disaring, dipekatkan dengan *rotavapor* dan diupakan di atas penangas air.

### Uji Penapisan Fitokimia

Uji penapisan fitokimia EEDS meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin.

### Pemilihan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan berumur 3-4 bulan, berat badan 150-200 gram.

### Pengujian Aktivitas EEDS

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Masing-masing terdiri dari 5 ekor. 6 kelompok percobaan tersebut adalah:

1. Kelompok I: Kontrol normal, diberi pakan standar dan aquadest secara peroral.
2. Kelompok II: Diberikan suspensi Na CMC dosis 0,5 % mg/kg BB
3. Kelompok III: Diberikan suspensi allopurinol dosis 5,4 mg/kg BB
4. Kelompok IV: Diberikan suspensi EEDS 50 mg/kg BB
5. Kelompok V: Diberikan suspensi EEDS 100 mg/kg BB
6. Kelompok VI: Diberikan suspensi EEDS 200 mg/kg BB

Mulanya hewan dipuasakan selama 18 jam dan ditimbang bobot badannya. Sebelum diberikan perlakuan,

hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok 1 (kontrol normal), kelompok 2 (kontrol negatif), kelompok 3 (kontrol positif), kelompok 4 (ekstrak daun seledri 50 mg/kg BB), kelompok 5 (ekstrak daun seledri 100 mg/kg BB), dan kelompok 6 (ekstrak daun seledri 200 mg/kg BB). Dilakukan pengukuran kadar asam urat awal pada semua kelompok hewan uji. Kemudian diinduksi kalium oksonat secara i.p (interaperitonal) setelah jam ke-2 diukur kadar asam urat setelah induksi, dan diukur kembali kadar asam urat tikus pada jam ke 4 dan ke 6 setelah pemberian larutan uji. Data hasil penurunan kadar asam urat tikus dianalisis dengan uji Analisis Sidik Ragam (ANSIRA) dengan taraf kepercayaan 95%. Kemudian dilanjutkan dengan uji analisis lanjut BNJ

### HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia EEDS

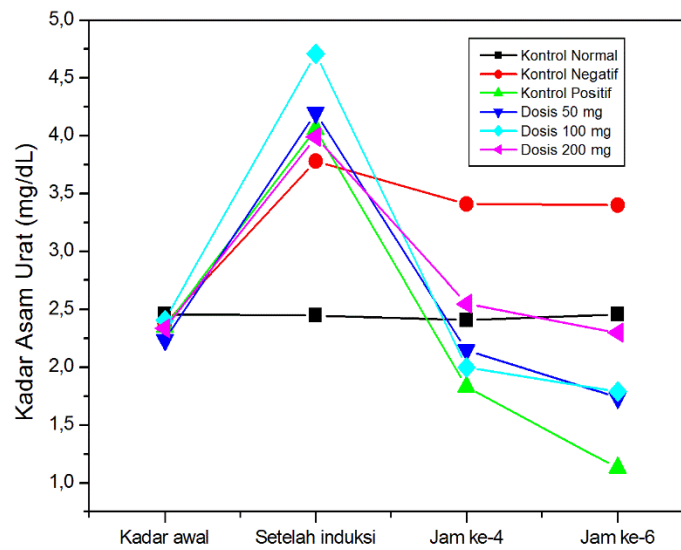
Jenis Uji	Ket
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+

Ket : Positif (+) = terdeteksi adanya golongan senyawa yang diuji

Tabel 2. Rerata Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Jam Ke-4 dan Jam Ke-6

Kelompok Perlakuan	Kadar Asam Urat (mg/dL) ± SD	
	Jam Ke-4	Jam Ke-6
Kontrol normal	2,41±0,00 <sup>b</sup>	2,46±0,00 <sup>b</sup>
Kontrol negatif	3,41±0,57 <sup>a</sup>	3,40±0,30 <sup>a</sup>
Kontrol positif	1,83±2,23 <sup>b</sup>	1,13±2,92 <sup>b</sup>
Dosis 50 mg/kgBB	2,15±2,24 <sup>b</sup>	1,74±2,93 <sup>b</sup>
Dosis 100 mg/kgBB	2,55±2,16 <sup>b</sup>	1,79±2,30 <sup>b</sup>
Dosis 200 mg/kgBB	2,00±2,24 <sup>b</sup>	2,30±2,19 <sup>b</sup>

Keterangan : Abjad yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Abjad yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan.



Gambar 1. penurunan kadar asam urat darah tikus putih jantan sebelum perlakuan, setelah induksi dan selama perlakuan.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol daun seledri pada tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat. Bahan uji yang digunakan adalah daun seledri (EEDS). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode maserasi. Cairan penyari yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah etanol 96%.

Ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan perendaman selama  $3 \times 24$  jam dengan sesekali diaduk. Hal ini bertujuan untuk menghasilkan penarikan senyawa yang lebih sempurna, sehingga semua senyawa dapat terekstraksi seluruhnya. Pemekatan ekstrak dilakukan pada alat rotavapor dan diuapkan di atas penangas air sehingga diperoleh ekstrak kental daun seledri yaitu 19 gram.

Pengujian fitokimia dilakukan sebagai uji awal untuk mengetahui keberadaan senyawa-senyawa bioaktif yang memberikan khasiat atau efek biologis yaitu senyawa metabolit sekunder yang diharapkan dapat berperan sebagai antihiperurisemia. Pengujian pada ekstrak

daun seledri menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin.

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih karena tikus memiliki proses absorpsi sistem pencernaan dan sistem metabolisme terhadap obat uji yang relatif mirip dengan sistem pencernaan manusia. Pemilihan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan uji karena tikus jantan memiliki kestabilan hormonal dibanding tikus betina, karena tikus betina mengalami siklus estrus masa kehamilan dan menyusui yang akan mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji. Tikus putih Jantan (*Rattus norvegicus*) tidak memiliki hormon estrogen, walaupun ada jumlahnya sangat sedikit. Hormon estrogen bermanfaat untuk meningkatkan pengeluaran asam urat melalui urin.<sup>7</sup>

Kalium oksonat merupakan inhibitor urikase yang kompetitif untuk menaikkan kadar asam urat dengan cara mencegah asam urat berubah menjadi allantoin dan tidak tereliminasi lewat urin. Kondisi hiperurisemia dibuat dengan menginduksi masing-masing tikus putih

(*Rattus norvegicus*) menggunakan kalium oksonat dengan dosis 250 mg/kg BB secara intraperitoneal.<sup>8</sup>

Allopurinol digunakan sebagai pembanding untuk mengetahui penurunan kadar asam urat bahan uji. Pada umumnya allopurinol dikonsumsi untuk penderita hiperurisemia walaupun waktu paruhnya pendek, allopurinol mengalami biotransformasi dari hexantin oksidase menjadi aloksantin yang waktu paruhnya lebih panjang. Allopurinol merupakan obat urikostatik yang bekerja dengan menghambat xantin oksidase sehingga hipoxantin tidak akan diubah menjadi xantin dan asam urat turun. Adanya penghambatan xantin oksidase meningkatkan hipoxantin dan xantin yang akan banyak diekskresikan lewat urin.

Penetapan kadar asam urat berdasarkan reaksinya enzimatis menggunakan reagen uric acid FS TBHBA (asam 2,4,6 tribromo 3 hidroksi benzoate). Dalam penetapan kadar asam urat yang perlu diperhatikan adalah senyawa pengganggu terutama dari sel-sel darah merah yang diketahui yang paling mengganggu adalah glutation dan ergotation. Untuk mengatasinya maka diambil serum darah merah dan darah yang diambil diusahakan tidak terjadi hemolisis.

Hasil uji perlakuan pada jam ke-4 antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan lainnya menunjukkan pada kontrol negatif tikus masih mengalami hiperurisemia yang ditunjukkan dengan kadar asam urat yang tinggi  $3,41 \pm 0,57$  mg/dL. Hal ini menunjukkan bahwa allopurinol, EEDS 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB dapat menurunkan kadar asam urat pada tikus jantan yang dibuat hiperurisemia. Kadar asam urat setelah perlakuan yang diperoleh berada pada jam ke-4 adalah  $1,83-2,55$  mg/dL.

Hasil uji perlakuan pada jam ke-6 antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan lainnya menunjukkan pada kontrol negatif tikus

masih mengalami hiperurisemia yang ditunjukkan dengan kadar asam urat yang tinggi  $3,40 \pm 0,30$  mg/dL. Hal ini menunjukkan bahwa allopurinol, EEDS 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB dapat menurunkan kadar asam urat pada tikus jantan yang dibuat hiperurisemia. Kadar asam urat setelah perlakuan yang diperoleh berada pada jam ke-6 adalah ( $1,13-2,30$  mg/dL).

Berdasarkan hasil uji lanjut BNJ pada jam ke-4 menunjukkan bahwa kelompok dosis EEDS 50 mg/kg BB memberikan efek yang berbeda tidak signifikan dengan kontrol positif allopurinol dan dengan kelompok dosis EEDS pada pembanding 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB. Hal ini menunjukkan bahwa semua kelompok dosis EEDS memiliki efek dalam menurunkan kadar asam urat tikus putih jantan. Hasil ini ditunjukkan dengan melihat semua kelompok dosis EEDS dan kontrol positif yang diberikan allopurinol terdapat pada wilayah yang sama.

Berdasarkan hasil uji lanjut BNJ pada jam ke-6 menunjukkan hasil yang sama dengan uji BNJ jam ke-6 bahwa secara umum yang menunjukkan ketiga variasi dosis ekstrak etanol daun seledri yaitu 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, dan 200 mg/kg BB berada dalam satu wilayah dengan kontrol positif, artinya memiliki efek yang sebanding dengan kontrol positif sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun seledri memiliki efek dalam menurunkan kadar asam urat pada tikus putih jantan hiperurisemia.

Senyawa golongan flavonoid bekerja dengan cara menghambat xanthine oksidase sehingga dapat mengurangi produksi asam urat yang berlebihan, alkaloid juga mampu menekan dan mengurangi frekuensi serangan akut dan menghilangkan rasa nyeri dengan cara menghambat sintesis dan pelepasan leukotrien. Sedangkan senyawa tannin diketahui dapat mengikat radikal bebas selama perubahan purin menjadi asam urat dan tanin juga bersifat astrigenasi sehingga

dapat menciutkan selaput lendir. Saponin bekerja dengan cara mengurangi aktivitas enzim xantin oksidase dalam serum.<sup>9</sup> Pengobatan penyakit gout dapat dilakukan dengan cara menurunkan konsentrasi asam urat dalam darah ataupun dengan mengurangi rasa nyeri yang ditimbulkan.<sup>10</sup>

Dosis ekstrak etanol daun seledri yang paling efektif dalam menurunkan kadar asam urat yaitu dosis 50 mg/kg BB yang merupakan variasi dosis ekstrak etanol daun seledri yang terkecil. Hal ini disebabkan karena belum dilakukan uji toksisitas pada dosis 100 dan 200 mg/kg, sehingga penggunaan dosis terkecil dapat meminimalisir efek samping toksik dari ekstrak yang diberikan, artinya dosis 50 mg/kg BB merupakan konsentrasi terbaik untuk menurunkan kadar asam urat.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* Linn.) dengan variasi dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB dapat memberikan efek penurunan kadar asam urat pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).
2. Ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* Linn.) dengan dosis 50 mg/kg BB merupakan dosis efektif dalam menurunkan kadar asam urat darah pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Noviyanti. 2015. *Hidup Sehat Tanpa Asam Urat*. PT. Suka Buku. Yogyakarta. Hal. 9
2. Riset Kesehatan Dasar. 2013. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar Indonesia*. Departemen Kesehatan RI. Hal: 94-95

3. Tim editor. 2006. *Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid II Edisi IV. Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 1213.
4. Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 2008. *Seledri Sebagai Bahan Obat Alam*. Editorial Natural Kos. Vol. 3. Hal 8-9.
5. Ervina, T. 2012. *Pengaruh Pemberian Fraksi Etil Asetat Daun Seledri (Apium graveolens Linn.) Terhadap Kadar Asam Urat Serum Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar Hiperurisemia*. Skripsi. Hal.110
6. Juwita. dkk, 2014. *Pengaruh Fraksi Air Herba Seledri (Apium graveolens L.) Terhadap Kadar Asam Urat Mencit Jantan Hiperurisemia*. Prosiding Seminar Nasional dan Workshop “Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik IV” Hal. 187 dan 190
7. Pribadi, A.G. 2008. *Penggunaan Mencit dan Tikus Sebagai Hewan Model Penelitian Nikotin*. Skripsi Program Studi Teknologi Produksi Ternak Fakultas Peternakan Institute Pertanian. Bogor. Hal 31
8. Sigma Aldrich. 2001. *Certificate of Analysis Potassium Oxonate*. USA. Hal 45Mun'im Abdul dan Hanani Endang., 2011. *Fitoterapi Dasar*. Dian Rakyat. Jakarta Hal 285-286
9. Candrawati. 2010. *Efek Pemberian Ekstrak Daun Seledri (Apium graveolens Linn.) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus)*. Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala. Surabaya. Hal. 50
10. Syarif, A., dkk. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 564

## ORIGINAL ARTICLE

# Screening in Vitro Antimicrobial Activity of Celery (*Apium Graveolens*) Against *Staphylococcus* sp.

Husnul Khotimah<sup>1</sup>, Diyantoro<sup>1</sup>, Dwi Wahyu Indriati<sup>1</sup>, Aliyah Siti Sundari<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Antimicrobial Resource Alternative Studies for Emerging and Re-emerging Infectious Disease Research Group, Division Medical Laboratory Technology Department of Health, Faculty of Vocational Studies, Universitas Airlangga, Surabaya 60286, East Java, Indonesia

## ABSTRACT

**Introduction:** Many herbal antimicrobials have been developed to treat various diseases. Celery (*Apium graveolens*) has antibacterial potential because it contains flavonoids, saponins, and tannins. The purpose of the current research was to determine the extract celery potential as an agent of antibacterial *Staphylococcus* sp. **Methods:** This research was conducted by two methods, namely the well diffusion test and the dilution test. The parameters measured for the well diffusion test were the diameter of the inhibition zone, and for the dilution test with Total Plate Count (TPC), for the determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The inhibition zone diameter data were analyzed statistically using SPSS 20.0, while the dilution test data were analyzed descriptively. **Results:** The results of the well diffusion test showed that the concentration of celery extract affected inhibiting bacterial growth at all concentrations. The highest value of the inhibition zone diameter of celery extract was found at a concentration of 100%, for *Staphylococcus aureus* there (11.67 ± 0.57 mm), and *Staphylococcus epidermidis* (11.67 ± 0.57mm). The MIC value of celery extract on the *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* growth was at 25 %. Meanwhile, the MBC could not be found because at the highest concentration of the extract there was still bacterial growth. **Conclusion:** In general, celery extract (*Apium graveolens*) had an effect in impeding the *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* growth.

**Keywords:** *Apium graveolens*, MBC, MIC, *Staphylococcus* sp.

## Corresponding Author:

Aliyah Siti Sundari, M.Si

Email: aliyah.sundari@vokasi.unair.ac.id

Tel: +62315033869

## INTRODUCTION

Antimicrobials are compounds that kill microorganisms by inhibiting bacterial growth. The widespread availability of antibiotics and inappropriate use of antibiotics have led to a phenomenon of bacterial resistance. The case of antibiotic resistance has constantly occurred in both humans and animals for a period of time (1). For that reason, it is urgently needed to develop alternative medicines to treat diseases.

Current developments regarding bacterial resistance to antibiotics necessitate the need to find new alternatives, an antibacterial agent. Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus* sp. are responsible for several infections, including respiratory and skin infections, urogenital diseases, and wound

contamination. *Staphylococcus aureus* is considered to be the main cause of nosocomial infection. It has resistance to a range of antimicrobial agents (2). A member of the coagulase-negative Staphylococci, *Staphylococcus epidermidis*, is an important commensal organism of human skin and mucous membranes. *Staphylococcus epidermidis* is known as the bacteria most often isolated in clinical culture and has emerged as the main nosocomial pathogen (3).

As an alternative, many herbal antimicrobials have been developed to treat various diseases. Antimicrobials are found mostly in natural ingredients such as plants and spices (4). Several plants that are often used as traditional medicines are celery leaves, betel leaves, papaya leaves, soursop leaves, gambier leaves, and others (5). One of the plants that have been used as an antimicrobial agent is celery (*Apium graveolens*) (6).

A celery seed extract has been commonly used as an anti-rheumatic treatment, rheumatic pain reliever, rheumatic conditions treatment, and gout treatment.

Apart from playing a role in relieving rheumatism, celery seeds have proven their uses in the treatments of asthma, bronchitis, and inflammatory conditions (7). Research on the ability of celery extract as antibacterial has been carried out. Celery leaf extract has antibacterial power against the growth of *Streptococcus mutans* (12,5 %) (8). The results of other studies show that celery essential oil has antibacterial properties against *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* (9). Therefore, it is necessary to study the use of celery extract as an antibiotic made from herbs that can be used as an alternative to antibiotics for gram-positive bacteria.

## MATERIALS AND METHODS

### Preparations of extracts

The extraction procedure was carried out with 750 grams of dry celery extracted by maceration method using 96% ethanol solvent. Celery powder soaked in 96% ethanol for 3x24 hours, stored in a dark room. To attain a semi-solid mass, a rotary evaporator is utilized to entirely remove the solvent in the extract. The rotator carried out the concentration at 40°C. The fractions were stored in CMC-Na (Carboxymethyl Cellulose–Natrium) at 4°C until being tested.

### Bacterial Preparation

The bacteria which consisted of two Gram-positive strains, *S. aureus* (ATCC 29213) and *S. epidermidis* (ATCC 14990), were maintained at the Laboratory of Center for Health, Surabaya. To prepare the deferral of the cell, they were cultured overnight (+18 h) at 37°C in the broth of nutrients. The deferral of the bacteria cell was homogenized. Then, the adjustment to 0.5 McFarland standards ( $1.0 \times 10^8$  CFU/mL) using spectrophotometry was performed.

### Antimicrobial Susceptibility Assays

The antibacterial assay of crude extracts was conducted using Wells diffusion method. 15 ml of Muller Hinton Agar (MHA) (pH 7.2 ± 0.2, at 25°C) which has been sterilized were applied into the sterile Petri dishes surface (diameter of 9 cm). This stage allowed them to settle the preparation of the base plate. In the surface base plate, 10 ml of bacterial test suspension with  $1.0 \times 10^8$  CFU/ml (0.5 McFarland standards) were poured with a cotton swab to the base plate surface. The well diffusion method uses a concentration of 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, and 1000 ppm celery extract. Separately, the distinguished concentrations were equipped by dissolving the extract with CMC-Na (Carboxymethyl Cellulose–Natrium). On the MHA surface, the wells were made of a sterile cork borer by punching aseptically (6 mm in diameter). Approximately 50 µl of extract concentration were loaded into the wells (equivalent with a diameter of 6 mm and thickness of ± 4 mm of wells). The negative

control was filled with 50 µl of sterile aquadest and the positive control used chloramphenicol 30 mg/disc concentration, and the plate was incubated at 37 ± 2°C for 24 hours. After the incubation, the measurement in mm around the disc in the inhibition zones of growth around discs was performed. All of the experiments were conducted in triplicate. Then, the calculation of the mean value of each measurement was carried out.

### Determining the Minimum Inhibitory Concentration (MICs) and Minimum Bactericidal Concentration (MBCs)

The determination of MIC values was carried out by utilizing the method of broth dilution. Concisely, the cultures of microbial were set by suspending one colony of isolates on agar media into 5ml Nutrient Broth. After 24 hours of incubation, the suspension was diluted to obtain the inoculum population according to the standard of 0.5 Mac Farland ( $1.0 \times 10^8$  CFU / ml). Then, it was diluted according to the concentration of the extract (250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, and 1000 ppm celery extract) using broth media and control (media and bacteria without celery extract). The addition of an equal volume of bacterial inoculum was carried out in every tube with celery extract. It was then incubated at 37 ± 2 °C for 24 hours. MIC value refers to the lowest concentration of a substance that obstructs the growth of bacterial seen in the media. MBC is determined by looking at the growth of bacteria on agar media. Planting streaks on agar was carried out to determine MIC and MBC values by the TPC method. It was then incubated for 48 hours at 37°C. The MBC was determined from the plant extract concentration with 100% inhibition value.

### Statistical Analysis

The collected data were described as mean Inhibition zone diameter ± SEM. One-way ANOVA was performed to analyze the documented results. SPSS version 20.0 was utilized in the data analysis.

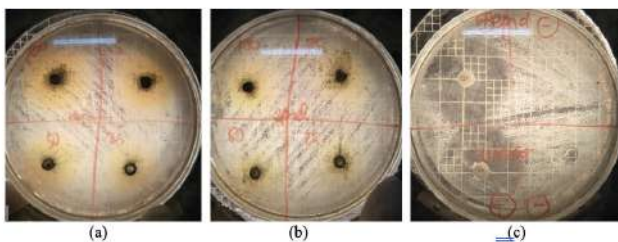
## RESULTS

### Antibacterial Activity with Well Diffusion Method

Figure 1 depicts the inhibition zones which were indicated by the extract of celery at distinguished concentrations against *Staphylococcus* sp. The test results showed that the higher the concentration of celery extracts, the greater the inhibitory power. Based on the data in Table I, the inhibition zone in the *Staphylococcus aureus* ( $7,67 \pm 0,57$  mm) and *Staphylococcus epidermidis* ( $7,33 \pm 1,15$  mm) had been seen from a concentration of 25%. At a concentration of 100%, they had the highest average value compared to the other concentrations, *Staphylococcus aureus* ( $11,67 \pm 0,57$  mm) and *Staphylococcus epidermidis* ( $11,67 \pm 0,57$  mm). The zone of inhibition diameter has



a relation to the extract concentration. The higher the extract concentration, the wider the inhibition zone was formed. This also shows the stronger antibacterial power possessed by the celery extract.



**Figure 1 :** Result of celery extract inhibition test on bacteria (a) *Staphylococcus aureus* (b) *Staphylococcus epidermidis*, and (c) Positive control (Chloramphenicol 30 µg) and negative control (disc antibiotic blank).

**Table I :** Zone of inhibition of the plant extracts

Bacteria	Concentration	Diameter (mm)	CI		p-value
			lower	Upper	
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	7.67 ± 0.58	6.23	9.10	0.00
	50	9.00 ± 0.00	9.00	9.00	
	75	9.67 ± 0.58	10.00	10.00	
	100	11.67 ± 0.58	10.23	13.10	
	Control (+)	30.33 ± 0.58	28.90	31.77	
	Control (-)	0.00 ± 0.00	0.00	0.00	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	25	7.33 ± 1.15	6.23	9.10	0.00
	50	8.00 ± 1.73	3.70	12.30	
	75	9.00 ± 1.00	6.52	11.48	
	100	11.67 ± 0.58	10.23	13.10	
	Control (+)	31.00 ± 1.73	26.70	35.30	
	Control (-)	0.00 ± 0.00	0.00	0.00	

Data are means of three replicates (n = 3) ± standard error, statistic with ANOVA Sig <0.05

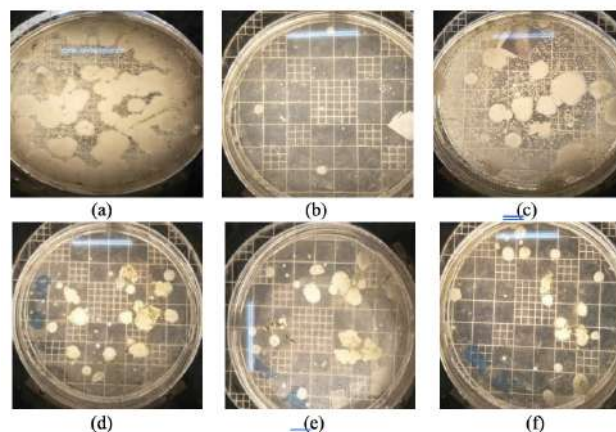
Based on statistical analysis, celery extract has an effect in inhibiting the growth of the bacteria of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. The analysis results of variant (ANOVA test) showed that the effect of celery extract on the test bacteria *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* has a significant difference in the inhibition zone formed between treatments (p <0.05) The concentration of 25% showed the lowest area diameter value in the two

tested bacteria. Furthermore, the concentration of 100% showed the highest area diameter value in the two tested bacteria.

### IC (Minimum inhibitory concentrations) and MBC (Minimum bactericidal concentrations) of the effective plants extract

To assess the bacteriostatic and bactericidal properties, the MIC and MBC values of celery extract were used. The determination of MIC and MBC values was carried out by dilution method of celery extract, which then determined the TPC value for bacterial culture at each extract concentration (Table II). MIC and MBC values were determined based on bacterial growth on MHA (Muller Hinton Agar) (Figure 2 and Figure 3). The plate count method was used to count the number of living bacterial colonies. The MIC value was determined with lower bacterial growth compared to the control, and the MBC value was determined in the absence of bacterial growth on the agar medium.

In the nonappearance of the growth of the bacteria from the strain which was verified using the determination of the lowest MIC value, the MBC was confirmed. Celery extract has not shown the potential of the activity of bactericidal in contradiction of the pathogenic bacteria, *S. aureus*, and *S. Epidermidis*. This is indicated by the growth of bacteria at a 100% extract concentration. The MIC and MBC results of this study suggested that the use of celery extract could only inhibit the growth of the tested bacteria, and could be used to control and prevent bacterial growth.

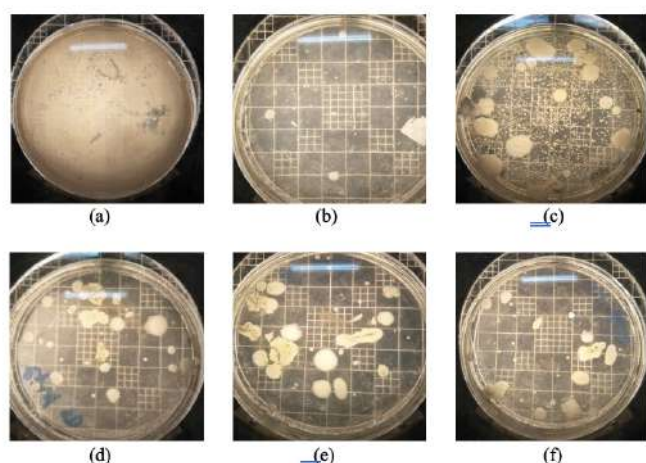


**Figure 2 :** MBC test result of celery extract against *Staphylococcus aureus* (a-f) positive control (Chloramphenicol 30 µg), negative control (CMC-Na), 250 ppm celery extract, 500 ppm celery extract, 750 ppm celery extract, and 1000 ppm celery extract.

**Table II : Visualization of Dilution Test of variations in the concentration of celery extract (*Apium graveolens*)**

Concentration extract (%)	Turbidity of media	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
12.5	Turbidity (+) with yellow layer	Turbidity (+) with yellow layer
25	Turbidity (+) with yellow layer	Turbidity (+) with yellow layer
50	Turbidity (++) with yellow layer	Turbidity (++) with yellow layer
100	Turbidity (+++) without yellow layer	Turbidity (+++) without yellow layer
control	Turbidity (++) without yellow layer	Turbidity (++) without yellow layer

Note : (+) : level of turbidity; Control : nutrient broth with bacteria test



**Figure 3 : MBC test result of celery extract against *Staphylococcus epidermidis* (a-f) positive control (Chloramphenicol 30 µg), negative control (CMC-Na), 250 ppm celery extract, 500 ppm celery extract, 750 ppm celery extract, and 1000 ppm celery extract.**

**Table III : Total Plate Count (TPC) of the extract celery leaf extracts against *Staphylococcus* sp.**

Concentration extract (%)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
12.5	3,89 x 10 <sup>3</sup> CFU/ml	2,49 x 10 <sup>4</sup> CFU/ml
25	2,49 x 10 <sup>3</sup> CFU/ml	3,57 x 10 <sup>3</sup> CFU/ml
50	2,10 x 10 <sup>2</sup> CFU/ml	2,00 x 10 <sup>2</sup> CFU/ml
100	8,00 x 10 <sup>1</sup> CFU/ml	4,00 x 10 <sup>1</sup> CFU/ml
control	TNTC	TNTC

Data are means of three replicates (n = 3), TNTC: Too Numerous To Count

## DISCUSSION

### Antibacterial Activity with Well Diffusion Method

In the diffusion method, the determination of antibacterial activity was determined by the presence or absence of clear areas around the well. The clear zone showed the inhibition of the extract against the tested bacteria (10). It is seen in Table I that, in the inhibition zone, there was an increase of diameter in the extract concentration of *Staphylococcus aureus*

and *Staphylococcus epidermidis* growth. This shows that the higher the celery extract concentration extract, the greater the toxic effect, marked by a higher inhibition zone.

The active substances contained in celery extract have an antibacterial function, including essential oils, flavonoids, tannins, and saponins (6). The extraction method greatly affects the levels of secondary metabolite compounds from a plant. The maceration extraction method can produce higher total flavonoid levels than the infundation method. The average total flavonoid content in the macerate extract of 5.32% w/w (11).

The solvent will affect the active compounds that can be dissolved and can affect the results of antibacterial tests. The CMC-Na solvent in the extracted test aims to increase the viscosity of the extract and will not settle due to the influence of gravity. The important properties in choosing a solvent are the polarity and polar groups of a compound (12). In another study conducted by Wirantika in 2000 (13) about celery extract with ethanol solvent against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* showed the highest inhibition power was found at a concentration of 100%. A study from Wirantika shows that celery extract has the potential to inhibit *Staphylococcus aureus*. So, we conducted a study with celery extract to determine the MIC and MBC values showing potential against *Staphylococcus aureus* and other gram-positive ones which can also be common causes of nosocomial infections.

The positive control with Chloramphenicol 30 mg had more excellent antibacterial activity than various concentrations of celery extract. The antibacterial mechanism of chloramphenicol is to inhibit the protein synthesis by binding to the 50S ribosome subunit. Therefore, Chloramphenicol is a class of antibiotics that inhibits protein synthesis and has antibacterial power that is effective against Gram-positive bacteria (14).

### MIC (Minimum inhibitory concentrations) and MBC (Minimum bactericidal concentrations) of the effective plants extract

Celery extract is potential as an antibacterial against the growth of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* bacteria showed the same results. When it was compared to the treatment in the control group, celery extract concentration of 25% was able to inhibit bacterial growth. Meanwhile, the extract's highest concentration, which was 100%, had not shown a bactericidal effect for both types of bacteria. The greater the concentration of the extract used provided higher inhibition against bacterial growth but did not have a bactericidal effect. This follows the statement of Sukmawati in 2018 (15) which stated that the higher the value of the extract concentration, the fewer the life of microorganism.

This dilution method was also carried out by Suwito et al in 2017 (16) which resulted in the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) at a concentration of 25%. The Minimal Bactericidal Concentration (MBC) could not be determined because it was suspected to be related to the low active compound in the research sample. It was suspected that there was a degradation of active compounds in celery extract due to exposure to sunlight, heat, and pH. In conclusion, celery extract can prevent *Streptococcus mutants'* bacteria' growth, but it cannot kill these bacteria.

The celery extract's antibacterial activity is related to the content of phytochemicals found in celery leaves. There is a relationship between phytochemical constituents plants and antimicrobial activity (17). The content of celery extract includes flavonoids, alkaloids, and saponins, which are related to antibacterial effect in various studies using plant extracts (18). The activity of flavonoids as antibacterial can be found in several mechanisms such as cytoplasmic membrane function inhibition, nucleic acids synthesis inhibition, and energy metabolism (19). Saponins are connected to bacterial cell membranes' penetrability (20). Celery extract (*A. buttonens*) has a significant effect as an antibacterial and a source of antioxidants. It also has the potential to enhance wound healing promoters by increasing fibroblast proliferation and reepithelialization (21).

Factors that affect the inhibition and eradication of microorganisms by an antimicrobial agent include the concentration of antimicrobial substances, the number of microorganisms, the type of test microorganisms, the temperature and pH of the antimicrobial material. The mechanism of attack of an antimicrobial agent is by knowing the structure and composition of the microbes. Damage to one of its constituent components can initiate changes that lead to cell death (4).

### CONCLUSION

Celery extract (*Apium graveolens*) has an effect in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* bacteria. The extract concentration used only had the ability to inhibit (MIC), and had not shown bactericidal ability (MBC) against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*.

### ACKNOWLEDGEMENT

The author sends gratitude towards the Microbiology team of the Faculty of Medicine of Universitas Airlangga which was very helpful in conducting the research and collecting the data for the publication.

### REFERENCES

1. Andersson DI, Hughes D. Persistence of antibiotic resistance in bacterial populations. *FEMS Microbiol Rev.* 2011 Sep;35(5):901–11.
2. Lowy FD. Antimicrobial resistance : the example of *Staphylococcus aureus*. 2003;111(9):1265–73.
3. Rogers, K. L., Fey, P. D., and Rupp, M. E. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2009. 23, 73–98.
4. Pelczar MJ, Chan ECS. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. UI Press; 2006. 443 p.
5. Hariana A. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya 3*. Penebar Swadaya; 2014. 176 p.
6. Nadinah. Kinetika Inhibisi Ekstrak Etanol Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Fraksinya Terhadap Enzim Xantin Oksidase Serta Penentuan Senyawa Aktifnya [Internet]. Institute Pertanian Bogor; 2008. Available from: <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/10213>
7. FazalSS, SinglaRK. Review on the Pharmacognostical & Pharmacological Characterization of *Apium Graveolens* Linn. 2012;2(1):36–42.
8. Genatrika E, Satriani F, Hapsari I. Antibacterial Activity of Celery Leaves (*Apium Graveolens* L.) Formulated in Toothpaste Against *Streptococcus Mutans*. 2019;11(5):11–3.
9. Hassanen NHM, Eissa AMF, Hafez SAM. Original Research Article Antioxidant and antimicrobial activity of celery (*Apium graveolens*) and coriander (*Coriandrum sativum*) herb and seed essential oils. 2015;4(3):284–96.
10. Indriani, N., 2005. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens* Linn) Terhadap Beberapa Bakteri. Makassar. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pancasakti.
11. Fardhani HL, Pramono S. Pengaruh Metode Ekstraksi secara Infundasi dan Maserasi Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap Kadar Flavonoid Total [Internet]. Universitas Gajah Mada; 2014. Available from: <http://etd.repository>.

- ugm.ac.id/penelitian/detail/73833
12. Harborne, J.B., 2007. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Penerbit ITB.
  13. Wirantika AE. Uji Antibakteri Minyak Atsiri, Ekstrak Etanol, Fraksi Petroleum Eter dan Fraksi Air dari Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [Internet]. Sanata Dharma University; 2000. Available from: <http://repository.usd.ac.id/id/eprint/18495>
  14. Kalra SP, Naithani N, Mehta SR, Swamy AJ. Current trends in the management of typhoid fever. *Med J Armed Forces India* [Internet]. 2003;59(2):130–5. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0377-1237\(03\)80060-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0377-1237(03)80060-6)
  15. Sukmawati. Total Microbial Plates on Beef and Beef Offal. *Bioscience*. 2018 Mar 30;2:22.
  16. Suwito MB, Wahyunitisari M., Umijati S. Efektifitas Ekstrak Seledri (*Apium graveolens* L. Var Secalinum Alef) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur [Internet]. Universitas Airlangga; 2018. Available from: <http://repository.unair.ac.id/68525/>
  17. Panda S, Bandyopadhyay P. Chemical information from GC-MS studies of methanolic leaf extract of *Andrographis paniculata* and *datura metel* and their antibacterial activity against isolated *Pseudomonas aeruginosa* (PB112) strain. *Int J Pharma Bio Sci*. 2013 Jan 1;4:909–15.
  18. Iwu M., Duncan AR, Okunji C. New antimicrobials of plant origin. In: Janick J, editor. *Perspectives on new crops and new uses*. Alexandria, VA: ASHS Press; 1999. p. 457–62.
  19. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*. 2005 Nov;26(5):343–56.
  20. Arabski M, Węgierek-Ciuk A, Czerwonka G, Lankoff A, Kaca W. Effects of saponins against clinical *E. coli* strains and eukaryotic cell line. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:286216.
  21. Prakoso YA. Celery (*Apium graveolens*) as a potential antibacterial agent and its effect on cytokeratin-17 and other healing promoters in skin wounds infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. 2020;13:865–71.

## EFEKTIVITAS EKSTRAK SELEDRI (*Apium graveolens* L. var. *secalinum* Alef.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Streptococcus mutans* SEBAGAI ALTERNATIF OBAT KUMUR

<sup>1</sup>Marani Bafianti Suwito, <sup>2</sup>Manik Retno Wahyunitisari, <sup>3</sup>Sri Umijati

<sup>1</sup>Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

<sup>2,3</sup>Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Email : [maranibafianti@gmail.com](mailto:maranibafianti@gmail.com)

**Abstrak.** *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang paling penting dalam proses terjadinya karies gigi dan juga merupakan bakteri Gram positif yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan bau nafas tak sedap. Berbagai tindakan telah dilakukan untuk menjaga kesehatan rongga mulut, salah satunya adalah menggunakan obat kumur. *Chlorhexidine gluconate* telah menjadi *gold standard* sejak 1940 karena efektif dan mempunyai spektrum antimikroba yang luas. Meskipun demikian, penggunaan *chlorhexidine gluconate* dalam jangka panjang tidak dianjurkan karena efek samping yang dapat terjadi. Berdasarkan hal tersebut penulis ingin memberi solusi alternatif dengan memanfaatkan ekstrak seledri (*Apium graveolens* L. var. *secalinum* Alef) yang mengandung flavonoid, saponin, dan tannin yang merupakan senyawa bersifat antibakteri. Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan metode dilusi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Penelitian ini menggunakan 6 tabung dan 2 tabung kontrol dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%. Berdasarkan hasil pengamatan, Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) yang didapatkan adalah 3,125%, sedangkan untuk Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) tidak dapat ditentukan. Tidak dapat ditentukan diduga terkait dengan rendahnya senyawa aktif pada sampel penelitian ini. serta diduga terdapat degradasi senyawa aktif dalam ekstrak seledri akibat paparan sinar matahari, panas, dan pH. Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak seledri (*Apium graveolens* L. var. *secalinum* Alef) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* namun tidak dapat membunuh bakteri tersebut. (JKS 2017; 3:159-163)

**Kata Kunci:** Ekstrak Seledri (*Apium graveolens* L. var. *secalinum* Alef) – *Streptococcus mutans* – metode dilusi

**Abstract.** *Streptococcus mutans* is the most important bacteria in the process of dental caries and also Gram positive bacteria that has ability to produce bad odor. Various measures have been taken to maintain oral health, one of them is using mouthwash. *Chlorhexidine gluconate* has become the gold standard since 1940 because it's effectiveness and has a broad antimicrobial spectrum. However, the long-term use of *chlorhexidine gluconate* is not recommended because of possible side effects that can occur later on. Based on this, the author wanted to show an alternative solution by utilizing celery extract (*Apium graveolens* L. var. *secalinum* Alef) containing flavonoids, saponins, and tannins which are antibacterial compounds. This research is designed as an experimental laboratory with dilution method to determine Minimum Inhibition Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). This study using 6 tubes and 2 control tubes with concentrations of 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, and 3.125%. The Minimal Inhibition Concentration (MIC) is 3.125%, while for Minimum Bactericidal Concentration (MBC) there is no result. This result might be related to the use of crude extract and minimal amount of active compound in this sample. Besides, the amount of active compound can be degraded by exposure of light, heat, and pH. Based on the result, celery extract (*Apium graveolens* L. var. *secalinum* Alef) able to inhibit the growth of *Streptococcus mutans* bacteria but can not kill the bacteria. (JKS 2017; 3:159-163)

**Keywords:** Celery Extract (*Apium graveolens* L. var. *secalinum* Alef) – *Streptococcus mutans* – dilution method

### Pendahuluan

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif (+), bersifat *non motil* (tidak bergerak) dan berdiameter 1-2  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18<sup>0</sup>C – 40<sup>0</sup>C. *Streptococcus mutans* bersifat asidogenik yaitu

menghasilkan asam asidurik, mampu tinggal pada lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket yang disebut dengan dextran. Oleh karena kemampuan ini, *Streptococcus mutans* bisa menyebabkan lengket dan mendukung bakteri lain menuju ke email

gigi, sehingga mendukung pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya sehingga bakteri *Streptococcus mutans* dapat menimbulkan bau mulut<sup>1</sup>.

Penggunaan obat kumur mulut dengan bahan antibakteri dapat mengurangi bau mulut dengan cara mengurangi jumlah bakteri serta menghambat aktivitas bakteri. Obat-obatan atau bahan-bahan untuk kumur mulut kebanyakan adalah bersifat antiseptik. Beberapa bahan ini misalnya mengandung *thymol*, *eucalyptus*, *chlorhexidine*, dan *povidone iodine*. Aplikasi obat kumur *chlorhexidine gluconate* dengan mencegah timbulnya plak dan karies karena *chlorhexidine gluconate* memiliki kemampuan bakterisid dan bakteriostatik terhadap bakteri rongga mulut, termasuk *Streptococcus mutans*<sup>2</sup>. Meskipun demikian, penggunaan *chlorhexidine gluconate* dalam jangka panjang tidak dianjurkan karena efek samping yang dapat terjadi. Beberapa efek samping yang dapat terjadi adalah gangguan pengecap, sensasi rasa terbakar, perubahan warna pada gigi, restorasi, dan membran mukosa, serta peningkatan pembentukan kalkulus<sup>3</sup>.

Penggunaan ramuan dengan bahan tanaman sebagai obat tradisional dilihat hasil Survei Sosial Ekonomi Nasional (SUSENAS) mengalami peningkatan dari 19,8% menjadi 32,8% selama tahun 1980 sampai 2004 di Indonesia. Sehingga, saat ini para peneliti banyak melakukan penelitian pada tanaman obat sebagai alternatif bahan kimia.

Seledri (*Apium graveolens* L. var *secalinum* Alef) merupakan tanaman yang mudah ditemukan di Indonesia, dapat hidup di dataran tinggi maupun rendah, serta mengandung flavonoid, saponin, dan tanin yang merupakan senyawa yang bersifat antibakteri<sup>4</sup>.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian pada efektivitas antimikroba seledri (*Apium graveolens* L. var *secalinum* Alef) untuk menghambat aktivitas bakteri *Streptococcus mutans*.

### **Lokasi dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Departemen Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga pada Juli-September 2017.

### **Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* menggunakan metode *Tube Test Dilution* untuk melihat efektivitas ekstrak seledri (*Apium graveolens* L. var. *secalinum* Alef.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

### **Persiapan Ekstrak Seledri (*Apium graveolens* L. var *secalinum* Alef)**

Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica, Batu, Malang. Seledri yang telah dikumpulkan dicuci bersih, dikeringkan, lalu diblender hingga menjadi serbuk. Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. 400 gram serbuk seledri direndam dalam 2 L etanol 96%, ditutup dan disimpan di ruang gelap. Filtrat diambil dan residu dimaserasi kembali. Dilakukan pemekatan dengan rotapavor 40 °C. Didapatkan ekstrak cair sebanyak 30 ml.

### **Persiapan Sampel Bakteri *Streptococcus mutans***

Sampel bakteri *Streptococcus mutans* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga sebanyak 0,1 ml 0,5 Mc Farland ( $1,5 \times 10^8$  sel/ml). Bakteri dimasukkan dalam tabung reaksi berisi medium cair dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

### **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Seledri (*Apium graveolens* L. var *secalinum* Alef)**

Metode dilusi menggunakan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% lalu diamati Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Seluruh data dari pengamatan metode dilusi dianalisis secara deskriptif.

**Hasil**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tabung 6 (T6) masih tampak jernih dengan konsentrasi ekstrak seledri yang paling minimal yaitu 3,125%. Sehingga Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) adalah 3,125% (Gambar 1).

Selanjutnya, dilakukan proses *streaking* pada *Chocolate agar* sehingga dapat menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Hasil dari proses *streaking* dapat dilihat setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>o</sup> C (Gambar 2).



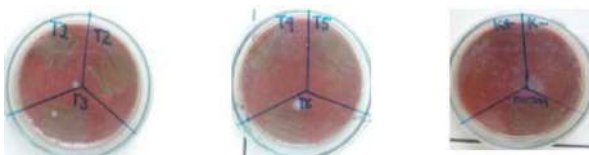
**Gambar 1.** Hasil uji ekstrak seledri terhadap *Streptococcus mutans* untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM)

**Tabel 1.** Hasil Uji Dilusi untuk Menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Replikasi	Konsentrasi Ekstrak Seledri (%)						Kontrol	
	100% (T1)	50% (T2)	25% (T3)	12,5% (T4)	6,25% (T5)	3,125% (T6)	+	-
1	+	+	+	+	+	+	-	-
2	+	+	+	+	+	+	-	-
3	+	+	+	+	+	+	-	-
4	+	+	+	+	+	+	-	-

Keterangan:

- + = didapatkan pertumbuhan koloni bakteri
- = tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri



**Gambar 2.** Hasil *streaking* pada *blood agar plate* untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat dinilai setelah dilakukan penanaman dari masing-masing tabung dilusi pada *Chocolate Agar* (Tabel 1). Keempat replikasi menunjukkan hasil yang sama, yaitu ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada tabung T1, tabung T2, tabung T3, tabung T4, tabung T5 dan tabung T6 Pada penelitian ini didapatkan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak seledri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* tidak dapat ditentukan.

**Pembahasan**

Seledri (*Apium graveolens* L. var *secalinum* Alef) merupakan tanaman yang mudah ditemukan di Indonesia, dapat hidup di dataran tinggi maupun rendah, serta mengandung flavonoid, saponin, dan tanin yang merupakan senyawa yang bersifat antibakteri<sup>4</sup>.

Flavonoid merupakan bahan aktif antibakteri yang juga didapat pada ekstrak seledri (*Apium graveolens* L. var *secalinum* Alef). Dikatakan bahwa cincin B dari flavonoid memegang peranan dalam interkalasi atau pengikatan hidrogen dengan basa pada asam nukleat dan ini juga yang menjelaskan aksi penghambatan pembentukan DNA dan RNA. Flavonoid juga mengurangi kestabilan membran sel bakteri, merusak membran sel, dan mengganggu proses metabolisme energi seperti antibiotik yang bekerja dengan menghambat proses respirasi sehingga dapat mengurangi ketersediaan energi yang mengakibatkan kematian sel bakteri<sup>5</sup>.

Tannin adalah bahan aktif dari ekstrak seledri yang mempunyai kemampuan menghancurkan koloni bakteri sehingga menghambat pertumbuhan mikroba. Tannin berpotensi sebagai antivirus, antibakteria, dan mempunyai efek antiparasitik<sup>6</sup>.

Saponin memiliki kemampuan antibakteri dengan memberikan perlindungan terhadap patogen potensial, selain itu saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel. Mekanisme saponin sebagai agen antibakteri adalah dengan cara berinteraksi dengan kolesterol pada membran sel sehingga menyebabkan membran sel mengalami modifikasi lipid yang akan

mengganggu kemampuan bakteri untuk berinteraksi dengan membrane tersebut<sup>7</sup>.

Pada proses ekstraksi seledri (*Apium graveolens L. var secalinum Alef*), peneliti menggunakan etanol sebagai pelarut, karena etanol merupakan pelarut yang banyak digunakan untuk mengekstraksi bahan aktif dan aman untuk di konsumsi manusia<sup>8</sup>. Secara umum, hasil ekstraksi meningkat dengan meningkatkan kadar air dalam pelarut. Hal ini mungkin disebabkan oleh kombinasi organik pelarut dan air yang memudahkan ekstraksi semua senyawa yang larut dalam air. Jelas bahwa ekstrak etanol dengan konsentrasi tinggi memberi kapasitas antioksidan tertinggi dalam semua tes in vitro yang dipelajari<sup>9</sup>.

Pada penelitian ini digunakan bakteri *Streptococcus mutans* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Metode dilusi dengan medium cair steril digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak seledri (*Apium graveolens L. var secalinum Alef*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Replikasi dilakukan sebanyak empat kali. Setiap replikasi terdiri dari 8 tabung yaitu 6 tabung perlakuan dan 2 tabung kontrol. Tabung kontrol negatif berisi ekstrak seledri, sedangkan tabung kontrol positif berisi *Chlorhexidine gluconate* yang telah ditanami koloni bakteri *Streptococcus mutans*. Tabung perlakuan terdiri dari tabung T1-T6 berisi koloni bakteri *Streptococcus mutans* dan ekstrak seledri dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada penelitian ini adalah 3,125%, yaitu pada tabung perlakuan konsentrasi hambat terkecil yang paling jernih pada tabung T6.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan penanaman seluruh tabung pada media *Chocolate agar* dengan metode *streaking* yang selanjutnya juga diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup> C. Setelah itu diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni pada media tersebut. Hasil penanaman untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terangkum dalam Tabel 1. dimana didapatkan pertumbuhan koloni bakteri

pada semua tabung perlakuan T1-T6 sehingga Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak seledri (*Apium graveolens L. var secalinum Alef*) tidak dapat ditentukan.

Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan ekstraksi awal dari bahan tumbuhan yang disebut sebagai *crude extract* (ekstrak kasar). Sistem yang digunakan dalam CLSI untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal menggunakan bahan aktif yang ada pada bahan yang akan diteliti<sup>10</sup>. Pada penelitian selanjutnya diharapkan isolasi fraksi bahan aktif yang digunakan untuk penentuan Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal. Penggunaan fraksi dari bahan aktif lebih mengandung antioksidan yang potensial dalam menghambat bakteri sehingga lebih efektif dibanding menggunakan ekstrak kasar (*crude extract*)<sup>11</sup>.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan pada metode dilusi, Ekstrak seledri (*Apium graveolens L. var secalinum Alef*) memiliki efek antibakterial terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) ekstrak seledri (*Apium graveolens L. var secalinum Alef*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* adalah 3,125%. Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) ekstrak seledri (*Apium graveolens L. var secalinum Alef*) belum dapat ditentukan.

### Daftar Pustaka

1. Brooks GF, Carrol KC. Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, &Adelberg's Medical Microbiology. 24<sup>th</sup> ed. San Fransisco: McGraw Hill: 2007.
2. Gunardi, I., Wimardhani, I. Yuniardini, Oral Probiotik :Pendekatan baru terapi halitosis. *Indonesia Journal of Dentistry*. vol. 16 no. 1. pp. 64-71. 2009.
3. Majidah D, Fatmawati D, Gunadi A. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur. Repository UNEJ. 2014. [Diakses pada: 27 Juni 2016] Tersedia di:



- <http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/59328>
4. Hostetler GL, Riedl KM, Schwartz SJ. Endogeneous Enzymes, Heat, and pH Affect Flavone Profiles in Parsley (*Petroselinum crispum* var. neapolitanum) and Celery (*Apiumgraveolens* L.) during Juice Processing. vol. 60 no. 1. J. Agric Food Chem. : 2012
  5. DuPont MS, Mondin Z, Williamson G, Price KR. Effect of variety, processing, and storage on the flavonoid glycoside content and composition of lettuce and endive. J Agric Food Chem. 2000. vol. 48. pp. 3957–3964.
  6. Karlina CY, Ibrahim M, Trimulyono G. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulacaoleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Lentera Bio. vol. 2. no. 1. pp. 87-93. 2013.
  7. Redha A. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. Belian. vol. 9. no. 2. pp.196-202. 2010
  8. Mervrayano J., Rahmatini, BaharE., Perbandingan Efektivitas Obat Kumur yang Mengandung Chlorhexidine dengan Povidone Iodine terhadap *Streptococcus*. Andalas Journal of Health. vol. 4. no. 1. pp. 169-171. 2015.
  9. S., T. Dhika, Perbandingan Efek Antibakterial Berbagai Konsentrasi Daun Sirih (*Piper betle* Linn) terhadap *Streptococcus mutans*. 2007.
  10. Bansal A., Marwah N., Nigam G., Anant, Goenka P., Goel D., Effect of *Achyranthes aspera*, 0,2% Aqueous Chlorhexidine Gluconate and *Punicagranatum* Oral Rinse on the Levels of Salivary *Streptococcus mutans* in 8 to 12 years old Children. The Journal of Contemporary Dental Practice. 2015. vol.16 no. 11. pp. 903-909.
  11. Gupta R, Chandavarkar V, Galgali SR, Mishra M. Chlorhexidine, A Medicine for All The Oral Disease. Global J. Med. and Public Health.vol 1 no. 2. pp. 43-48. 2012.
  12. Dai J &Mumper RJ. Plant Phenolics: Extraction, Analysis, and Their Antioxidant and Anticancer Properties. Molecules. pp. 7313-7352. 2010.
  13. Do QD, Angkawijaya AE, Nguyen PL, Huynh LH, Soetardjo FE, Ismadji S, Ju YH. Effect of Extraction Solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophilaaromatica*. Journal of Food and Drug Analysis. 2014. vol. 22. pp.296-302
  14. CLSI.PerformanceStandardsfor Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
  15. Salminen, S., Wright, V. Atte, *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 2004. [Diaksespada: 14 Juli 2016] [e-book] Tersedia di: Google books ([https://books.google.co.id/books?id=P0p5\\_uXL9uQC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false](https://books.google.co.id/books?id=P0p5_uXL9uQC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false) )

## UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI FRAKSI AIR EKSTRAK DAUN SELEDRI (*Apium graveolens L.*) PADA MENCIT JANTAN

Sapri<sup>1</sup>, Eka Siswanto S<sup>1</sup>, Ariska Yulianti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akademi Farmasi Samarinda  
Email: sapri.juli86@gmail.com

### ABSTRAK

Tanaman seledri (*Apium graveolens L.*) memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi obat antiinflamasi karena kandungan senyawa glikosida flavonoid yaitu apiin sehingga digunakan fraksi air karena lebih mudah tertarik pada fraksi air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fraksi air ekstrak daun seledri sebagai antiinflamasi pada mencit putih dengan menggunakan metode induksi karagenan pada telapak kaki serta mengetahui nilai ED<sub>50</sub>. Pengukuran aktivitas antiinflamasi digunakan 5 kelompok perlakuan hewan uji, kontrol (+) digunakan kalium diklofenak 50 mg, kontrol (-) suspensi Na. CMC 0,5%, dosis I adalah 125mg/kgBB, dosis II adalah 250mg/kgBB dan dosis III adalah 500mg/kgBB. Dengan pengukuran setiap 30 menit selama 5 jam dengan alat pletismometer. Analisis data digunakan metode statistik *One way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% yang dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga dosis fraksi air ekstrak daun seledri memiliki aktivitas antiinflamasi. Pada menit ke-300 tidak terjadi perbedaan bermakna antara kontrol positif dengan dosis 500 mg/kgBB dengan persen inhibisi 86,04%. Dari perhitungan ED<sub>50</sub> didapatkan hasil sebesar 100 mg/kgBB.

*Kata Kunci: antiinflamasi, Apium graveolens L., apiin, karagenan, ED<sub>50</sub>*

### ABSTRACT

*Celery plant (Apium graveolens L.) has the potential to be developed into an anti-inflammatory drug compounds that contain flavonoid glycosides that apiin that fraction of water used for apiin more easily attracted to the water fraction. This study aims to determine the activity of the water fraction as anti-inflammatory extract celery leaves on white mice using the method of induction of carrageenan on the soles of the feet as well as knowing the value of ED50. Measurement of anti-inflammatory activity used 5 groups of test animals, control (+) is used diclofenac potassium 50 mg, control (-) 0.5% Na.CMC suspension, the first dose is 125mg / kg, the second dose is 250mg / kg and the third dose is 500mg / kg. With measurements every 30 minutes for 5 hours with pletismometer tool. The data analysis used statistical methods One way ANOVA dengan confidence level of 95% followed by LSD. The results showed that all three doses of the water fraction celery leaf extract has anti-inflammatory activity. In minute-300 does not occur significant difference between the positive control at a dose of 500 mg / kg with 86.04% percent inhibition. From the calculation results obtained ED50 of 100 mg / kg.*

**Keywords:** anti-inflammatory, *Apium graveolens L.*, apiin, carrageenan, ED<sub>50</sub>

### PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keragaman hayati flora dan fauna yang sangat melimpah, sehingga memiliki banyak sekali tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Dari 28.000 jenis tumbuhan yang ditemukan di Indonesia, kurang lebih 7.000 jenis diantaranya adalah tumbuhan obat (Kassahara dan Hemmi, 1986).

Peningkatan penggunaan obat sintetik berlangsung dengan cepat, namun seiring bertambahnya waktu terjadi pula peningkatan kesadaran masyarakat terhadap dampak negatif dari penggunaan obat-obatan sintetik. Akibatnya masyarakat kembali memilih tumbuhan obat sebagai

alternatif terhadap penyembuhan berbagai penyakit. Selain itu, efek samping yang ditimbulkan juga lebih kecil (Kassahara dan Hemmi, 1986).

Radang atau inflamasi adalah satu dari respon utama sistem kekebalan terhadap infeksi dan iritasi. Dapat juga dikatakan inflamasi ialah respon biologis kompleks dari jaringan vaskuler atas adanya bahaya seperti pathogen, kerusakan sel atau iritasi. Obat-obat antiinflamasi non-steroid (NSAID) merupakan suatu group obat yang secara kimiawi tidak sama, yang berbeda aktivitas anti piretik, analgesik dan antiinflamasinya. Obat-obat ini terutama bekerja dengan jalan

menghambat enzim siklo-oksigenase tetapi tidak enzim lipoksigenase. Tidak seperti obat NSAID, analgesik non-narkotik mempunyai sedikit atau tidak mempunyai aktivitas antiinflamasi. Dibandingkan analgesik narkotik, maka keuntungan terapi analgesik non-narkotik tidak menimbulkan ketergantungan fisik atau toleransi. Untuk obat-obat NSAID tidak boleh digunakan bersama dengan aspirin karena mengurangi kadar NSAID dalam darah dan efektifitasnya (Gard, 2001).

Penelitian tentang obat-obat herbal antiinflamasi saat ini semakin berkembang, yaitu salah satunya daun seledri. *Apium graveolens* L. atau daun seledri memiliki komponen metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari seledri diantaranya glikosida, apiin, apigenin, dan flavonoid. Selain itu pada seledri juga ditemukan apigenin, manit, inositol, asparagina, glutamine, kolina dan linamarosa. Flavonoid merupakan senyawa yang dilaporkan dapat mempengaruhi proses inflamasi dan memiliki efek antiinflamasi. Apigenin merupakan komponen flavonoid utama pada seledri yang

termasuk ke dalam golongan flavon. Didalam tubuh, apiin (glikosida flavonoid) dapat terhidrolisis oleh asam lambung menjadi gula dan aglikon apigenin. Apigenin terbentuk dari proses hidrolisis apiin yang dibantu oleh asam lambung (HCl)(Soedibyo, 1998).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan uji efek antiinflamasi ekstrak etanol daun seledri pada ekspresi iNOS dan produksi NO secara *in vitro* pada sel makrofag J774.A1. Apiin sebagai komponen utama ekstrak daun seledri menunjukkan aktivitas penghambatan inflamasi yang bermakna pada produksi nitrit oksida (NO) secara *in vitro* (dengan IC<sub>50</sub> 0,073 dan 0,08 mg/mL, masing-masing untuk ekstrak daun seledri dan apiin) dan ekspresi iNOS (dengan IC<sub>50</sub> 0,095 dan 0,049 mg/mL, masing-masing untuk ekstrak dan apiin) pada sel makrofag J774.A1 yang diinduksi LPS. Efek antiinflamasi dari ekstrak secara *in vivo* ditunjukkan melalui penurunan ekspresi enzim iNOS (BPOM RI, 2010).

Berdasarkan latar belakang diatas, dilakukan penelitian uji aktivitas

antiinflamasi fraksi air ekstrak daun seledri (*Apiumgraveolens*L.) pada mencit untuk mengetahui efek antiinflamasi dari daun seledri. Digunakan metode ekstraksi refluks karena senyawa apigenin yang terkandung dalam ekstrak daun seledri tahan terhadap pemanasan. Pada penelitian ini digunakan fraksi air karena apiin merupakan senyawa glikosida flavonoid, dimana senyawa glikosida flavonoid merupakan senyawa polar sehingga akan lebih mudah tertarik pada fraksi air.

## **METODE**

### **Bahan dan Alat**

#### **a. Bahan**

Bahan yang digunakan adalah daun seledri, kalium diklofenak 50 mg, etanol 62,5%, air, HCL pekat, amil alkohol, n-heksan, kloroform, air raksa, Na CMC 0,5%, NaCL, dan karagenan 1%.

#### **b. Alat**

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, kondensor, labu alat bulat, heating mantle, statif dan klem, corong pisah, cawan porselen, gelas beker, gelas ukur, batang pengaduk, spuit, sonde, spidol,

penangas air, pletismometer.

### **Ekstraksi daun seledri** (Hertog dkk, 1992)

Ekstraksi menggunakan cara refluks. Sebanyak 50 g simplisia kering daun seledri dan 250 ml etanol 62,5% di refluks selama 30 menit pada suhu 60°C. Ekstrak etanol diperoleh dengan menuang filtrat dari labu. Sisa filtrat direfluks sekali lagi. Setiap kali proses refluks ditambahkan etanol 62,5% sebanyak 250 ml. Filtrat yang diperoleh diuapkan hingga kental.

Ekstrak etanol kental 15 g ditambahkan dengan 50 ml etanol dan ditambahkan air 150 ml. Kemudian dipartisi dengan metode cair-cair menggunakan pelarut n-Heksan (3 x 50 ml), dilakukan 3 kali partisi dengan penambahan 50 ml pelarut pada setiap kali partisi sehingga didapatkan ekstrak air dan ekstrak n-Heksan. Ekstrak air dipartisi kembali dengan pelarut kloroform (3 x 50 ml), dilakukan 3 kali partisi dengan penambahan 50 ml pelarut pada setiap kali partisi sehingga didapatkan ekstrak kloroform dan ekstrak air. Ekstrak air dari partisi kloroform tersebut dilanjutkan ke tahap

penguapan hingga di dapat ekstrak kental kemudian dibuat suspensi untuk diinduksikan pada mencit putih sebagai antiinflamasi.

### Uji Antiinflamasi

Uji efektivitas antiinflamasi ekstrak daun seledri menggunakan 15

ekor mencit putih jantan berumur sekitar 2 bulan dengan bobot rata-rata 20-30 g. Mencit dibagi secara acak dalam 5 kelompok yang mana masing-masing kelompok berisi 3 mencit. Mencit diaklimatisasi dan dipuasakan selama 24 jam dengan diberi minum.

**Tabel 1. Tabel kelompok perlakuan**

No kelompok	Nama kelompok	Hewan uji
I	Kelompok (-) / Na CMC	3 ekor
II	Kelompok (+) / kalium diklofenak	3 ekor
III	Ekstrak daun seledri 125 mg	3 ekor
IV	Ekstrak daun seledri 250 mg	3 ekor
V	Ekstrak daun seledri 500 mg	3 ekor

Setengah jam setelah perlakuan, tikus diberi injeksi 0,1 ml karagenan 1% pada telapak kaki belakang kanan. Pengukuran volume edema menggunakan pletismografdilakukan selama 5 jam, dengan interval 1/2 jam.

### Analisis Data

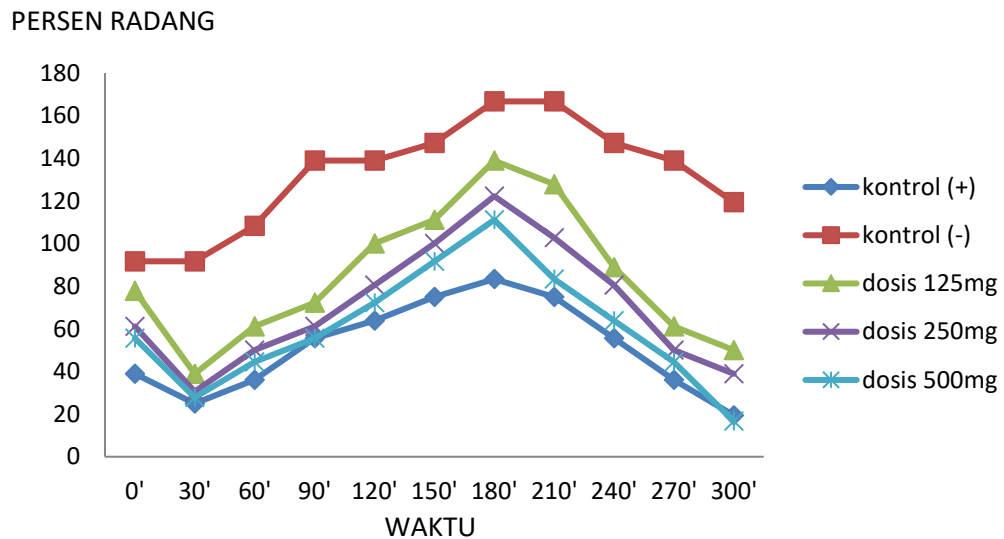
Hasil pengukuran pengurangan edema atau bengkak pada kaki mencit diuji statistik dengan metode uji *One way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95% serta perhitungan ED<sub>50</sub> dengan analisis probit.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian efek antiinflamasi menggunakan metode pembentukan radang buatan pada telapak kaki belakang mencit putih jantan. Metode ini dipilih karena edema atau radang merupakan salah satu gejala inflamasi yang dapat digunakan sebagai parameter untuk mengukur potensi antiinflamasi suatu senyawa. Potensi antiinflamasi diukur berdasarkan kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat dan mengurangi terjadinya radang. Fraksi air ekstrak daun seledri dibuat

dalam berbagai tingkatan dosis dengan tujuan melihat hubungan antara kenaikan dosis dengan efek

antiinflamasi Kalium Diklofenak yang ditimbulkan pada hewan uji.

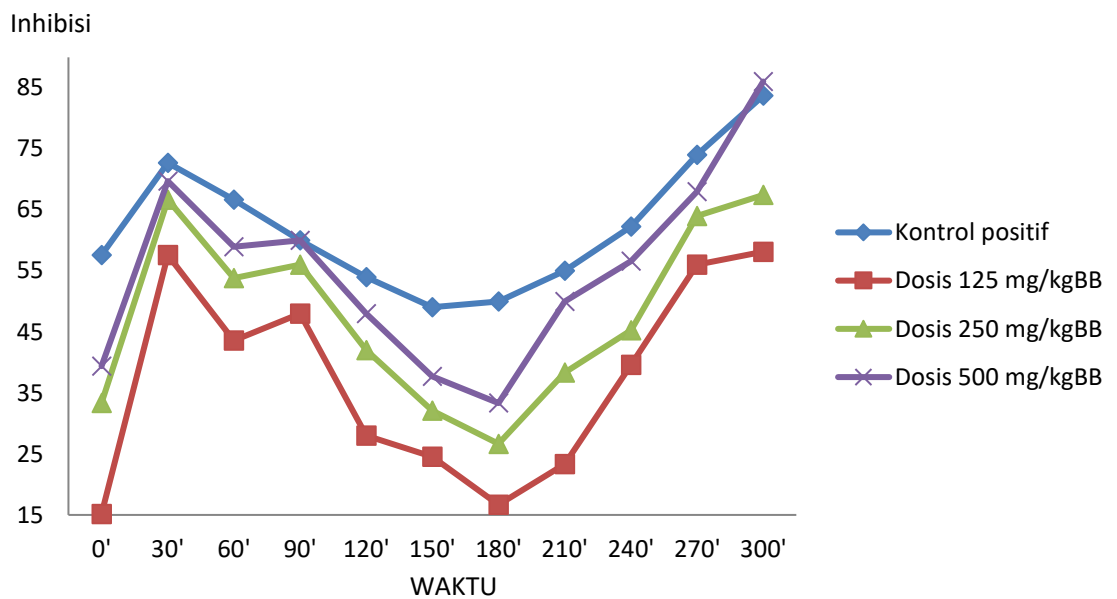


Gambar 4. Grafik persen radang

Hasil data persen radang dilakukan uji *One way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD karena terdapat perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Hasil uji LSD antara kelompok kontrol dan perlakuan pada menit ke 30 sampai ke 300 menunjukkan bahwa ekstrak dosis II dan dosis III memiliki efek antiinflamasi yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan dengan kontrol negatif, ( $p < 0,05$ ) dan tidak memiliki perbedaan dengan kontrol positif, ( $p > 0,05$ ) yang artinya nilai pada ekstrak dosis II dan dosis III memiliki efek hamper sama dengan

kontrol positif sebagai antiinflamasi.

Hasil yang sama juga ditunjukkan pada akhir pengamatan menit ke-300. Ekstrak dosis I, II dan III memiliki perbedaan terhadap kontrol negatif ( $p < 0,05$ ) tetapi pada dosis I memiliki perbedaan terhadap dosis II dan dosis III yang artinya dosis I, II dan III sama-sama memiliki efek antiinflamasi tetapi dosis II dan dosis III daya antiinflamasinya lebih besar karena nilai pada dosis II dan dosis III tidak memiliki perbedaan dengan kontrol positif ( $p > 0,05$ ).



**Gambar 5.** Grafik persen inhibisi radang

Ekstrak dosis III menunjukkan kemampuan menghambat lebih besar dibandingkan dengan dosis I dan II. Setelah dilakukan perhitungan persen inhibisi radang, selanjutnya dilakukan perhitungan ED50 pada menit ke 300 pengamatan. Nilai ED50 dari fraksi air ekstrak daun seledri adalah sebesar 100 mg/kgBB.

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa fraksi air ekstrak daun seledri memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat enzim yang mana merupakan mediator inflamasi. Pada penelitian uji antiinflamasi ini diduga fraksi air ekstrak daun seledri memiliki kandungan senyawa apiin,

sehingga ekstrak tersebut dapat memberikan efek antiinflamasi pada mencit. Dalam penelitian menunjukkan volume edema maksimum pada menit ke-180, hal tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu, yaitu edema berkembang dan mencapai puncak edema selama 3 jam setelah induksi karagenan dan bertahan pada volume maksimal sekitar 5 jam setelah induksi.

**KESIMPULAN**

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa, fraksi air ekstrak daun seledri memiliki aktivitas antiinflamasi pada mencit putih jantan. Dan dosis yang



memiliki aktivitas setara atau hampir sama dengan kontrol positif adalah dosis 500 mg/kgBB. ED<sub>50</sub> dari fraksi air ekstrak daun seledri yaitu 100 mg/kgBB, yaitu dalam 100 mg/kgBB dapat memberikan efek terapi median pada 50% kelompok.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Badan POM  
RI.2010.*Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. Hal.37-39
- Crozier A, Jensen E, Lean MEJ, McDonald MS. 1997. *Quantitative analysis of the flavonoids content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. J Agric Food Chem* 45: 590–593.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya. Hal.171-177
- Duke, JA. 1999. US. *Department of Agriculture Phytochemistry and Ethnobotanical Database*.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal.10-11
- Gard, Paul. 2001. *Human Pharmacology*, Chapter IX. 135. Taylor & Francis. London, New York.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB. Hal.94, 102, 155, 234-238.
- Hertog MGL, Hollman PCH, Venema DP. 1992. *Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. J Agric Food Chem* 40: 1591–1598.
- Kassahara S, Hemmi S. 1986. *Medical Herb Index in Indonesia*. Ed. ke-2. Jakarta : PTEisai Indonesia, dalam Makiyyah 2003
- Kee, Joyce.L dan Hayes. Evelyn.R, 1996. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*. Dr. Peter Anugrah (Alih Bahasa). EGC, Jakarta.
- Laura, JP. 2007. *Perbedaan lingkungan dan masa tanam seledri (Apium graveolens L.) terhadap senyawa bioaktif apigenin*. Bogor: Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Lee, J.-H et al, 2007. Anti-inflammatory mechanisms of apigenin : inhibition of cyclooxygenase-2 expression, adhesion of monocytes to human umbilical vein endothelial cells, and expression of cellular adhesion molecules. *Archives of pharmacal research*, 30(10).
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Soedibyo, M., Dalimartha., S. 1998. *Perawatan Rambut dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen*. Jakarta : Swada